

ANALISI SISTEMATICA DELL'EFFETTO DEI FARMACI NON ANTIBIOTICI SUL MICROBIOTA INTESTINALE

Systematic analysis of non-antibiotic drugs' impact on Gut microbiome

Clelia Peano

Institute of Genetic and Biomedical Research, National Research Council, Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano, Milano

Keywords

Non-antibiotic drugs
Side effects
Gut microbiome
Dysbiosis
Infection

Abstract

Although many drugs have gastrointestinal side effects, the role of the gut microbiota in these processes is rarely considered; at the same time global prescription drug use has been continuously increasing in the last decades.

In recent works, consumption of drugs, designed to target human cells and not microbes, such as proton pump inhibitors (PPIs), antidiabetics (metformin), nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), opioids, statins and atypical antipsychotics (AAPs), has been associated with changes in gut microbiome diversity and composition.

Here a selection of the most significant studies assessing the microbiome alterations associated with these drugs assumption was conducted.

As evidenced by the analysis of wide cohorts of individuals PPIs and antipsychotics are associated with a decrease in diversity (α -diversity) of the gut microbiome, while metformin and NSAIDs were not associated with significant changes in α -diversity. Otherwise, all drugs showed a great effect on the alteration of gut microbiome taxonomical and functional composition (β -diversity). In particular, PPIs use was linked to a decrease in Clostridiales and increase in Actinomycetales, Micrococcaceae and Streptococcaceae, which are changes previously implicated in dysbiosis and increased susceptibility to Clostridium difficile infection. Consistent results showed that PPIs, metformin, NSAIDs, opioids and antipsychotics were either associated with increases in members of class Gammaproteobacteria, or members of family Enterococcaceae, which are often pathogens, while antipsychotic treatment is associated with an increase in body mass index, resembling trends of gut microbiome dysbiosis seen in obese patients.

It is more and more evident that non-antibiotic prescription drugs have a negative impact on the overall architecture of the intestinal microbiome. In the future, it will be important to define biomarkers of this gut dysbiosis and to better investigate the resistance mechanisms induced by non-antibiotic drugs to understand the link between their side effects, the gut microbiome and the maintenance of a healthy status.

Introduzione

L'assunzione anche saltuaria di farmaci può influenzare il microbiota intestinale.

Molti farmaci hanno effetti collaterali a livello gastro-intestinale; molto raramente però la disbiosi a carico del microbiota intestinale potenzialmente indotta dai farmaci stessi è stata presa in considerazione come una delle cause di tali effetti collaterali.

Il microbiota umano consiste di 10-100 miliardi di cellule microbiche simbiotiche ospitate da ogni persona; il metagenoma umano è costituito dai geni che queste cellule ospitano.

Corrispondenza: Clelia Peano, Institute of Genetic and Biomedical Research, National Research Council, Humanitas Clinical and Research Center, Via Rita Levi Montalcini, 4 20090 Rozzano (MI). E-mail: clelia.peano@humanitasresearch.it

Recentemente l'utilizzo di farmaci il cui target sono le cellule umane e non i batteri, ad esempio gli antidiabetici (come metformina) [1], gli inibitori di pompa protonica (PPI) [2, 3], i farmaci anti-infiammatori non steroidei (FANS) [4] e gli antipsicotici atipici (AAP) [5], sono stati associati con alterazioni nella composizione del microbiota intestinale. Studi effettuati su ampie coorti di individui, trattati con questi diversi tipi di farmaci, hanno dimostrato che anche l'utilizzo di farmaci diversi dagli antibiotici può alterare drasticamente il profilo tassonomico e funzionale del microbiota intestinale [6].

Negli Stati Uniti come in Europa le prescrizioni di farmaci stanno aumentando in modo esponenziale negli ultimi anni; i farmaci più frequentemente prescritti a livello ambulatoriale, escludendo gli antibiotici, sono analgesici, farmaci ipocolesterolemizzanti, antidepressivi e antidiabetici [7]. Il microbiota intestinale, il cui equilibrio è strettamente associato al mantenimento di uno stato di salute dell'individuo e la cui disbiosi è fortemente correlata all'insorgenza e progressione di varie patologie [8], può essere condizionato ed alterato nella sua composizione dall'assunzione di farmaci. Ovviamente gli antibiotici sono tra i farmaci con maggior impatto sul microbiota intestinale, con effetti di lunga durata sui pazienti [9, 10] ed è risaputo che anche i trattamenti chemioterapici inducano una disbiosi specifica a carico del microbiota [11, 12]. In un recente lavoro, il gruppo di Maurice et al. ha valutato l'impatto di diverse tipologie di farmaci, inclusi antibiotici, digossina, fenacetina e sulfasalazina, nel modificare la composizione del microbiota, dimostrando che gli antibiotici hanno l'effetto più marcato [13]. Risulta però estremamente importante riuscire a valutare l'effetto di diversi trattamenti farmacologici sulla modulazione del microbiota intestinale, in particolare di quei farmaci che vengono prescritti con maggiore frequenza [14].

Questa review propone una valutazione degli effetti indotti dai farmaci non antibiotici a livello di alterazione della composizione tassonomica e funzionale del microbiota intestinale. In particolare sono stati analizzati gli effetti delle categorie di farmaci maggiormente prescritte quali: i PPI, la metformina, i FANS, gli oppioidi, le statine e gli antipsicotici, tramite un'analisi sistematica di alcuni dei lavori maggiormente rappresentativi ed esaustivi pubblicati ad oggi sull'argomento e che riguardano studi osservazionali o interventistici effettuati su coorti di individui ampie e statisticamente significative.

La **Tabella 1** riassume le principali alterazioni del microbiota intestinale a livello di diversità, composizione tassonomica e funzionale, ed elenca i principali articoli pubblicati.

Indici di biodiversità

α -diversity. Rappresenta la diversità di un habitat o di una comunità. Descrive il numero di specie e il grado di ripartizione delle abbondanze tra le singole specie di una comunità.

β -diversity Rappresenta il grado di cambiamento della diversità specifica tra le comunità distinte presenti in un ecosistema. Descrive le variazioni nella composizione e nell'abbondanza delle specie tra due habitat distinti

Tabella 1 Elenco dei principali articoli pubblicati, nei quali sono stati analizzati gli effetti delle categorie di farmaci maggiormente prescritti e analizzate le principali alterazioni del microbiota intestinale a livello di diversità, composizione tassonomica e funzionale.

