

LE SFIDE DELLE TECNOLOGIE DIGITALI PER LA SALUTE DEL FUTURO

CENTRO INTERDIPARTIMENTALE
PROSIT
PROMOZIONE DELLA SALUTE E INFORMATION TECHNOLOGY



Convegno ProSIT 2022

Microbioma del neonato: sfide e opportunità

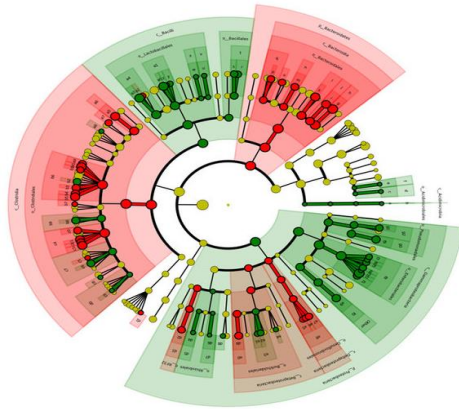
Daniele Campa, Roberto Marangoni

Dipartimento di Biologia, Università di Pisa

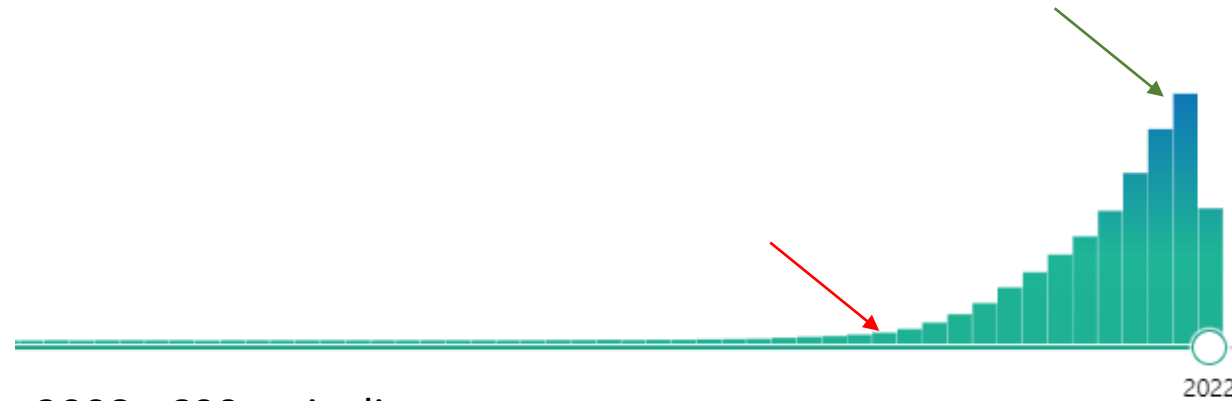
Pisa, 8 Luglio 2022

Polo Didattico S. Rossore 1938 – Via Risorgimento 23

Microbioma del neonato: sfide e opportunità



Lo studio della composizione microbica (o dei genomi che la compongono) e del suo impatto sulla salute umana sta catturando l'interesse di molti ricercatori



