

La barriera mucosale, nuove acquisizioni e approcci terapeutici

Vincenzo Stanghellini*

Dipartimento di Malattie dell'apparato digerente e Medicina Interna, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Università di Bologna

Il mondo della medicina e della pediatria in particolare sta cambiando: nuove acquisizioni stanno permettendo di comprendere più in dettaglio una serie di meccanismi fisiopatologici che aprono la porta verso nuovi orizzonti di terapia. Un esempio emblematico è la migliore comprensione del ruolo della barriera mucosa nella patologia dell'apparato digerente. Un essere umano ha uno sviluppo in lunghezza del canale alimentare di circa 6 m (Fig. 1). Questo "tubo" si "alza" in villi, microvilli e si "abbassa" in cripte fino ad arrivare a una superficie di 200 m², quelli di un grande appartamento o di un campo da tennis. La barriera mucosa è la più grande superficie del corpo umano esposta al contatto con l'esterno e il canale alimentare, di conseguenza, rappresenta la principale sede del sistema immunitario, oltre che il più grande organo endocrino in termine di numero di ormoni prodotti e il secondo sistema nervoso dopo il sistema nervoso centrale, al pari del midollo spinale e prima del sistema nervoso autonomico. Non si tratta quindi solo di un "tubo" che deve essere semplicemente riempito e svuotato, ma di un organo fondamentale per la vita. Quanto pesi la barriera mucosa nell'omeostasi di uno stato di salute a cominciare dalla più tenera età è sempre più evidente anche dalla mole di lavori scientifici che analizzano questo aspetto. Un recente studio condotto a Bologna è al proposito emblematico. La storia inizia il 19 ottobre del 1994 a Bologna, città ben organizzata con scuole e asili che hanno una mensa centralizzata. In quella data si decide di servire vitello

tonnato, che dalla mensa centralizzata viene spedito a 36 scuole. Purtroppo la salsa tonnata era infettata dalla salmonella del tifo murino e alla stessa ora dello stesso giorno 1.770 soggetti vengono infettati dallo stesso ceppo batterico. Si tratta esattamente di 1.684 bambini tra i 3 e i 10 anni di età e 86 adulti di varie età tra i 20 e 60 anni. A distanza di 3 mesi continuava a stare male il 10% dei bambini che durante la fase acuta erano stati trattati con antibiotici e solo il 2,5% dei bambini che avevano ricevuto solo terapia reidratante. Sedici anni dopo i soggetti che avevano subito un pesante attacco alla barriera mucosa in età pediatrica e nel frattempo diventati adulti sono stati nuovamente contattati. Il dato interessante è che solo i bambini infettati e non gli adulti hanno avuto il doppio della probabilità di soffrire di disturbi intestinali una volta cresciuti e diventati adulti rispetto ai soggetti adulti che avevano avuto lo stesso

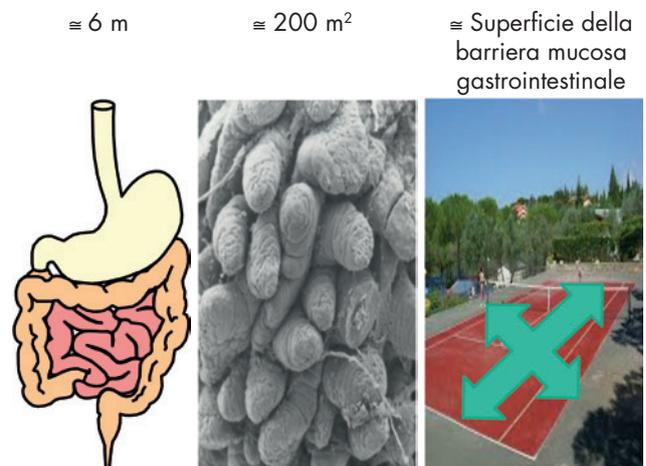


Figura 1.

Il canale alimentare è la più estesa superficie corporea a contatto con l'ambiente.