	Diversità (α -diversity)	Composizione tassonomica (β -diversity)	Composizione funzionale (OTU)	Riferimenti bibliografici	Dimensione delle coorti
Effetti dei PPI	Ridotta		Alterata	Jackson et al. [27]	1827
	Ridotta			Imhann et al. [29]	A) 1174; B) 300; C) 189; D) 152
		Alterata		Zhernakova et al. [28]	1135
	Ridotta	Alterata		Bajaj et al. [30]	30
	Ridotta			Seto et al. [31]	14
Effetti della metformina	NON- Alterata	Alterata		Forslund et al. [36]	784
		Alterata	Alterata	Cuesta-Zuluaga et al. [37]	459
		Alterata		Zhernakova et al. [28]	1135
		Alterata	Alterata	Wu et al. [40]	40
Effetti dei FANS	NON- Alterata	NON- Alterata		Vincent et al. [43]	98
	NON- Alterata	NON- Alterata		Bokulich et al. [44]	155
	NON- Alterata	NON- Alterata		Zhernakova et al. [28]	1135
			Alterata	Rogers et al. [45]	155
Effetti degli oppioidi	NON- Alterata	Alterata	Alterata	Vincent et al. [43]	98
	NON- Alterata	Alterata	Alterata	Acharya et al. [50]	A) 200; B) 72
	NON- Alterata	Alterata	Alterata	Zhernakova et al. [28]	1135
Effetti delle statine	NON- Alterata	Alterata		Zhernakova et al. [28]	1135
Effetti degli antipsicotici	Ridotta	Alterata	Alterata	Flowers et al. [55]	117

OTU Operational Taxonomic Units.

Nella **Figura 1** sono schematizzati i principali organi target delle categorie di farmaci maggiormente prescritte (cioè i PPI, la metformina, i FANS, gli oppioidi, le statine e gli antipsicotici; **Figura 1A**) e ad essi sono associati i potenziali meccanismi d'azione (**Figura 1B**). In **Figura 1C** sono analizzati nel dettaglio i meccanismi d'azione e gli effetti sul microbiota dei PPI.

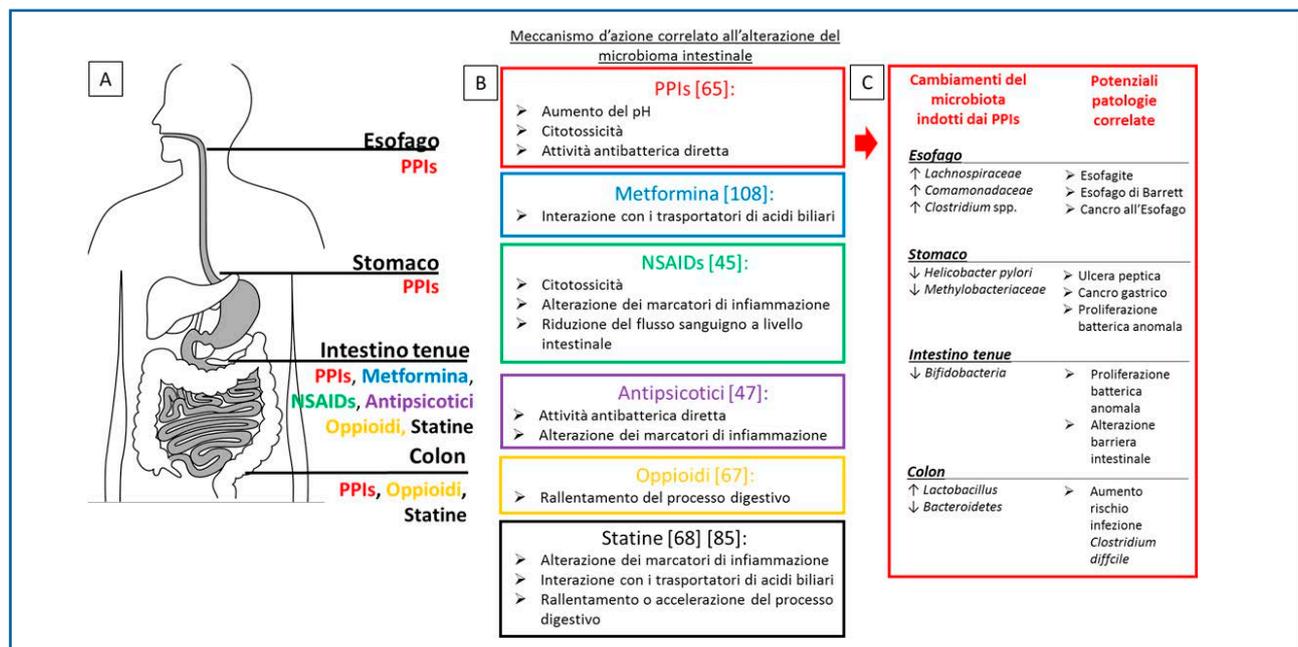


Figura 1 A) Organi target dei diversi farmaci analizzati; B) Possibili meccanismi attraverso cui i farmaci influenzano il microbiota intestinale; C) Cambiamenti del microbiota indotti dai PPI e potenziali patologie correlate.

Analisi degli effetti degli inibitori di pompa protonica

L'utilizzo di PPI può essere associato con l'aumento di infezioni da *Clostridium difficile*, con l'aumento di rischio di infezioni enteriche e con infezioni da *Streptococcus pneumoniae*.

Gli inibitori di pompa protonica sono molto spesso prescritti per la prevenzione e il trattamento del reflusso gastro-esofageo e per l'ulcera peptica [15, 16] e risultano essere all'ottavo posto nella classifica dei farmaci maggiormente prescritti negli Stati Uniti [17]. La relativa efficacia e sicurezza di questi farmaci ha contribuito al loro eccessivo utilizzo [18, 19], allo stesso tempo però studi di metanalisi hanno evidenziato come l'utilizzo di PPI possa essere associato con l'aumento di infezioni da *Clostridium difficile* [20, 21], soprattutto in pazienti ricoverati in ospedale [22], con l'aumento di rischio di infezioni enteriche [23, 24] e con infezioni da *Streptococcus pneumoniae* [25]. In uno studio recente, effettuato su una casistica di 400 pazienti affetti da cirrosi, è stato evidenziato come la prescrizione di PPI possa essere considerato un fattore di predizione indipendente del rischio di infezione [26] (**Figura 1C**).

