ROLUL MICROBIOTEI INTESTINALE ÎN MENȚINEREA STĂRII IMUNOMETABOLICE ȘI PREVENIREA METAINFLAMAȚIEI

THE ROLE OF THE INTESTINAL MICROBIOTA IN MAINTAINING THE IMMUNOMETABOLIC STATUS AND PREVENTING METAINFLAMMATION

Vasile FEDAȘ, ORCID: 0000-0003-2129-6413
Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie al Universității de Stat din Moldova, Chișinău, Republica Moldova

CZU: 616.34-008.87-056.25
e-mail: vasilefedash@gmail.com

The results of scientific research indicate that an important role in the pathogenesis of obesity and the metabolic syndrome is played by the intestinal microbiota (MI), which is involved in the regulation of the host's metabolism through symbiotic interactions with it. At the same time, a shift in the gut's microbial ecosystem, according to cutting-edge research, contributes to significant metabolic and immune disturbances in animals and humans. The environment and diet in the first 3 years of life are essential for the acquisition of an adult type of microbiota and the formation of a microbiota-host symbiosis, which significantly affects the development of the immune and nervous systems. Although the microbiota is very diverse in the intestines, for example, there are representatives of about 70 types of bacteria, however, most of them are represented by two types: Bacteroidetes and Firmicutes.

Cuvinte-cheie: *acizi grași cu lanț scurt, biota intestinală, inflamație, obezitate, sistem imun.*

Intestinul uman conține peste 100 trilioane de celule microbiene, denumite în mod colectiv „microbiota intestinului”. Procesul de colonizare de către acești microbi începe în uter, prin transferul lor de la mamă la făt. Colonizarea intestinului uman continuă după naștere și este modulată de diverși factori, incluzând, dar fără a se limita la vârsta gestațională, modul de naștere (travaliul natural sau incizie cezariană) și starea nutrițională (alăptarea naturală), igiena și expunerea la antibiotice [1] .

Mediul și dieta în primii 3 ani de viață sunt esențiale pentru achiziționarea unui tip adult de microbiotă și formarea unei simbioze microbiotă-gazdă, care afectează în mod semnificativ dezvoltarea sistemului imunitar și nervos. Deși microbiota este foarte diversă în intestine, de exemplu, există reprezentanți ai aproximativ 70 de tipuri de bacterii, cu toate acestea, cea mai mare parte a lor este reprezentată de două tipuri: Bacteroidetes și Firmicutes [2]. Potrivit unor autori, microbiota intestinală are un efect profund asupra sănătății umane, deoarece desfășoară o activitate metabolică echivalentă cu un organ virtual [3].

Ca și organ ea este implicată într-o serie de funcții importante la om, inclusiv digestia componentelor alimentare nedigerabile, dezvoltarea și stimularea sistemului imunitar al gazdei și a tubului gastrointestinal, producerea de molecule de semnalizare farmacologic active de acizi grași cu lanț scurt (SCFA), și realizează sinteza vitaminelor (biotină, folat), cu efecte asupra motilității intestinale, ciclului de acizi grași intestin-hepatici și metabolismului colesterolului [4].

Modificări tranzitorii parțiale în ecosistemul intestinal apar de-a lungul vieții și, în unele cazuri, pot duce la întreruperea simbiozei microbiene cu gazda [5]. Datorită rolului esențial al ecosistemului intestinal în menținerea fiziologiei normale a gazdei, schimbarea acestuia poate provoca o gamă largă de tulburări fiziologice, inclusiv inflamație sistemică subclinică, tulburări metabolice (reversibile), acumularea de lipide în exces și pierderea sensibilității la insulină, ceea ce crește riscul de boli metabolice, instalarea cărora deja duc la alterări ireversibile.

Tulburările caracteristice sindromului metabolic (hiperglicemia, hipertrigliceridemia, DLP, HTA) sunt, de asemenea, asociate și cu activarea sistemului imunitar. Aportul caloric excesiv, acumularea crescută de grăsimi și lipotoxicitatea activează producerea de molecule efectoare (citokine) și celule, care sunt implicate în primul rând în răspunsul imun înnăscut [6]. Toate acestea împreună, contribuie mult la dezvoltarea unei stări inflamatorii cronice sistemice, determină recrutarea și activarea multor celule mature ale sistemului imunitar (inclusiv mastocite, macrofage și celule dendritice) în țesuturile metabolice și în special în țesutul adipos și, de asemenea, induce recrutarea și activarea altor celule cum ar fi adipocitele, care modifică mediul tisular și cresc procesul inflamator [7].