* Il presente articolo è tratto da una Relazione Congressuale del prof. Vincenzo Stanghellini che ne autorizza la pubblicazione.

tipo di infezione. Quei bambini infettatisi avevano una barriera mucosa immatura, resa ancora più fragile nel caso di bambini non allattati al seno o più soggetti a gastroenteriti frequenti. Aggredire una mucosa intestinale immatura non solo determina dei danni in prima battuta, ma provoca danni misurabili a distanza di tempo, nello studio in questione 16 anni dopo, condizionando così la vita futura. Una gestione non corretta di questa aggressione con antibiotici, alimentazione sbagliata e una mancata protezione della mucosa, condiziona, cioè, la vita di queste persone per il resto della loro esistenza.

Un evento simile è successo in Canada quando una rotura fognaria ha inquinato l'acqua dell'acquedotto con la conseguente infezione di una consistente parte di popolazione. In questo caso lo studio era meno preciso rispetto a quello di Bologna in cui si è potuto isolare un singolo ceppo batterico che alla stessa ora aveva infettato un numero preciso di persone. In questo caso una serie di ceppi batterici ha infettato nel giro di alcuni giorni una larga popolazione. Alcune di queste persone hanno sviluppato una sintomatologia imponente, altre no. La parte interessante di questo studio è la valutazione delle predisposizioni genetiche alle conseguenze patologiche. Il rapporto con la flora batterica e la buona funzionalità della barriera mucosa sono gli elementi che condizionano gli esiti. In particolare è stato evidenziato il ruolo del gene CDH1 nella funzionalità della barriera mucosa e dei *Toll Like Receptors*, recettori di aggancio dei batteri. Avere delle mutazioni nei recettori per i batteri e nei geni che condizionano la barriera mucosa sono elementi di predisposizioni alla patologia intestinale e al suo sviluppo in età adulta.

La barriera mucosa è una palizzata di cellule cilindriche monostratificate alternate a *goblet cells* che sono quelle produttrici di muco. La produzione di muco è notevole e valutata in circa 5 l al giorno. Il muco è diviso in due parti: uno strato denso, gelatinoso e non solubile e una forma molto più solubile, che viene persa con le normali attività intestinali. I bambini delle volte hanno del muco nelle feci, un po' come avere del catarro nella tosse in corso di bronchite. La maggior produzione di muco è espressione di una forte infiammazione in risposta a un'aggressione subita dall'organismo e a volte il muco prodotto in eccesso passa in maniera visibile nelle feci. L'osservazione della presenza di muco nelle feci è sufficiente per porre diagnosi di infiammazione intestinale.

Proseguendo la descrizione degli aspetti fisiologici, non va dimenticato che la barriera mucosa presenta delle *tight junctions*. Nelle persone geneticamente predisposte, le *tight junctions* non funzionano correttamente. Le *tight junctions* giocano un ruolo determinante nei processi di assorbimento. Bisogna ricordare che a livello intestinale esistono due tipi di assorbimento. Uno è trans-epiteliale, lento, tanto che una molecola impiega circa mezz'ora ad attraversare una cellula, l'altro, che avviene a livello inter-epiteliale, è veloce, dura pochi secondi e passa attraverso le *tight junctions* grazie a movimenti di dilatazione e restringimento di queste strutture dinamiche.

La barriera è ricoperta da uno strato di muco che esplica una funzione di protezione essenziale. In senso cranio-caudale, lo strato di muco è molto spesso nello stomaco perché grazie all'embricazione di molecole di bicarbonati tra le sue "maglie" deve separare due ambienti ad acidità totalmente differente, il lume a pH1 e l'ambiente a contatto delle cellule a pH neutro. È interessante evidenziare che proprio l'esistenza di questo ambiente creato dal muco consente l'annidamento e la sopravvivenza dell'*Helicobacter pylori*.

Lo strato di muco è sottile nel tenue, dove deve prevalere l'assorbimento, mentre diventa spesso nel colon in cui esiste una imponente colonizzazione batterica. Nel nostro apparato digerente è presente circa 1 kg e mezzo di batteri, con un genoma complessivo 100 volte superiore a quello umano. Contro l'aggressione di batteri potenzialmente patogeni, una difesa indispensabile è rappresentata dalla presenza del muco, in cui vive una serie di microrganismi utili, e da sostanze ad attività antibiotica, le defensine, prodotte dalle cellule di Paneth delle cripte. Il muco dunque gioca un ruolo fondamentale per la difesa della barriera mucosa.