Alterazioni nella diversità del microbiota intestinale negli individui che fanno uso di PPI

I PPI riducono la diversità (α -diversity) nel microbiota intestinale degli utilizzatori rispetto ai non utilizzatori.

In un recente lavoro pubblicato da Jackson et al. sono stati analizzati campioni fecali provenienti da una coorte inglese composta da 1827 individui utilizzatori di PPI (di cui il 90% donne, con età media di 62 anni). Il team di ricercatori ha evidenziato una ridotta diversità (α -diversity) nel microbiota intestinale degli utilizzatori di PPI rispetto ai non utilizzatori [27]. In un altro studio, pubblicato da Imhann et al., tre diverse coorti olandesi sono state analizzate: la prima composta da 1174 individui coinvolti in uno studio condotto sulla popolazione generale "LifeLines-DEEP" [29], la seconda composta da 300 pazienti affetti da *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) arruolati presso il dipartimento di Epatologia dell'Università di Groningen e la terza composta da 189 pazienti con IBD e 152 controlli sani arruolati all'Università di Maastricht. Dall'analisi delle tre coorti separate non erano state evidenziate differenze significative, ma l'analisi combinata dei tre dataset ha rivelato una diminuzione significativa della diversità intrinseca del microbiota intestinale degli utilizzatori di PPI rispetto ai non utilizzatori (α -diversity indexes: Shannon $p=0,01$ e species richness $p=0,02$) [29]. Differenze significative nella composizione a livello di specifici cambiamenti nell'architettura del microbiota intestinale (β -diversity: adonis $R^2 = 0,004$, p aggiustato $=0,0006$) associate all'assunzione di PPI sono stati osservati da Zhernakova et al. in uno studio effettuato su una coorte di 1135 individui olandesi [28]. Lo stesso tipo di cambiamenti significativi nella composizione del microbiota intestinale, osservati in seguito all'utilizzo di PPI, erano stati in precedenza osservati in uno studio di Bajaj et al. confrontando pazienti con cirrosi sottoposti a terapia con omeprazolo e controlli sani [30]. Infine in uno studio longitudinale condotto da Seto et al. una diminuzione nella variabilità della composizione del microbiota intestinale è stata individuata già dopo una settimana di utilizzo di PPI (*observed Operational Taxonomic Units*, $p=0,004$), e associata ad una maggior predisposizione all'infezione da *Clostridium difficile* [31] (**Figura 1C**).

Cambiamenti a livello tassonomico della composizione del microbiota intestinale negli utilizzatori di PPI

I PPI inducono alterazioni nella composizione tassonomica e funzionale nel microbiota intestinale degli utilizzatori rispetto ai non utilizzatori.

Nel lavoro di Jackson et al. [27] sono state individuate 22 *Operational Taxonomic Units* (OTU) significativamente ridotte, in termini di abbondanza relativa, nel microbiota intestinale degli utilizzatori di PPI e 32 OTU positivamente associate e arricchite in seguito ad assunzione di PPI (p aggiustato $<0,05$). I valori di associazione più rilevanti e significativi sono correlati a OTU di *Bifidobacterium* e *Streptococcus*; ben sette diverse specie sono state trovate associate negativamente all'utilizzo di PPI, in particolare le specie di *Erysipelotrichales* e *Clostridiales*, mentre 24 specie sono state trovate in associazione positiva con l'utilizzo di PPI. Inoltre utilizzando i dati derivanti dal progetto *Human Microbiome Project* [32] il gruppo di Jackson ha evidenziato come nel microbiota intestinale degli utilizzatori di PPI ci fosse un significativo arricchimento di famiglie batteriche solitamente presenti nel microbiota orale o vaginale. Parallelamente in uno studio effettuato da Freeberg et al. su 12 volontari sottoposti ad assunzione di omeprazolo (40mg due volte al giorno) per 4 settimane si sono evidenziati arricchimenti significativi nell'abbondanza di *Enterococcaceae* (\log_2 -Fold change, $p=0,03$), *Micrococcaceae* (\log_2 -Fold change, $p=0,01$), e *Streptococcaceae* (\log_2 -Fold change, $p<0,01$) e una diminuzione significativa di *Clostridiaceae* ($p=0,03$) in associazione

con un aumento nella predisposizione a sviluppare infezione da *C. difficile* [33]. L'aumento nell'abbondanza relativa di *Streptococcaceae* in seguito ad utilizzo di PPI è stato osservato anche dal gruppo di Bajaj et al. [30]. Anche nello studio effettuato sulla coorte più numerosa di individui (1815 partecipanti), analizzata da Jackson et al., si è evidenziato un aumento significativo dei generi *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* e di alcune specie potenzialmente patogene di *Escherichia coli* in associazione all'utilizzo di PPI. Un'altra importante osservazione derivante dallo studio di quest'ampia coorte riguarda l'aumento di numerose specie batteriche tipiche del microbiota orale nel microbiota intestinale degli utilizzatori di PPI, tra i più significativamente arricchiti i generi *Rothia*, *Scardovia* e *Actinomyces* (p aggiustato <0,05) [27] (Figura 1C).

Analisi degli effetti della metformina

Circa il 30% dei pazienti trattati con metformina accusa effetti collaterali GI che possono essere correlati a una disbiosi intestinale.

La metformina, un farmaco che permette di diminuire i livelli di glucosio nel sangue, è uno dei farmaci maggiormente prescritti ai pazienti affetti da diabete di tipo 2 [34].

Circa il 30% dei pazienti trattati con metformina accusa effetti collaterali a livello gastrointestinale, come ad esempio dolori addominali e diarrea, che possono essere correlati a una disbiosi intestinale indotta dall'utilizzo di metformina stessa [35].

Alterazioni nella diversità del microbiota intestinale negli individui che fanno uso di metformina

Non sono state evidenziate differenze significative indotte da metformina a livello di α -diversity del microbiota di pazienti diabetici trattati rispetto a pazienti non trattati, ma solo alterazioni a livello di composizione specifica in termini di β -diversity.