2008= 600 articoli

2021 =25000 articoli

Totale =120000 articoli

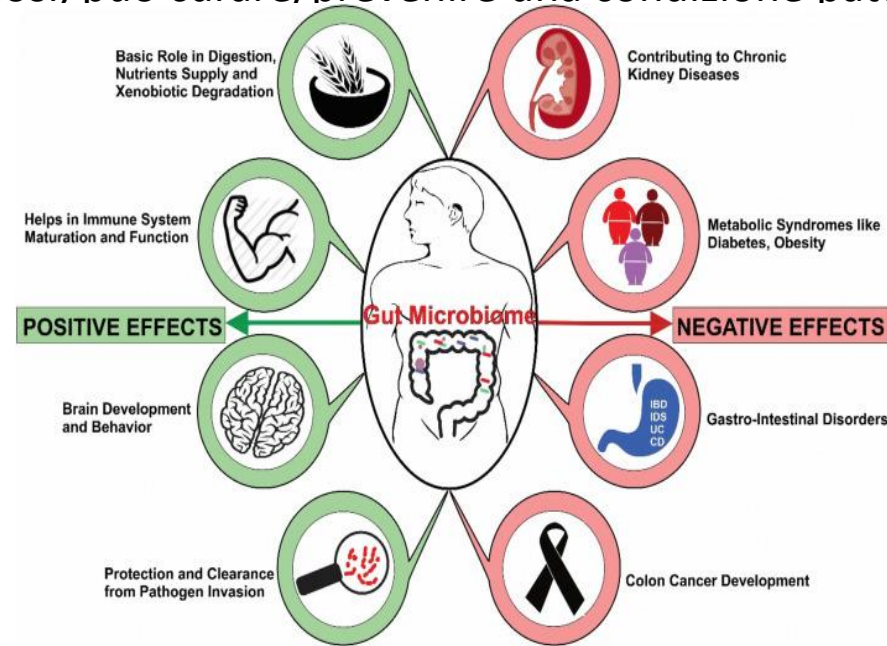
Microbioma del neonato: sfide e opportunità



La composizione del microbioma può influire sullo svilupparsi di una condizione patologica o la risposta ad un trattamento farmacologico?

La composizione del microbioma può essere sfruttata per migliorare una condizione patologica?

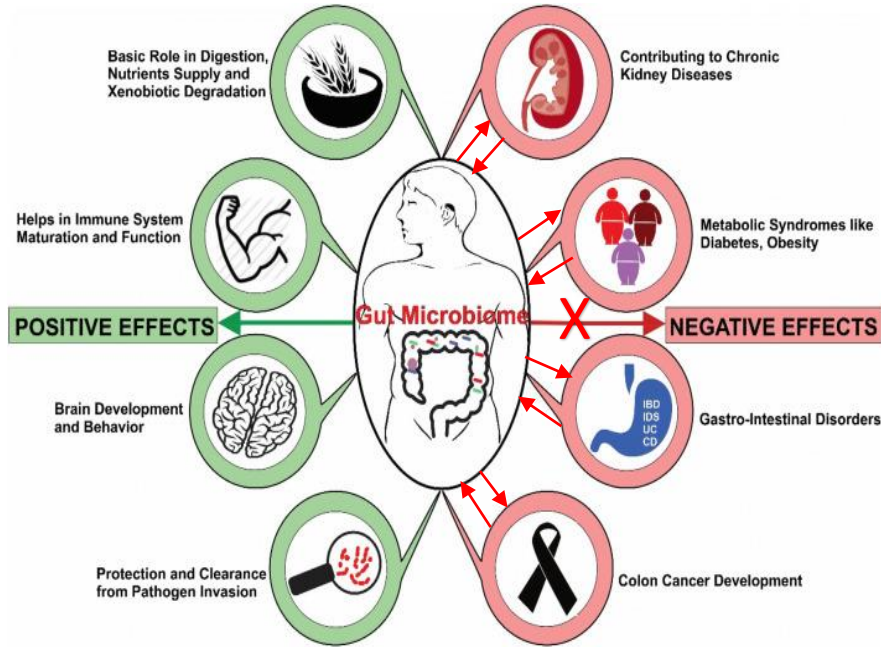
Ripristinare la corretta eubiosi, può curare/prevenire una condizione patologica?



La variabilità genetica dell'ospite può influire sulla composizione del microbioma ?



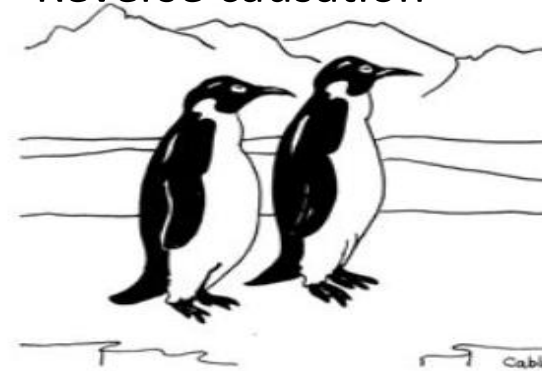
La composizione del microbioma può influire sullo svilupparsi di una condizione patologica?