Principalii metaboliți ai microflorei intestinale sunt acizii grași cu lanț scurt (SCFA), în principal acizii acetic, propionic și butiric, precum și hidrogenul și metanul. Doar la sfârșitul secolului al XX-lea, un număr mare de oameni de știință [8], au constatat că SCFA, care se găsesc în sânge, sunt de origine bacteriană și intră în sânge prin absorbția din intestin. SCFA se formează ca produse reziduale ale microflorei intestinale zaharare-olitice, ce metabolizează polizaharidele insolubile (fibre dietetice). Există opinia, [9] precum că SCFA (acetic, propionic, ulei și lapte) sunt markeri ai relativei bunăstări a intestinului, asigurată de stabilitatea microflorei intestinale prin menținerea valorilor optime ale pH-ului în lumenul colonului; normalizarea hemodinamicii; blocarea receptorilor celulelor epiteliale; reglarea motilității gastrointestinale.

Potrivit lui Christiansen C. și colab. [10], SCFA influențează normalizarea motilității intestinale prin stimularea celulelor L în colonul proximal, care produc peptida reglatoare PYY, ceea ce încetinește motilitatea colonului și a intestinului subțire, iar în colonul distal, efectul SCFA este diametral opus. Funcțiile SCFA sunt foarte diverse: previn reproducerea microbilor putrefactivi și patogeni, reglează apoptoza, au un efect anticancerigen, reduc proliferarea celulară și cresc diferențierea acestora. Se știe, că efectele SCFA asupra corpului sunt dependente de concentrație [11], în timp ce supraproducerea, ca și deficiența lor, pot afecta negativ corpul uman. Acidul acetic (CH3COOH) – este

principalul metabolit al aproape tuturor enterobacteriilor benefice – crește absorbția oxigenului, circulația sângelui în membrana mucoasă, servește ca substrat energetic pentru celulele țesuturilor și organelor (țesut muscular, inimă, rinichi, creier), participă la reglarea nivelurilor de pH, a activității motorii și secretorii a intestinului. Acidul propionic (CH3CH2COOH) este unul dintre produsele intermediare ale substraturilor de oxidare a acizilor grași și servește ca substrat pentru formarea propionil-CoA și/sau metilmalonil-CoA în ficat, care au funcții de reglare în metabolismul glucidic și lipidic al gazdei organismului [9].

Cercetări recente privind rolul antibacterian al acidului propionic [12] au dovedit, că el inhibă creșterea *Staphylococcus aureus,* rezistent la meticilină. Mai mult chiar, efectul antibacterian se datorează nu scăderii pH-ului mediului, ci efectului direct al acidului propionic. Funcțiile acidului butiric (CH3CH2CH2COOH) au fost studiate mult mai bine decât la alți acizi. Acesta stimulează reînnoirea celulelor mucoasei intestinale, afectează fluxul sanguin și este principalul substrat energetic pentru celulele intestinale: este implicat în biosinteza acizilor grași și a colesterolului și reduce riscul de cancer de colon. S-a constatat, că odată cu creșterea concentrației de butirat, proliferarea se reduce brusc și se induce diferențierea și/sau moartea celulelor canceroase. Mecanismele de acțiune ale acidului butiric sunt destul de complexe și nu au fost încă pe deplin înțelese. Acizii grași cu lanț scurt neramificat sunt produși metabolici endogeni ai microflorei intestinale și se formează în timpul fermentației anaerobe a polizaharidelor. Izoformele – izobutirice și izovaleriene sunt, de asemenea, produse endogene ale metabolismului bacterian, dar se formează ca urmare a utilizării proteinelor. Astfel, legăturile dintre microflora intestinală și gazdă, care sunt mediate de metaboliți cu greutate moleculară mică, nu au fost încă suficient investigate și aici se deschid vaste oportunități pentru diferite metode de cercetare fizico-chimică și fizică.

Li și colab. [13] au arătat, că activarea moleculelor efectoare inflamatorii promovează desensibilizarea căilor de semnalizare a insulinei. Rolul microbiotei intestinale în dezvoltarea obezității KM crește eficiența extragerii de energie din alimente. Dovezile experimentale sugerează, că microflora intestinală crește eficiența extracției energetice din alimente și respectiv rezervele de grăsime ale gazdei.

Unul dintre semnele obezității și a patologiei legate de obezitate este apariția CSV, cauzată de o creștere accentuată a circulației nivelului de lipopolizaharide (LPS), numite și endotoxine. În mod normal, concentrația de LPS în sângele circulant este foarte scăzută și variază de la 1 la 200 pg/ml [14]. La persoanele cu obezitate sau cu toleranță redusă la carbohidrați, nivelul endotoxinelor circulante crește cu 20%, iar la pacienții cu DZ – cu 125%, comparativ cu persoanele sănătoase normoponderale. O mărire a nivelului de LPS este asociată cu consumul unei diete bogate în grăsimi, deoarece s-a demonstrat că: 1-grăsimea provoacă moartea microorganismelor gram-negative, contribuind la creșterea producției de LPS în intestin; 2 - ca răspuns la o masă cu un conținut ridicat de grăsimi, nivelul LPS din sânge crește de 2-3 ori. La indivizii obezi, concentrația LPS atinge valori ridicate, ducând la dezvoltarea unei afecțiuni numite endotoxinemie metabolică [15].