Sia nel lavoro pubblicato da Forslund et al. [36] che nel lavoro di de la Cuesta-Zuluaga et al. [37] non sono state evidenziate differenze significative a livello di α diversity, e quindi di diversità del microbiota intestinale, confrontando campioni fecali di pazienti diabetici sottoposti a trattamento con metformina rispetto a pazienti non trattati, sia in coorti di individui danesi, svedesi e cinesi [36] che di individui colombiani [37]. Allo stesso tempo però l'analisi delle alterazioni a livello di composizione specifica in termini di β -diversity ha evidenziato differenze significative in entrambi gli studi tra i pazienti trattati e quelli non trattati con metformina (P = 0.036). Inoltre anche nel lavoro di Zhernakova et al. basato sullo studio di una ampia coorte olandese di 1135 partecipanti sono stati osservati cambiamenti significativi nella composizione del microbiota intestinale a livello di β -diversity associati all'utilizzo di metformina [28].

Cambiamenti a livello tassonomico della composizione del microbiota intestinale negli utilizzatori di metformina

Una significativa diminuzione di *Intestinibacter* e un significativo arricchimento di *Escherichia* è stato evidenziato in pazienti trattati con metformina.

Nello studio di Forslund et al. [36] è stata evidenziata una significativa diminuzione di *Intestinibacter* e un significativo arricchimento di *Escherichia* in pazienti trattati con metformina, gli stessi risultati sono stati confermati da uno studio effettuato su una coorte indipendente [37]. Allo stesso tempo anche nel microbiota fecale di individui trattati con metformina, della coorte olandese *LifeLines-DEEP*, è stata evidenziata una associazione positiva con l'aumento di *Escherichia* (p aggiustato = 0,003) e una associazione negativa con la presenza di *Bacteroides dorei* (p aggiustato = 0,049), *Coprococcus comes* (aggiustato = 0,011), *Dorea formicigenerans* (p aggiustato = 0,063), *Dorea longicatena* (p aggiustato = 0,085), *Clostridium bartlettii* (p aggiustato = 0,047) [29, 38].

Anche nello studio di Karlsson et al. si è evidenziato, dall'analisi del microbiota intestinale di 142 donne europee, che il trattamento di pazienti con diabete di tipo 2 con metformina è responsabile di una notevole alterazione della composizione del microbiota, inducendo un arricchimento significativo dell'abbondanza di 103 specie, principalmente membri della famiglia delle *Enterobacteriaceae*, come ad esempio *E. coli* (p aggiustato = 0,004), *Shigella* (p aggiustato = 0,005), *Klebsiella* (p aggiustato = 0,013), *Citrobacter* (p aggiustato = 0,007), *Enterobacter cloacae* (p aggiustato = 0,013) e *Salmonella enterica* (p aggiustato = 0,03). Allo stesso tempo anche Karlsson et al. hanno evidenziato una diminuzione significativa a livello di abbondanze relative di 18 specie batteriche tra cui *C. bartlettii* (p aggiustato = 0,006), *Mobiluncus mulieris* (p aggiustato = 0,04), *Peptoniphilus duerdenii* (p aggiustato = 0,004) e *Eubacterium siraeum* (p aggiustato = 0,016) [39].

Utilizzando un'analisi basata su una discriminante lineare, de la Cuesta-Zuluaga et al. hanno dimostrato che OTU di *Prevotella* e *Megasphaera* risultano arricchite in pazienti trattati con metformina, mentre OTU di *Oscillospira*, *Barnesiellaceae* e *Clostridiaceae* sono significativamente ridotte nei pazienti diabetici trattati con metformina. Allo stesso tempo, associando i generi batterici correlati alla produzione di butirrato e alla degradazione di mucina, si è osservata una maggior abbondanza di *Akkermansia muciniphila* e *Butyrivibrio*, tre volte più abbondanti nei pazienti diabetici trattati che nei non trattati [37].

Risultati simili sono riportati anche nello studio longitudinale effettuato da Wu et al. su pazienti diabetici di tipo 2 alla prima diagnosi e trattati per 4 mesi con metformina [40].

Analisi degli effetti dei farmaci anti-infiammatori non steroidei

L'uso di FANS è spesso correlato ad effetti collaterali GI ma non è stato associato a importanti alterazioni a livello né di α né di β diversity.

I farmaci anti-infiammatori non steroidei sono ampiamente prescritti per curare stati dolorosi e condizioni di infiammazione generale [41]. I FANS bloccano la biosintesi di prostanoidei tramite l'inibizione degli enzimi ciclo-ossigenasi 1 e 2 [42]. L'utilizzo di questo tipo di farmaci è molto spesso correlato ad effetti collaterali gastrointestinali [42].

Alterazioni nella diversità del microbiota intestinale negli individui che fanno uso di FANS

L'utilizzo di FANS non è stato associato a importanti alterazioni a livello né di α né di β diversity in tre diverse coorti analizzate rispettivamente da Vincent et al. [43], Bokulich et al. [44] e Zhernakova et al. [28].

Cambiamenti a livello tassonomico della composizione del microbiota intestinale negli utilizzatori di FANS

Le principali alterazioni indotte dal trattamento con FANS si osservano a livello funzionale, con cambiamenti a livello di abbondanze relative di alcune specifiche OTU batteriche.

Le principali alterazioni indotte dal trattamento con FANS si osservano a livello funzionale, con cambiamenti a livello di abbondanze relative di alcune specifiche OTU batteriche, come evidenziato nello studio di Rogers et al. [45] in cui dall'analisi di 155 individui si evidenzia un aumento di OTU della famiglia delle *Enterobacteriaceae* in seguito a utilizzo di naprossene. Anche l'utilizzo di celecoxib e ibuprofene sono stati associati all'aumento nell'abbondanza di *Enterococcaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Rysipelotrichaceae*. Allo stesso tempo un arricchimento di OTU di batteri appartenenti alle famiglie delle *Desulfovibrionaceae*, *Enterococcaceae*, *Erysipelotrichaceae* e *Alistipes* è stato osservato con l'utilizzo di FANS come il ketorolac, mentre l'arricchimento in *Propionibacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Puniceococcaceae* e *Rikenellaceae* risulta più specificamente associato all'utilizzo di ibuprofene.