La parte destra della figura può portare ad interpretazioni sbagliate

Molti studi trovano un associazione tra la composizione del microbioma intestinale e lo svilupparsi di malattie del tratto gastro enterico

Reverse causation



"Do you think all these film crews brought on global warming or did global warming bring on all these film crews?"

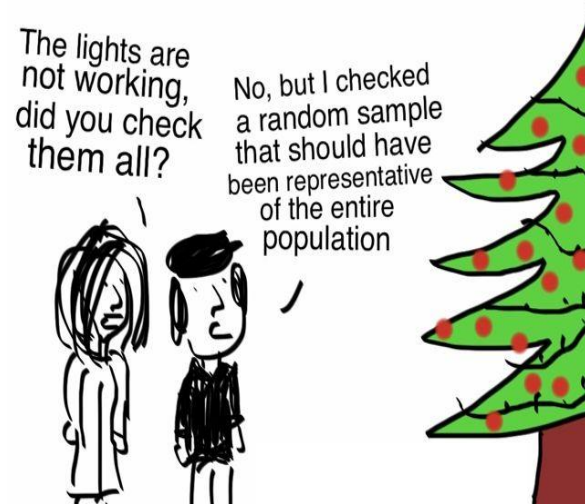
<https://www.slideserve.com/>

Dekaboruah et al., Arch Microbiol, 2020

La variabilità genetica dell'ospite può influire sulla composizione del microbioma ?



1) Ridotta numerosità campionaria



<https://freshspectrum.com/>

2) L'ambiente è molto più forte il microbiota è fluido



Genetica

Ambiente

Microbioma del neonato: sfide e opportunità

In che modo tutto questo ha a che fare con il titolo della presentazione?



Il meconio, la prima espulsione dei neonati presenta delle caratteristiche che lo rendono estremamente adatto per studiare il microbioma sia come variabile di esposizione che come variabile di outcome

Opportunità

La variabilità ambientale al quale è sottoposto è estremamente limitata, quindi:

- 1) Il reverse causation bias è praticamente inesistente, se si considerano neonati sani
- 2) L'effetto della variabilità genetica è meno mascherato dalla variabilità ambientale

Microbioma del neonato: sfide e opportunità



Sfida: Il meconio è un materiale complesso

Sfida: IL DNA presente è molto minore rispetto a quello che si potrebbe trovare nell'adulto, si pensava che la placenta fosse sterile

Sfida: Più facile che ci sia contaminazione

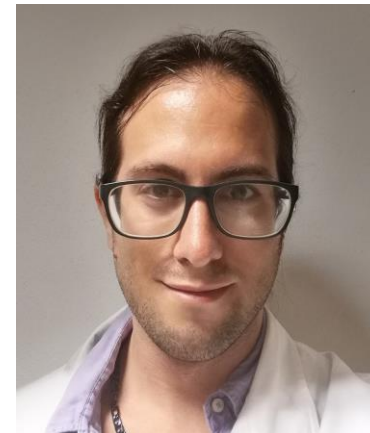
Sfida: difficile valutare l'effetto delle specie poco presenti (ne parlerà Roberto)