LPS sunt derivați ai membranei celulare externe a bacteriilor gram-negative, care se presupune că inițiază procese asociate cu inflamația, contribuind la apariția obezității și a rezistenței la insulină [15]. Când bacteriile gram-negative mor, LPS, care sunt componente ale membranei lor, se absorb din intestin în circulația generală. Aici, sunt posibile două mecanisme de absorbție: 1) transport prin intermediul chilomicronilor; 2) filtrare prin scurgeri de joncțiuni intercelulare în tunica epitelială a intestinului.

După intrarea în circulația sistemică, LPS se infiltrează în țesuturi, cum ar fi ficatul sau țesutul adipos, provocând un răspuns imun înnăscut [15]. În special, LPS se leagă de proteina plasmatică (LBP), care activează proteina receptorului CD14 aflată în membrana macrofagelor. Complexul astfel generat, se leagă de receptorul Toll-like 4 (TLR4) de pe suprafața macrofagelor, ceea ce determină transducția semnalelor, care activează expresia moleculelor efectoare inflamatorii, precum factorul nuclear kB (NF-kB) și activatorul de proteine 1 (AP-1) [16].

LPS reglează, de asemenea, receptorii de tip NOD, prezenți în macrofage, și celulele dendritice, care cooperează cu TLR-uri pentru a induce activitatea factorului de transcripție NF-kB. În plus, LPS sunt implicate în recrutarea altor molecule efectoare, cum ar fi domeniul de legare a nucleotidelor, proteina bogată în repetări ce conțin leucină, proteina adaptor citosolică ASC și caspaza-1. Aceste molecule sunt componente ale inflamasomului, un oligomer proteic care activează sistemul imunitar înnăscut.

Au fost propuse mai multe mecanisme care leagă obezitatea de endotoxinemia metabolică. În primul rând, consumul unei diete bogate în grăsimi modifică flora intestinală (grăsimea determină moartea microorganismelor gram-negative), ceea ce duce la o creștere a permeabilității intestinale și la nivelul sistemic al produselor bacteriene, în special LPS [15]. Al doilea mecanism constă în faptul, că aportul excesiv de grăsime determină o creștere a numărului de chilomicroni din intestin în perioada postprandială (după mese), ceea ce contribuie la o creștere a infiltrării LPS în fluxul sanguin. S-a demonstrat, că metabolizarea lipoproteinelor afectate la pacienții cu DZ de tip II reduce catabolismul LPS și poate crește endotoxinemia asociată cu inflamația.

Importanța endotoxinemiei metabolice în fiziopatologia dezvoltării rezistenței la insulină și a obezității este, de asemenea, susținută de datele lui Shi și colab. [17], care a descoperit că șoarecii lipsiți de TLR4 sunt protejați de rezistența la insulină indusă de o dietă bogată în grăsimi. Rezultatele unui alt studiu au arătat, că administrarea de LPS la șoarecii masculi identici genetic, timp de 4 săptămâni, induce creșterea în greutate a lor, comparabilă cu creșterea în greutate observată la șoarecii care consumă o dietă bogată în grăsimi [15]. În plus, șoarecii cu obezitate/imunoglobulină CD14, care nu au capacitatea de a induce activarea mediată prin LPS a căilor inflamatorii, au fost rezistenți la creșterea în greutate și nu au pierdut hipersensibilitatea la insulină, în ciuda alimentării cu aceeași dietă a șoarecilor cu deficiență de leptină [18].

Nivelurile ridicate de endotoxină circulantă s-au corelat și cu concentrațiile crescute de TNF-alfa și IL-6 în adipocite și cu o dietă bogată în grăsimi sau în carbohidrați,

activată de TLR4, expresia NF-kB și supresorul citokinelor SOC3, care sunt, de asemenea, factori implicați în reglarea căilor metabolice ale secreției de insulină. Luate împreună, aceste rezultate indică rolul important al căilor inflamatorii de LPS în dezvoltarea obezității și a patologiilor legate de obezitate.