Analisi degli effetti degli oppioidi

I farmaci oppioidi alterano l'integrità della barriera intestinale e sono stati evidenziati effetti a livello di α e β diversity.

La morfina è il farmaco maggiormente utilizzato per il trattamento di stati dolorosi moderati e gravi [46]; è stato dimostrato che i farmaci a base di oppioidi alterano l'integrità della barriera intestinale inducendo di conseguenza la traslocazione dei batteri intestinali attraverso di essa [47-49].

Alterazioni nella diversità del microbiota intestinale negli individui che fanno uso di oppioidi

In tre diversi studi in cui è stato valutato l'effetto degli oppioidi sull'alterazione della composizione del microbiota intestinale sono stati evidenziati effetti sia livello di α - che di β -diversity, che dimostrano l'associazione diretta tra l'utilizzo di oppioidi e specifici cambiamenti nell'architettura del microbiota intestinale [28, 43, 50].

Cambiamenti a livello tassonomico della composizione del microbiota intestinale negli utilizzatori di oppioidi

Nello studio di Vincent et al. [43] l'effetto dell'utilizzo di oppioidi in una coorte di 98 pazienti ricoverati è stato associato positivamente con l'aumento di *Parabacteroides* ($p=0,003$), *Propionimicrobium* ($p=0,004$), *Alistipes* ($p=0,016$), *Sutterella* ($p=0,017$), *Clostridium* ($p=0,026$), *Bifidobacterium* ($p=0,026$), *Unclassified Lachnospiraceae* ($p=0,0295$) e *Pyramidobacter* ($p=0,038$) e associato negativamente con *Polyomavirus* ($p=0,0002$), *Pseudomonas* ($p=0,0003$), *Unclassified Ruminococcaceae* ($p=0,003$), *Candida* ($p=0,019$) e *Megamonas* ($p=0,028$), diminuiti nei pazienti trattati con morfina. L'associazione positiva dell'uso di oppioidi con l'aumento di *Bifidobacterium* e di *Alistipes* è stato confermato anche da altri due studi Acharya et al. [50] e Zhernakova et al. [28].

Analisi degli effetti delle statine

Le statine possono essere responsabili di alterazioni del microbiota intestinale soprattutto nella composizione tassonomica β -diversity.

Le statine sono comunemente utilizzate nel trattamento di pazienti con patologie cardiovascolari per ridurre il livello di colesterolo nel sangue. Sono al secondo posto nella lista dei farmaci maggiormente prescritti negli Stati Uniti [7], gli effetti collaterali a livello gastrointestinale associati all'assunzione di statine includono: dolori addominali, gonfiore, diarrea e stipsi, suggerendo che le statine possano essere responsabili di alterazioni a livello del microbiota intestinale [51, 52].

Alterazioni nella diversità del microbiota intestinale negli individui che fanno uso di statine

Nello studio effettuato da Zhernakova et al. [28] su un'ampia coorte olandese di 1135 individui, è stata dimostrata una forte associazione tra l'utilizzo di statine e l'alterazione del microbiota intestinale dei pazienti trattati rispetto ai controlli a livello di β -diversity (*Adonis* $R^2 = 0,003$; p aggiustato = $0,001$).

Cambiamenti a livello tassonomico della composizione del microbiota intestinale negli utilizzatori di statine

Sempre nello studio effettuato da Zhernakova et al. [28] è stata dimostrata una associazione positiva tra l'utilizzo di statine e l'aumento di *S. parasanguinis* (coefficiente = $0,056$; p aggiustato = $0,003$), *Streptococcus vestibularis* (coefficiente = $0,037$; p aggiustato = $0,011$), *Clostridium bolteae* (coefficiente = $0,025$; p aggiustato = $0,037$), *Ruminococcus torques* (coefficiente = $0,044$; p aggiustato = $0,037$), *Ruminococcus bacterium* (coefficiente = $0,023$; p aggiustato = $0,037$) e *Coprobacillus* (coefficiente = $0,03$; p aggiustato = $0,048$); e una associazione negativa con *Eubacterium ramulus* (coefficiente = $0,052$; p aggiustato = $0,044$), *C. comes* (coefficiente = $0,065$; p aggiustato = $0,011$), *D. formicigenerans* (coefficiente = $0,041$; p aggiustato = $0,030$), *D. longicatena* (coefficiente = $0,090$; p aggiustato = $0,00006$) e *Ruminococcus lactaris* (coefficiente = $0,075$; p aggiustato = $0,073$).

Analisi degli effetti degli antipsicotici

L'aumento di peso correlato agli antipsicotici suggerisce un loro impatto sul microbiota intestinale.

Gli antipsicotici di seconda generazione sono farmaci approvati dalla *Food and Drug Administration* per i trattamenti di disturbi psicotici come la schizofrenia e disturbi bipolari [53]. Uno degli effetti collaterali maggiormente riscontrato nei pazienti che ne fanno uso consiste nell'aumento di peso e di grasso a livello intestinale [54] suggerendo un potenziale impatto di questi farmaci sul microbiota intestinale.

Alterazioni nella diversità del microbiota intestinale negli individui che fanno uso di antipsicotici

L'alterazione indotta dagli antipsicotici sul microbiota intestinale è simile alla disbiosi intestinale correlata all'obesità.

In uno studio effettuato da Flowers et al. [55] su una coorte composta da 117 individui affetti da disturbi bipolari (di cui 49 trattati con antipsicotici atipici e 68 non trattati) si evidenzia una notevole diminuzione della diversità (α -diversity) del microbiota intestinale nei pazienti trattati rispetto ai non trattati (*inverse Simpson index*, $p=0,045$). Tale diminuzione della diversità si accentua ulteriormente stratificando i pazienti per genere, infatti la diminuzione dell' α -diversity risulta essere fortemente significativa nelle donne trattate con antipsicotici (*inverse Simpson index* $p=0,015$), ma non negli uomini (*inverse Simpson index* $p=0,8$). Anche la composizione specifica del microbiota dei pazienti trattati risulta essere in questo studio significativamente alterata a livello di β -diversity; inoltre i campioni dei pazienti trattati e non trattati clu-

sterizzano separatamente (*Yue and Clayton distance metric*, AMOVA, $p=0,04$) anche in seguito a stratificazione per età, massa corporea e trattamento con benzodiazepine (quest'ultimo tipo di trattamento incrementa la significatività della separazione fra trattati e non trattati, $p=0,02$).