Alterazioni della barriera mucosa in letteratura sono state dimostrate in condizioni patologiche che vanno dalla malattia da reflusso all'ulcera peptica, alle enteriti infettive, alla contaminazione batterica dell'intestino, alla colite da antibiotici, al cancro dello stomaco e dell'intestino, fino al morbo di Crohn e la retto-colite ulcerosa, alla sindrome dell'intestino irritabile, alla malattia celiaca e all'allergia. Nel Crohn e nella retto-colite ulcerosa, in particolare, si verifica un vero e proprio sovvertimento della barriera mucosa: non esiste più il muco e i batteri sono a contatto con le cellule. Più grave è l'infiammazione, minore è lo strato di muco e maggiore è il contatto tra i batteri del

lume intestinale e la superficie della barriera mucosa. Ma si moltiplicano le osservazioni di alterazioni della barriera mucosa in altre condizioni morbose come nella steatosi epatica, nella sepsi, nelle infiammazioni croniche come le artriti, in malattie autoimmuni come il diabete tipo 1, nel rigetto del trapianto, nella sindrome metabolica in generale e anche nella alterazioni dell'umore.

Ci sono studi che evidenziano come nella prevenzione secondaria dell'infarto una strategia efficace sia quella di modificare il microbiota. I pazienti trattati con antibiotici hanno meno probabilità di sviluppare una recidiva di infarto rispetto a quelli che non prendono antibiotici ad ampio spettro.

La barriera mucosa va quindi difesa. Se il muco diminuisce e quindi si riduce il numero di batteri stanziali, non transeunti, che vivono in simbiosi con noi, si verifica il contatto con una flora intestinale potenzialmente pericolosa. Alcuni ceppi di batteri sono particolarmente invasivi. *L'akkemansia muciniphila* è in grado di nutrirsi di muco. Questi ceppi di batteri specializzati sono la prima linea di attacco della flora intestinale aggressiva che puntano ad aprire delle brecce nel muco e quindi invadere l'epitelio. Ciò può determinare attivazione del sistema immunitario e quindi di quello nervoso, con alterazioni funzionali come la motilità e quindi comparsa di diarrea, uno dei meccanismi fisiologici più naturali e sani che si possano sviluppare (insieme al vomito) in difesa a un'aggressione.

La diarrea viene definita acuta quando sono presenti almeno 3 scariche al giorno per una durata inferiore a 14 giorni, cronica quando dura oltre 4 settimane, persistente quando dura tra le 2 e le 4 settimane. Si parla di dissenteria se sono presenti muco e sangue nelle feci. La diarrea non va confusa con la pseudo-diarrea. Ci sono dei casi eclatanti di anziani che vengono erroneamente trattati con antidiarroici quando invece hanno un fecaloma, evenienza che si può riscontrare anche in età pediatrica.

La mappa delle morti dei bambini nel mondo per diarrea mostra che l'Italia si trova in una zona priva di rischi, elevati invece nelle zone equatoriali e nell'Africa subsahariana con oltre 500 morti ogni 100.000 bambini. Tuttavia, in Europa l'incidenza della diarrea è molto alta: almeno un bambino ha un episodio tutti gli anni sotto i tre anni di età. Di solito l'eziologia è infettiva e l'agente più frequente è il rotavirus mentre tra i batteri

quelli maggiormente in causa sono il campylobacter e la salmonella. Come difendere, allora, la barriera mucosa? Esistono in sostanza tre possibili strategie:

- intervenire sul microbiota intestinale;
- intervenire sul sistema immunitario della mucosa;
- una difesa meccanica della mucosa.