Referințe:

1. АЙТБАЕВ, К.А., МУРКАМИЛОВ, И.Т. Ожирение и метаболический синдром: патофизиологическая роль кишечной микробиоты и потенциальные возможности альтернативной терапии. В: *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2017, № 3, сс. 120-130. doi. org/10.17802/2306-1278-2017-6-3-120-130.
2. MCCRACKEN, E., WOOD, G.C., PRICHARD, W. et al. Severe anemia after Roux-en-Y gastric bypass: a cause for concern. In: *Surgery for obesity and related diseases: official journal of the American Society for Bariatric Surgery.* 2018, 14(7), pp. 902-909. doi: 10.1016/j.soard.2018.03.026.
3. MILANI, R,V., LAVIE, C.J. Health care 2020: reengineering health care delivery to combat chronic disease. In: *The American journal of medicine.* 2015, 128, pp. 337-343
4. RIBAS-LATRE, A., ECKEL-MAHAN, K. Interdependence of nutrient metabolism and the circadian clock system: importance for metabolic health. In: *Molecular metabolism.* 2016, 5, pp. 133-152.
5. BLANCAS-VELAZQUEZ, A., MENDOZA, J., GARCIA, A.N., LA FLEUR, S.E. Diet-induced obesity and circadian disruption of feeding behavior. In: *Frontiers in neuroscience.* 2017, 11, p. 23.
6. AKASH, M.S.H, FIAYYAZ, F., REHMAN, K., SABIR, S., RASOOL, M.H. Gut Microbiota and Metabolic Disorders: Advances in Therapeutic Interventions. In: *Critical reviews in immunology.* 2019, 39(4), pp. 223-237. doi: 10.1615/CritRevImmunol.2019030614.
7. KOENIG, A., BUSKIEWICZ-KOENIG, I.A. Redox Activation of Mitochondrial DAMPs and the Metabolic Consequences for Development of Autoimmunity. In: *Antioxidants & redox signaling.* 2022, 36(7-9), pp. 441-461. doi: 10.1089/ars.2021.0073.
8. MATSUDA, M, SHIMOMURA, I. Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. In: *Obesity research & clinical practice*. 2013, 7(5), pp. e330-e341. doi: 10.1016/j.orcp.2013.05.004.
9. ENGIN, A.B. Adipocyte-Macrophage Cross-Talk in Obesity. In: *Advances in experimental medicine and biology.* 2017, 960, pp. 327-343. doi: 10.1007/978-3-319-48382-5_14.
10. CHATTU, V.K., CHATTU, S.K., BURMAN, D., SPENCE, D.W., PANDI-PE-

RUMAL, S.R. The interlinked rising epidemic of insufficient sleep and diabetes mellitus. In: *Healthcare*. 2019, 7, p. 37.

11. DE GAETANO, G., COSTANZO, S., DI CASTELNUOVO, A. et al. Effects of moderate beer consumption on health and disease: A consensus document. In: *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD.* 2016, 26(6), pp. 443-467. doi: 10.1016/j.numecd.2016.03.007.
12. RUSSEL, W.R., HOYLES, L., FLINT, H.J., DUMAS, M.E. Colonic bacterial metabolites and human health. In: *Current opinion in microbiology.* 2013, 16, pp. 246-254. doi:10.1016/j.mib.2013.07.002.42.
13. KHAN, W.A., KHAN, M.W. Cancer morbidity in rheumatoid arthritis: role of estrogen metabolites. In: *BioMed research international.* 2013, 2013, p. 748178. doi: 10.1155/2013/748178.
14. KORONOWSKI, K.B., KINOUCHI, K., WELZ, P.S. et al. Defining the Independence of the liver circadian clock. In: *Cell.* 2019, 177, pp. 1448-1462.
15. BOLDYREVA, L.V., MOROZOVA, M.V., SAYDAKOVA, S.S., KOZHEVNIKOVA, E.N. Fat of the Gut: Epithelial Phospholipids in Inflammatory Bowel Diseases. In: *International journal of molecular sciences.* 2021, 22(21), p. 11682. doi: 10.3390/ijms222111682.
16. ROCHLANI, Y., POTHINENI, N.V., KOVELAMUDI, S., MEHTA, J.L. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. In: *Therapeutic advances in cardiovascular disease.* 2017, 11(8), pp. 215-225. doi: 10.1177/1753944717711379.
17. BRUNO, A., DI SANO, C., SIMON, H.U. et al. Leptin and TGF-β1 Downregulate PREP1 Expression in Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells and Mature Adipocytes. In: *Frontiers in cell and developmental biology.* 2021, 9, p. 700481. doi: 10.3389/fcell.2021.700481.
18. LISTOPADOVA, L., BACIU, A., MEREUTA, I., IONESCU-TIRGOVISTE, C., CARNICIU, S., FEDAS, V. Prevention of eating behavior disorders by indirect balancing of activating and reward systems. In: *Proceedings of The Romanian Academy. Series B: Chemistry, Life Sciences and Geosciences.* 2020, 22(2), pp. 105109. ISSN 1454-8257.