Cambiamenti a livello tassonomico della composizione del microbiota intestinale negli utilizzatori di antipsicotici

Flowers et al. hanno osservato un aumento significativo nell'abbondanza relativa di Lachnospiraceae ($p=0,029$) e una diminuzione significativa di Akkermansia ($p=0,0006$) e Sutterella nei pazienti trattati con antipsicotici atipici rispetto ai non trattati (55).

Discussione

Recentemente Falony et al hanno dimostrato che l'utilizzo di farmaci non antimicrobici è correlato ad alterazioni nella composizione del microbiota intestinale e strettamente associato a variazioni a livello di β -diversity [6]. Anche nel lavoro di Zhernakova et al. [28] l'effetto dei farmaci sulla composizione del microbiota è stato estesamente analizzato, prendendo in considerazione ben 19 diversi tipi di farmaci tra cui PPI, statine e antibiotici [28]. Ad oggi però il lavoro più esaustivo pubblicato è quello di Maier et al. [56] pubblicato sulla rivista *Nature* all'inizio del 2018. In questo studio è stato effettuato uno screening su oltre 1000 farmaci attualmente in commercio, questi farmaci sono stati testati contro i 40 ceppi batterici maggiormente rappresentati nel microbiota intestinale umano. Lo studio dimostra che circa il 24% dei farmaci, che rappresentano tutti i tipi di classi terapeutiche, sono in grado di inibire la crescita in-vitro di almeno uno dei ceppi testati, in particolare i farmaci antipsicotici hanno effetti su un numero molto ampio di ceppi batterici. I farmaci analizzati in questo screening, pur non essendo antimicrobici, presentano effetti simili a quelli degli antibiotici sul microbiota intestinale, inoltre la suscettibilità a determinati antibiotici e allo stesso tempo a specifici farmaci trova una forte correlazione tra le diverse specie batteriche, suggerendo che possano essere indotti dai farmaci meccanismi di resistenza comuni a quelli associati agli antibiotici. Il lavoro di Maier et al. [56] mette quindi in evidenza il rischio potenziale che l'utilizzo eccessivo di numerosi farmaci non-antibiotici possa non solo alterare la composizione del microbiota intestinale, ma anche promuovere lo sviluppo e la diffusione di meccanismi di resistenza.

In generale dall'analisi proposta in questa review relativamente all'effetto sul microbiota intestinale dell'utilizzo delle classi di farmaci maggiormente prescritte (PPI, metformina, FANS, oppioidi, statine, antipsicotici) appare chiaro come ci sia in generale un impatto negativo sulla ricchezza e diversità del microbiota negli individui che utilizzano questi farmaci [27, 29, 36, 55].

Allo stesso tempo si evidenzia come diversi tipi di farmaci inducano alterazioni comuni nella composizione tassonomica del microbiota intestinale, ad esempio in numerosi studi è stato verificato che i PPI, la metformina, i FANS, gli oppioidi e gli antipsicotici siano associati ad un aumento delle classi dei *Gammaproteobacteria*, che includono *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella* e *Proteus*. Questi risultati sono più consistenti nel caso dei PPI e della metformina in quanto derivano da studi osservazionali ed interventistici effettuati su ampie coorti di pazienti [27, 29, 30, 33, 40, 42]. Di conseguenza specifiche alterazioni tassonomiche nella composizione del microbiota intestinale possono essere associate con specifici trattamenti farmacologici definendo quindi una *signature* specifica della disbiosi indotta da farmaci non-antibiotici.

Un altro aspetto importante da prendere in considerazione riguarda la possibilità che le disbiosi intestinali indotte dai trattamenti farmacologici possano indurre a sviluppare patologie di natura infiammatoria, come ad esempio allergie, intolleranze o sindrome infiammatoria intestinale, obesità e celiachia [56, 57, 58]; è noto infatti che farmaci come i FANS aumentino la permeabilità della barriera intestinale. Oppure alcuni farmaci possono rendere gli utilizzatori più suscettibili alle infezioni, come dimostrato nel caso dell'utilizzo di PPI e di maggior predisposizione a sviluppare infezione da *C. difficile* [60-62].

Prospettive future e conclusioni

Valutazione di altre categorie di farmaci

In futuro sarà sicuramente necessario valutare l'effetto sul microbiota intestinale anche di altre tipologie di farmaci, quali ad esempio gli ormoni tiroidei e i contraccettivi, altre classi ampiamente prescritte [63] e che possono avere un impatto notevole nell'alterazione dell'equilibrio esistente tra sistema endocrino umano e composizione del microbiota intestinale. Inoltre sarà fondamentale prevedere studi interventistici volti ad analizzare l'effetto sul microbiota intestinale di farmaci antipertensivi (diuretici, angiotensine, agenti bloccanti i canali del calcio) in quanto è stato riportato in modelli murini che la somministrazione di specifici probiotici possa avere un ruolo protettivo a livello cardiovascolare e ridurre l'ipertensione arteriosa [64].

Validazione funzionale tramite studi meccanicistici

Studi meccanicistici saranno necessari per determinare il legame esistente tra la disfunzione prodotta a livello di barriera intestinale e la disbiosi indotta dai farmaci a livello di alterazione tassonomica del microbiota intestinale, al fine di individuare biomarcatori specifici di tali alterazioni. Inoltre risulterà fondamentale definire gli effetti di queste alterazioni sullo stato di salute degli individui valutando ad esempio il rischio associato di sviluppare infezioni (*C. difficile*) o di colonizzazione da parte di microorganismi multi-resistenti. A tal fine sarà importante sviluppare modelli murini che permettano di studiare i cambiamenti indotti dai farmaci sul microbiota intestinale sia a livello tassonomico che funzionale, analizzando l'effetto dei farmaci tramite ad esempio trapianto di microbiota fecale da animali trattati con farmaci in animali *germ-free*. I risultati che deriveranno da questi studi renderanno possibile il disegno di terapie innovative e personalizzate che potranno in futuro direttamente modulare o revertire gli effetti negativi dei farmaci sul microbiota intestinale.