Il microbiota interagisce con il nostro organismo proprio attraverso la barriera mucosa. Oggi si iniziano a comprendere i meccanismi di questo mutuo interplay e a descrivere ceppi batterici che possono essere utilizzati per modulare funzioni intestinali e organiche più in generale. L'uso di probiotici specifici e prebiotici rappresenta un terreno di studio quanto mai interessante e promettente, tanto che secondo Nature tra i dieci argomenti scientifici che avranno uno sviluppo nei prossimi anni, c'è un solo tema medico di rilevanza ed è il microbiota. Per quanto riguarda gli interventi sul sistema immunitario mucosale, nuove evidenze mostrano il razionale di impiego di alcuni presidi farmacologici. La mesalazina ad esempio, antinfiammatorio alla base della terapia del morbo di Crohn e della retto-colite ulcerosa, è stata utilizzata in donne che riferivano dolori addominali. Come mai si è ricorsi a questo farmaco? In questo gruppo di soggetti si è andati a valutare l'attività dei mastociti, che, in studi in microscopia elettronica, si è visto essere in contatto con terminazioni nervose. È stata riscontrata una correlazione positiva (di 0,75) tra numerosità di mastociti e vicinanza delle terminazioni nervose. Il rapporto tra vie nervose e mastociti è bidirezionale: stati di ansia o alterazioni dell'umore attivano i mastociti e fenomeni infiammatori a loro volta inviano, per attività dei mastociti, informazioni al cervello e al sistema immunitario. La somministrazione di mesalazina in questi soggetti ha ridotto il numero di mastociti e il dolore addominale. L'effetto della mesalazina sulla sintomatologia nella forma post-infettiva è stato, poi, documentato in altri studi. A difesa della barriera è oggi possibile utilizzare prodotti che offrono una protezione fisica senza interagire con l'organismo. Si tratta di un gel, il tannato di gelatina, che è un chelante delle proteine e quindi anche delle tossine. Il prodotto limita così il contatto dei peptidi con la barriera mucosa. Questo gel di acido tannico è stato studiato estesamente in laboratorio, in vitro, in modello animale e sull'uomo. In studi in vitro sono stati usati modelli cellulari idonei per valutare la capacità di permeabilità. Sono state usate in particolare, come modello di barriera

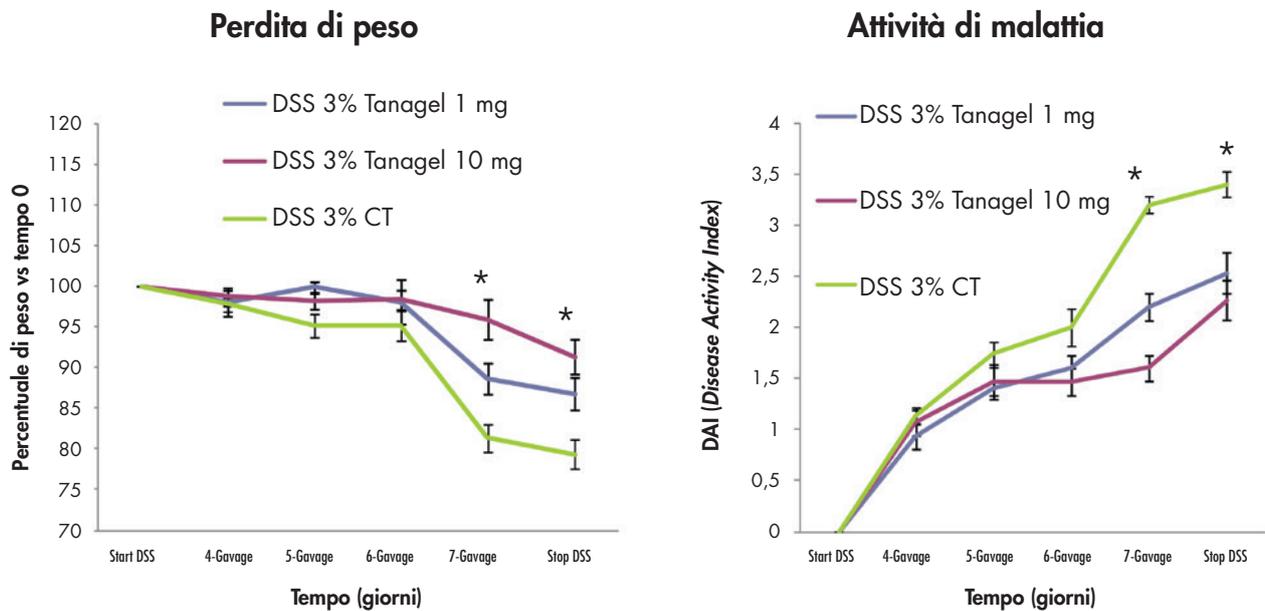


Figura 2.

