**Progetto di ricerca**

**VALUTAZIONE DEL MICROBIOTA IN CAVALLI CON SINDROME COLICA**

Con il termine microbiota si intende la totalità di microrganismi che popolano un distretto del corpo, mentre il termine microbioma indica il materiale genetico corrispondente [158].

Gli equidi sono erbivori non ruminanti che presentano un ampio e complesso apparato gastroenterico, evolutosi per la fermentazione dell’alimento nel grosso intestino, in particolare a livello di cieco e grosso colon, dove batteri ad attività fibrinolitica degradano i carboidrati strutturali al fine di produrre energia per l’organismo. Oltrea alla funzione digestiva, il microbiota del grosso intestino prende parte alla regolazione del sistema immunitario ed alla protezione da agenti patogeni [10,69]. Le normali abitudini alimentari del cavallo in natura lo portano a pascolare per la maggior parte del tempo e di conseguenza la fibra contenuta nei foraggi è il nutriente principale, che provvede ad apportare l’energia necessaria e a mantenere un tratto gastrointestinale funzionale e in salute. In quei casi in cui c’è un aumento della richiesta energetica, come nei cavalli sportivi o in particolari momenti fisiologici (es. gravidanza e allattamento), una dieta di solo foraggio non è sufficiente. Bisogna dunque aggiungere dei concentrati, che contengono elevati livelli di amido, con conseguente disequilibrio del normale ambiente intestinale. I più comuni disordini legati a questa alterazione sono lo svilupparsi di disbiosi, problemi metabolici, ulcerazioni intestinali e laminiti. (Perricone et al 2022).

La disbiosi, intesa come alterazione della composizine del microbiota, è stata correlata a diverse cause, tra cui: foraggio di scarsa qualità, diete ricche in amidi, stress ed età [81,168], inoltre può essere una conseguenza dell’azione di specie entero-tossiche e entero-invasive che possono alterare la barriera intestinale, antagonizzare il microbiota intestinale e causare infezioni batteriche (Sorbara and Palmer 2018: Iacob and Iacob 2019). Anche trattamenti antibiotici utilizzati in corso d’infezioni intestinali possono contribuire a modificare il microbiota (Panda et al 2014: Iacob and Iacob 2019). Recentemente, la disbiosi è stata associata alla presenza di sindrome colica, dal momento che in cavalli affetti sono state osservate modificazioni alle abbondanze relative di alcuni gruppi di batteri notoriamente responsabili per il mantenimento della salute del tratto gastroenterico [15,135,149]. Infatti, sono stati notati in cavalli affetti da colica un aumento dell’abbondanza relativa del phylum Protobacteria e una riduzione di Firmicutes e Bacteroidetes, che rappresentano i phylum più abbondanti in cavalli sani, tuttavia una relazione causa-effetto non è ancora stata dimostrata [81].

Dal momento che in medicina umana è da tempo conosciuta la correlazione tra cambiamenti a carico del microbiota intestinale e la manifestazioe di diverse patologie [71,176,177,179], anche nel paziente equino sono stati condotti diversi studi riguardanti tale argomento, prendendo in considerazioni problematiche quali laminite, colite e grass sickness [30,82,99].

Una delle prime alterazioni causate dalla disbiosi consiste nella perdita dei commensali produttori di batteriocine e di Short Chain Fatty Acids (SCFAs) (Rea et al 2010: Iacob and Iacob 2019).

Dato che il tratto gastrointestinale e il suo microbioma sono fondamentali per lo stato di salute dell’animale, come ormai dimostrato in diversi studi, mantenere una corretta funzionalità di questo tratto è fondamentale per il cavallo e per le sue performance (Perricone et al 2022).

Somministrare mangimi di buona qualità e di facile digeribilità è fondamentale per sostenere la funzione digestiva e il microbiota, ma è altrettanto importante l’aggiunta di supplementi. Diversi di questi mangimi complementari con un effetto potenzialmente positivo sul tratto gastrointestinale, come probiotici e prebiotici, sono già presenti in commercio. Vengono utilizzati da diversi anni per incrementare l’efficienza digestiva, supportando l’azione dei batteri cellulosolitici sulla frazione fibrosa (Murray et al 2017, Jouany et al 2008, Salem et al 2016, Perricone et al 2022). Nell’ambito della nutrizione equina il lievito più utilizzato è il *Saccharomyces cerevisiae*, con l’intento di soddisfare i fabbisogni energetici e nutritivi, soprattutto in caso di una dieta ricca di amido o in caso di foraggi di scarsa qualità (Murray et al 2017, Jouany et al 2008, Perricone et al 2022).