Bibliografia

- [1] Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature*. 2015; 528:262-266.
- [2] Imhann F, Bonder MJ, Vich Vila A, et al. Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. *Gut*. 2016; 65: 740-748.
- [3] Jackson MA, Goodrich JK, Maxan ME, et al. Proton pump inhibitors alter the composition of the gut microbiota. *Gut*. 2016; 65: 749-756.
- [4] Rogers MAM, Aronoff DM. The influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the gut microbiome. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22: 178.e1-178.e9.
- [5] Flowers SA, Evans SJ, Ward KM, et al. Interaction between Atypical Antipsychotics and the Gut Microbiome in a Bipolar Disease Cohort. *Pharmacotherapy*. 2017 Mar; 37: 261-267.
- [6] Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science*. 2016; 352: 560-564.
- [7] Centers for Disease Control and Prevention. National Ambulatory Medical Care Survey: 2013 State and National Summary Tables. https://www.cdc.gov/nchs/data/ahcd/namcs_summary/2013_namcs_web_tables.pdf. Accessed November 27, 2017.
- [8] Wang J, Jia H. Metagenome-wide association studies: fine-mining the microbiome. *Nat Rev Microbiol*. 2016; 14: 508-522.
- [9] Keeney KM, Yurist-Doutsch S, Arrieta M-C, Finlay BB. Effects of antibiotics on human microbiota and subsequent disease. *Annu Rev Microbiol*. 2014; 68: 217-235.
- [10] Langdon A, Crook N, Dantas G. The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation. *Genome Med*. 2016; 8: 39.
- [11] Montassier E, Gastinne T, Vangay P, et al. Chemotherapy-driven dysbiosis in the intestinal microbiome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015; 42: 515-528.
- [12] Touchefeu Y, Montassier E, Nieman K, et al. Systematic review: the role of the gut microbiota in chemotherapy- or radiation-induced gastrointestinal mucositis – current evidence and potential clinical applications. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014; 40: 409-421.
- [13] Maurice CF, Haiser HJ, Turnbaugh PJ. Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell*. 2013; 152: 39-50.
- [14] Centers for Disease Control and Prevention. Prescription drug use in the past 30 days, by sex, race and Hispanic origin, and age. <https://www.cdc.gov/nchs/data/abus/2016/079.pdf>. Accessed November 27, 2017.
- [15] Satoh K, Yoshino J, Akamatsu T, et al. Evidence-based clinical practice guidelines for peptic ulcer disease 2015. *J Gastroenterol*. 2016; 51: 177-194.
- [16] Moayyedi P, Talley NJ. Gastro-oesophageal reflux disease. *Lancet*. 2006; 367: 2086-2100.
- [17] Quintiles Institute. Medicines use and spending in the US. <http://www.imshealth.com/en/thought-leadership/quintilesinstitute/reports/medicines-use-and-spending-in-the-us-review-of-8-2016-outlook-to-2021>. Accessed September 5, 2017.
- [18] Heidelbaugh JJ, Goldberg KL, Inadomi JM. Overutilization of proton pump inhibitors: a review of cost-effectiveness and risk [corrected]. *Am J Gastroenterol*. 2009; 104 (Suppl. 2): S27-S32.
- [19] Heidelbaugh JJ, Kim AH, Chang R, Walker PC. Overutilization of proton-pump inhibitors: what the clinician needs to know. *Ther Adv Gastroenterol*. 2012; 5: 219-232.
- [20] Janarthanan S, Ditah I, Adler DG, Ehrinpreis MN. Clostridium difficile-associated diarrhea and proton pump inhibitor therapy: a metaanalysis. *Am J Gastroenterol*. 2012; 107: 1001-1010.