Il tannato di gelatina migliora la colite sperimentale murina indotta mediante destrano solfato di sodio (DSS), permettendo il mantenimento del peso corporeo e riducendo l'infiammazione intestinale (da Scaldafetti et al., 2014, mod.).

intestinale, cellule della linea CACO-2 che hanno la tendenza a disporsi su un singolo strato. Trattando queste cellule con agenti aggressivi in grado di rompere le *tight junctions*, come la salmonella del tifo murino, si osserva un aumento di permeabilità. Se queste cellule sperimentali

vengono trattate con tannato di gelatina si riesce a impedire l'aggressione batterica. In modelli di colite in studi su animale il trattamento con tannato di gelatina a dosi crescenti migliora la condizione dell'animale, con un'attività di malattia estremamente ridotta (Figg. 2, 3).

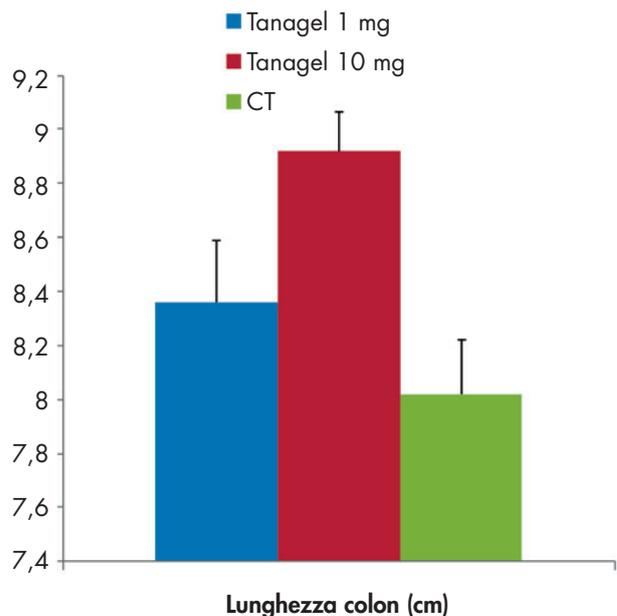
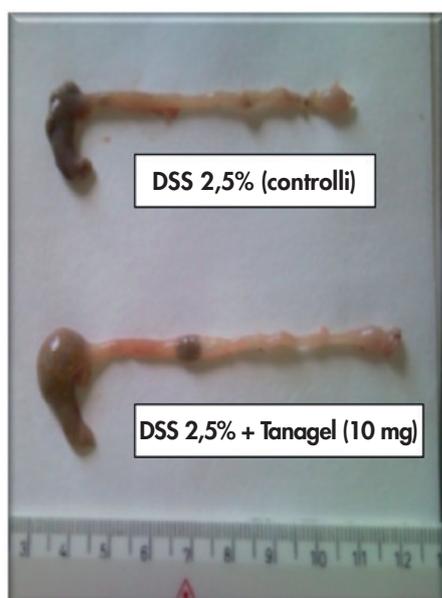
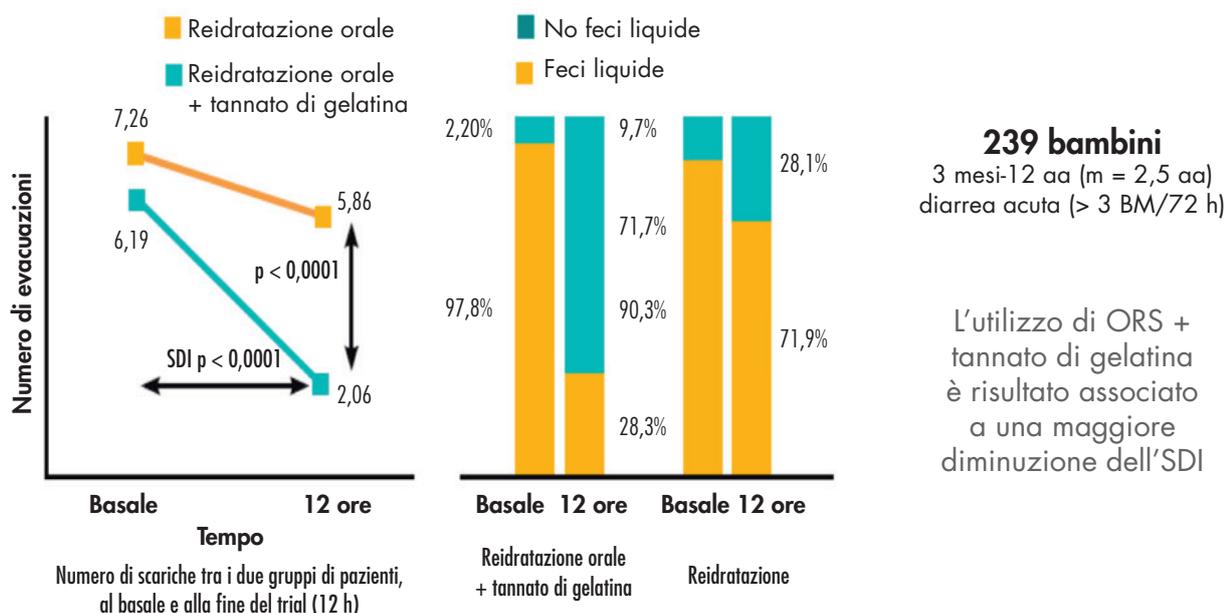