Gli studi effettuati per valutare la digeribilitá e la popolazione intestinale e fecale, sia in vivo che in vitro, dopo somministrazione di supplementi a base di *S. cerevisiae* danno però risultati controversi (Perricone et al. 2022).

Il principale meccanismo tramite cui *S. cerevisiae* esplica la sua azione è quello di modulare la microflora intestinale e di agire come scavenger nei confronti dell’O2 (Newbold et al 1996). Da diversi anni a questo lievito viene attribuita la capacità di incrementare la digeribilità e l’utilizzazione della fibra (Furtado et al 2010), mentre studi più recenti hanno dimostrato che agisce stabilizzando la popolazione di batteri che metabolizzano il lattato, limitando la sua produzione e incrementando il suo utilizzo (Grimm et al 2020).

Nella review del 2022 di Perricone et al. viene messo in evidenza che i risultati ottenuti dai diversi studi sull’efficacia siano contradditori e molto variabili, nonostante appare chiaro che la somministrazione di *S. cerevisiae* insieme alla dieta possa portare in qualche modo ad effetti benefici per la salute intestinale. In alcuni casi questo lievito ad esempio migliora la digeribilità dei nutrienti o agisce da modulatore sui batteri fibrinolitici e aminolitici.

Altra molecola che recentemente ha ricevuto particolare attenzione per i suoi effetti benefici sull’omeostasi intestinale e il metabolismo energetico è l’acido butirrico. Grazie alla sua proprietà antinfiammatoria il butirrato migliora le funzioni della barriera intestinale e l’immunità mucosale (Wang et al 2018). Gli SFCAs, ovvero butirrato, acetato e propionato, sono acidi organici prodotti a livello intestinale dalle fermentazioni batteriche che avvengono soprattutto a carico dei carboidrati non digeriti, come la fibra e una parte dell’amido inutilizzato, e in piccola parte dalle proteine provenienti dalla dieta ed endogene (Canani et al 2011, Fan et al.2015). Questi vengono rapidamente assorbiti dalle cellule dell’epitelio intestinale e solamente il 5% viene escreto con le feci (Kasubuchi et al 2015). L’acido butirrico viene prodotto principalmente dal phylum Firmicutes e insieme agli altri SFCAs hanno mostrato le seguenti funzioni metaboliche:

* Effetto antinfiammatorio
* Effetto di regolazione del ph intestinale
* Azione trofica su colonociti e su altre specie di batteri
* Regolazione della risposta immunitaria
* Prevenzione della carcinogenesi grazie all’induzione dell’apoptosi
* Regolazione dell’asse intestino-cervello (Stachowska et al 2021).

Pochissimi studi sono stati effettuati sul cavallo per valutare l’effetto benefico dell’acido butirrico sulla funzionalità intestinale di questa specie.

Wambacq et al nel 2020 hanno svolto uno studio sugli effetti della somministrazione di acido butirrico sotto forma di butirrato di sodio incapsulato su cavalli sani per valutare i cambiamenti istologici a livello intestinale e eventuali variazioni dei parametri immunoistochimici, senza ottenere però dei dati significativi. Sarebbe però auspicabile e interessante valutare gli effetti di questa molecola su cavalli con disordini del grosso intestino per capire se in queste situazioni la somministrazione di acido butirrico possa determinare dei benefici.

La maggior parte degli studi in vivo sul microbiota intestinale presenti in letteratura ha analizzato campioni fecali, nonostante la maggioranza delle popolazioni batteriche risieda prevalentemente a livello di grosso intestino [68]. In uno studio recente, che ha analizzato campioni fecali e campioni prelevati dal grosso colon in sede intraoperatoria, è stato dimostrato come il microbiota delle feci non sia adeguatamente rappresentativo di una repentina alterazione a carico della popolazione del colon [134].

**Attività del borsista**

Gli scopi della ricerca e compiti del titolare della borsa sono:

* indagare il microbiota residente il grosso intestino di cavalli sottoposti a celiotomia esplorativa per sindrome colica, esaminare le differenze con quello fecale, e valutarne eventuali correlazioni con la sopravvivenza
* valutare l’influenza della somministrazione di *Microbiotal Horse* nel periodo post operatorio di cavalli operati per sindrome colica, sulla ricomposizione del normale microbiota intestinale. Il presente assegno favorirà la ricerca di cui al contratto di collaborazione scientifica con la ditta NBF Lanes