- [21] Kwok CS, Arthur AK, Anibueze CI, et al. Risk of *Clostridium difficile* infection with acid suppressing drugs and antibiotics: meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2012; 107: 1011-1019.
- [22] McDonald EG, Milligan J, Frenette C, Lee TC. Continuous proton pump inhibitor therapy and the associated risk of recurrent *Clostridium difficile* infection. *JAMA Intern Med*. 2015; 175: 784-791.
- [23] Bouwknegt M, van Pelt W, Kubbinga ME, et al. Potential association between the recent increase in campylobacteriosis incidence in the Netherlands and proton-pump inhibitor use – an ecological study. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 2014; 19: pii: 20873.
- [24] Leonard J, Marshall JK, Moayyedi P. Systematic review of the risk of enteric infection in patients taking acid suppression. *Am J Gastroenterol*. 2007; 102: 2047-2056; quiz 2057.
- [25] de Jager CPC, Wever PC, Gemen EFA, et al. Proton pump inhibitor therapy predisposes to community-acquired *Streptococcus pneumoniae pneumonia*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012; 36: 941-949.
- [26] Merli M, Lucidi C, Di Gregorio V, et al. The chronic use of betablockers and proton pump inhibitors may affect the rate of bacterial infections in cirrhosis. *Liver Int*. 2015; 35: 362-369.
- [27] Jackson MA, Goodrich JK, Maxam M-E, et al. Proton pump inhibitors alter the composition of the gut microbiota. *Gut*. 2016; 65: 749-756.
- [28] Zhernakova A, Kurilshikov A, Bonder MJ, et al. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science*. 2016; 352: 565-569.
- [29] Imhann F, Bonder MJ, Vich Vila A, et al. Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. *Gut*. 2016; 65: 740-748.
- [30] Bajaj JS, Cox LJ, Betrapally NS, et al. Systems biology analysis of omeprazole therapy in cirrhosis demonstrates significant shifts in gut microbiota composition and function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014; 307: G951-G957.
- [31] Seto CT, Jeraldo P, Orenstein R, Chia N, DiBaise JK. Prolonged use of a proton pump inhibitor reduces microbial diversity: implications for *Clostridium difficile* susceptibility. *Microbiome*. 2014; 2: 42.
- [32] Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012; 486: 207-214.
- [33] Freedberg DE, Toussaint NC, Chen SP, et al. Proton pump inhibitors alter specific taxa in the human gastrointestinal microbiome: a crossover trial. *Gastroenterology*. 2015; 149: e9.
- [34] Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2015: a patient-centered approach: update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2015; 38: 140-149.
- [35] Carpio GRA, Fonseca VA. Update on safety issues related to antihyperglycemic therapy. *Diabetes Spectr Publ Am Diabetes Assoc*. 2014; 27: 92-100.
- [36] Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature*. 2015; 528: 262-266.
- [37] de la Cuesta-Zuluaga J, Mueller NT, Corrales-Agudelo V, et al. Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading *Akkermansia muciniphila* and several short-chain fatty acid-producing microbiota in the gut. *Diabetes Care*. 2017; 40: 54-62.
- [38] Tigchelaar EF, Zhernakova A, Dekens JAM, et al. Cohort profile: LifeLines DEEP, a prospective, general population cohort study in the northern Netherlands: study design and baseline characteristics. *BMJ Open*. 2015; 5: e006772.
- [39] Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013; 498: 99-103.
- [40] Wu H, Esteve E, Tremaroli V, et al. Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. *Nat Med*. 2017; 23: 850-858.
- [41] Rainsford KD. Anti-inflammatory drugs in the 21st century. *Subcell Biochem*. 2007; 42: 3-27.
- [42] Meyer-Kirchraht J, Schröer K. Cyclooxygenase-2 inhibition and side effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the gastrointestinal tract. *Curr Med Chem*. 2000; 7: 1121-1129.
- [43] Vincent C, Miller MA, Edens TJ, et al. Bloom and bust: intestinal microbiota dynamics in response to hospital exposures and *Clostridium difficile* colonization or infection. *Microbiome*. 2016; 4: 12.
- [44] Bokulich NA, Battaglia T, Aleman JO, et al. Celecoxib does not alter intestinal microbiome in a longitudinal diet-controlled study. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. 2016; 22: 464-465.
- [45] Rogers MAM, Aronoff DM. The influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the gut microbiome. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22: 178.e1-9.
- [46] Crow JM. Biomedicine: move over, morphine. *Nature*. 2016; 535: S4- S6.
- [47] Meng J, Yu H, Ma J, et al. Morphine induces bacterial translocation in mice by compromising intestinal barrier function in a TLR-dependent manner. *PLoS ONE*. 2013; 8: e54040.
- [48] Brestoff JR, Artis D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. *Nat Immunol*. 2013; 14: 676-684.
- [49] Brenchley JM, Douek DC. Microbial translocation across the GI tract. *Annu Rev Immunol*. 2012; 30: 149-173.
- [50] Acharya C, Betrapally NS, Gillevet PM, et al. Chronic opioid use is associated with altered gut microbiota and predicts readmissions in patients with cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017; 45: 319-331.
- [51] Thompson PD, Panza G, Zaleski A, Taylor B. Statin-associated side effects. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67: 2395-2410.
- [52] Collins R, Reith C, Emberson J, et al. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy. *Lancet*. 2016; 388: 2532-2561.
- [53] Dunder Y, Greenhalgh J, Richardson M, Dwan K. Pharmacological treatment of acute agitation associated with psychotic and bipolar disorder: a systematic review and meta-analysis. *Hum Psychopharmacol*. 2016; 31: 268-285.
- [54] Uçok A, Gaebel W. Side effects of atypical antipsychotics: a brief overview. *World Psychiatry*. 2008; 7: 58-62.
- [55] Flowers SA, Evans SJ, Ward KM, et al. Interaction between atypical antipsychotics and the gut microbiome in a bipolar disease cohort. *Pharmacotherapy*. 2017; 37: 261-267.
- [56] Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature*. 2018 Mar 29; 555: 623-628.
- [57] Wallace JL, Syer S, Denou E, et al. Proton pump inhibitors exacerbate FANS-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis. *Gastroenterology*. 2011; 141: 1314-1322, 1322.e1-5.
- [58] Cinova J, De Palma G, Stepankova R, et al. Role of intestinal bacteria in gliadin-induced changes in intestinal mucosa: study in germfree rats. *PLoS One*. 2011; 6: e16169.
- [59] Zeng MY, Inohara N, Nuñez G. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal Immunol*. 2017; 10: 18-26.
- [60] Antharam VC, Li EC, Ishmael A, et al. Intestinal dysbiosis and depletion of butyrogenic bacteria in *Clostridium difficile* infection and nosocomial diarrhea. *J Clin Microbiol*. 2013; 51: 2884-2892.

- [61] Taur Y, Xavier JB, Lipuma L, et al. Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2012; 55: 905-914.
- [62] Peterfreund GL, Vandivier LE, Sinha R, et al. Succession in the gut microbiome following antibiotic and antibody therapies for *Clostridium difficile*. *PLoS ONE.* 2012; 7: e46966.
- [63] Kunc M, Gabrych A, Witkowski JM. Microbiome impact on metabolism and function of sex, thyroid, growth and parathyroid hormones. *Acta Biochim Pol.* 2016; 63: 189-201.
- [64] Gomez-Guzman M, Toral M, Romero M, et al. Antihypertensive effects of probiotics *Lactobacillus* strains in spontaneously hypertensive rats. *Mol Nutr Food Res.* 2015; 59: 2326-2336.
- [65] Freedberg DE, Lebowitz B, Abrams JA. The impact of proton pump inhibitors on the human gastrointestinal microbiome. *Clin Lab Med.* 2014; 34: 771-785.
- [66] Napolitano A, Miller S, Nicholls AW, et al. Novel gut-based pharmacology of metformin in patients with type 2 diabetes mellitus. *PLoS ONE.* 2014; 9: e100778.
- [67] Nolan JA, Skuse PH, Govindarajan K, et al. The influence of rosuvastatin upon the gastrointestinal microbiota and host gene expression profiles. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2017; 312: G488-G497. [ajpgi.00149.2016](https://doi.org/10.1152/ajpgi.00149.2016).
- [68] Davey KJ, O'Mahony SM, Schellekens H, et al. Gender-dependent consequences of chronic olanzapine in the rat: effects on body weight, inflammatory, metabolic and microbiota parameters. *Psychopharmacology.* 2012; 221: 155-169.
- [69] Morgan AP, Crowley JJ, Nonneman RJ, et al. The antipsychotic olanzapine interacts with the gut microbiome to cause weight gain in mouse. *PLoS One.* 2014; 9: e115225