Figura 3.

Il tannato di gelatina migliora la colite sperimentale murina indotta mediante destrano solfato di sodio (DSS), prevenendo la retrazione fibrotica dell'intestino infiammato (da Scaldafetti et al., 2014, mod.).

**Figura 4.**

Efficacia del tannato di gelatina. Analisi comparativa dell'aggiunta di tannato di gelatina a terapia reidratante per via orale (ORS) verso ORS da sola (da Carretero et al, 2009, mod.).

In uno studio su uomo sono stati inclusi 239 bambini di età compresa fra 3 mesi e 12 anni (età media 2,5 anni) con diarrea acuta (Fig. 4). Quando sono stati arruolati avevano in media 7 scariche nelle precedenti 12 ore. Il trattamento con placebo nelle 12 ore successive ha ridotto il numero delle scariche a 6, il trattamento con tannato di gelatina (Gelenterum), ha ridotto il numero delle scariche a 2, con feci formate e non acquose. Il tannato di gelatina somministrato anche agli adulti (studio presentato al Congresso della Società italiana di Medicina Generale, ma non pubblicato) ha ridotto il numero di scariche da 6 a 2 in 12 ore, con feci non liquide. Il fatto che il dato nell'adulto e nel bambino coincida è particolarmente interessante. In altri studi è stato valutato il numero di evacuazioni e il dolore addominale al giorno 1 e al giorno 2. Gelenterum ha ridotto in maniera statisticamente significativa numero di evacuazioni e dolore rispetto a placebo.

Il vantaggio offerto dal prodotto è la sua elevata accettabilità, perché non è un farmaco ma uno strumento di protezione meccanica della barriera mucosa.

In conclusione, il clinico non può più non conoscere

il problema della barriera mucosa, una struttura che separa due mondi. Una serie enorme di malattie, gastrointestinali e non, dipende dall'integrità di questa barriera.

Oggi, almeno nella fase acuta, abbiamo strumenti a rischio zero che funzionano in studi controllati contro placebo in maniera importante a difesa di questo baluardo fondamentale per la nostra vita.

Bibliografia di riferimento

- Carretero JB, Durbán Reguera F, López-Argüeta Alvarez S, et al. A comparative analysis of response to vs. ORS + gelatin tannate pediatric patients with acute diarrhea. *Rev Esp Enferm Dig* 2009;101:41-8.
- Cremon C, Stanghellini V, Pallotti F, et al. *Salmonella gastroenteritis during childhood is a risk factor for irritable bowel syndrome in adulthood.* *Gastroenterology* 2014;147:69-77.
- Lopetuso LR, Scaldaferri F, Bruno G, et al. *The therapeutic management of gut barrier leaking: the emerging role for mucosal barrier protectors.* *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19:1068-76.
- Ouwkerk JP, de Vos WM, Belzer C. *Glycobiome: bacteria and mucus at the epithelial interface.* *Best Pract & Res Clin Gastroenterol* 2013;27:25-38.
- Scaldaferri F, Lopetuso LR, Petito V, et al. *Gelatin tannate ameliorates acute colitis in mice by reinforcing mucus layer and modulating gut microbiota composition: Emerging role for 'gut barrier protectors' in IBD?* *UEGJ* 2014;2:113-22.