Ilaria Erbi



Cosmeri Rizzato



Riccardo Farinella

Microbioma del neonato: sfide e opportunità

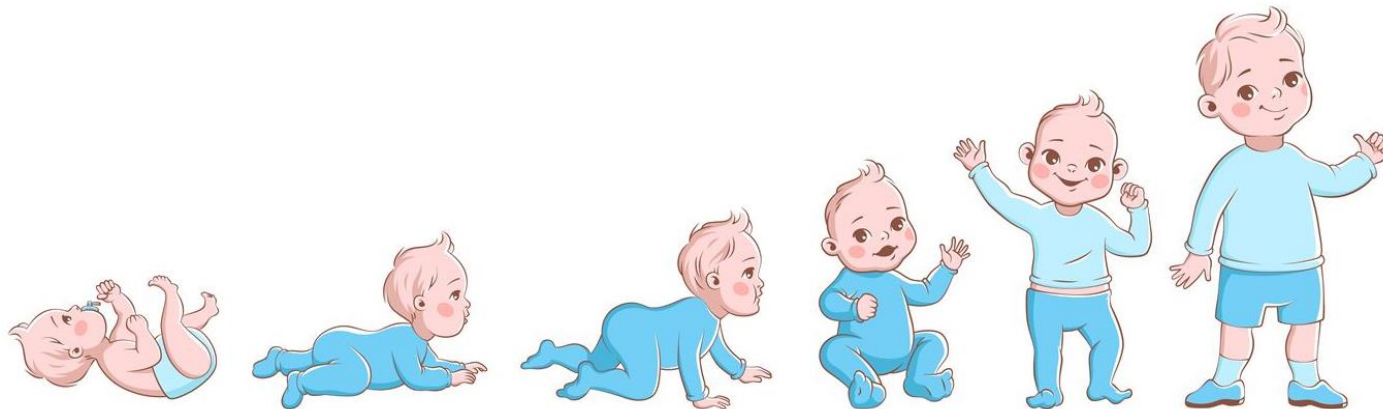


Stiamo analizzando, il microbioma intestinale dei neonati

Abbiamo raccolto, dal 2015 circa 2000 campioni, per i quali abbiamo sangue (cordone), meconio, informazioni cliniche riguardanti la madre ed il bambino

Vogliamo vedere quali fattori (genetici/clinici ambientali) abbiano un influenza sul microbiota neonatale

Vogliamo vedere se il genoma esteso abbia un effetto sullo sviluppo del neonato (follow up di 5 anni) e sulla risposta a terapie non farmacologiche alle quali sono sottoposti i neonati



Microbioma del neonato: sfide e opportunità



Abbiamo valutato, per adesso i classici indici di variabilità alpha e beta

Il tipo di parto non ha alcun effetto sul microbioma (questo ha senso considerando nove mesi contro 2-3 ore)

Abbiamo osservato che il gruppo sanguigno Rh ha un effetto sugli indici di variabilità



Genome-wide association study in 8,956 German individuals identifies influence of ABO histo-blood groups on gut microbiome

Malte Christoph Rühlemann¹, Britt Marie Hermes^{2,3,4}, Corinna Bang¹, Shauni Doms^{2,3}, Lucas Moitinho-Silva^{1,5}, Louise Bruun Thingholm¹, Fabian Frost⁶, Frauke Degenhardt¹, Michael Wittig¹, Jan Kässens¹, Frank Ulrich Weiss⁶, Annette Peters^{7,8}, Klaus Neuhaus⁹, Uwe Völker¹⁰, Henry Völzke¹⁰, Georg Homuth¹⁰, Stefan Weiss^{6,10}, Harald Grallert⁷, Matthias Laudes¹¹, Wolfgang Lieb¹², Dirk Haller^{9,13}, Markus M. Lerch⁶, John F. Baines^{2,3} and Andre Franke¹✉

Grazie a tutti!



LE SFIDE DELLE TECNOLOGIE DIGITALI PER LA SALUTE DEL FUTURO

CENTRO INTERDIPARTIMENTALE
PROSIT
PROMOZIONE DELLA SALUTE E INFORMATION TECHNOLOGY



Convegno ProSIT 2022

Microbioma del neonato:
sfide e opportunità

AUTORI:

Daniele Campa¹
Roberto Marangoni^{1,2}

Affiliazioni:

1: Dipartimento di Biologia
Università di Pisa
2: C.I.S.S.C. - UniPI

Pisa, 8 Luglio 2022
Polo Didattico S. Rossore
1938 – Via Risorgimento 23

Qualunque sia l'approccio usato per risolvere il metagenoma (ASV, NGS, ecc.) il dato finale è rappresentato da una **tabella di abbondanza**:

Campioni di differenti microbiomi

	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG	
	1	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	2	20	21	22	23	24	25	3	4	5	6	7	8	9	Confidence	Taxon						
af	1522	1133	653	1355	282	678	716	330	520	1269	998	914	170	731	1643	1240	402	871	483	1297	375	146	2001	607	1477	1,00	d_Bacteria; p_Bacteroidota; c_Bacteroidia; o_Bacteroidales; f_Prevotellaceae; g_Prevotellaceae						
bc	1000	100	34	168	454	368	459	311	136	178	941	840	154	630	1447	15	0	9	339	166	150	86	907	62	72	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Bacilli; o_Lactobacillales; f_Lactobacillaceae; g_Lactobacillus						
ca	939	250	153	426	154	175	279	186	200	171	771	559	43	329	290	129	52	53	323	963	173	188	632	93	1206	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Bacilli; o_Lactobacillales; f_Lactobacillaceae; g_Lactobacillus						
de	775	107	56	179	321	481	314	327	250	315	1281	609	115	377	332	131	0	46	203	1114	166	78	307	236	569	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Bacilli; o_Lactobacillales; f_Lactobacillaceae; g_Lactobacillus						
ef	314	575	278	560	19	193	58	75	149	15	410	560	49	464	411	606	162	453	162	449	54	76	347	100	68	0,88	d_Bacteria; p_Bacteroidota; c_Bacteroidia; o_Bacteroidales; f_Rikenellaceae; g_Rikenellaceae						
fb	404	64	48	93	205	229	166	194	144	246	667	526	40	216	232	91	23	33	117	714	112	60	227	147	440	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Bacilli; o_Lactobacillales; f_Lactobacillaceae; g_Lactobacillus						
gd	0	1406	377	249	0	0	0	94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	76	0	702	0	1784	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Clostridia; o_Clostridiales; f_Clostridiaceae; g_Clostridium						
gf	621	254	105	134	23	322	230	150	163	405	17	190	132	549	59	262	35	58	161	162	55	69	269	212	47	0,79	d_Bacteria; p_Bacteroidota; c_Bacteroidia; o_Bacteroidales; f_Prevotellaceae; g_Prevotellaceae						
bc	444	572	189	624	112	215	225	94	59	138	87	343	24	75	98	65	32	23	178	482	70	94	182	178	71	1,00	d_Bacteria; p_Bacteroidota; c_Bacteroidia; o_Bacteroidales; f_Muribaculaceae; g_Muribaculaceae						
de	398	101	24	179	48	78	167	103	94	89	404	331	48	135	210	74	0	62	157	538	104	77	317	83	168	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Bacilli; o_Lactobacillales; f_Lactobacillaceae; g_Lactobacillus						
ef	148	327	150	323	20	114	58	41	85	5	215	357	29	257	240	315	105	239	121	267	28	41	176	75	54	0,84	d_Bacteria; p_Bacteroidota; c_Bacteroidia; o_Bacteroidales; f_Rikenellaceae; g_Rikenellaceae						
6a	79	136	44	177	265	103	137	66	81	141	238	25	33	17	335	50	24	26	20	433	28	27	136	44	657	0,99	d_Bacteria; p_Bacteroidota; c_Bacteroidia; o_Bacteroidales; f_Bacteroidaceae; g_Bacteroidaceae						
4	95	78	0	174	0	276	229	70	54	41	66	46	80	279	73	568	228	305	117	78	38	51	33	71	75	1,00	d_Bacteria; p_Bacteroidota; c_Bacteroidia; o_Bacteroidales; f_Prevotellaceae; g_Prevotellaceae						
ca	0	0	0	0	0	0	0	1116	0	6	150	0	8	23	123	1027	318	281	0	0	0	0	0	0	0	0,98	d_Bacteria; p_Proteobacteria; c_Gammaproteobacteria; o_Enterobacteriales; f_Enterobacteriaceae; g_Enterobacteriaceae						
5	88	54	0	0	0	0	0	0	0	0	10	1475	0	34	510	0	0	0	366	2	193	145	154	0	0	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Bacilli; o_Erysipelotrichales; f_Erysipelotrichaceae; g_Erysipelotrichaceae						
2	401	128	20	27	69	191	0	71	25	0	56	16	16	108	104	0	0	0	25	55	105	45	386	60	1049	0,93	d_Bacteria; p_Bacteroidota; c_Bacteroidia; o_Bacteroidales; f_Muribaculaceae; g_Muribaculaceae						
3	118	0	0	0	38	0	0	0	110	111	796	263	0	215	118	0	0	0	87	642	90	25	102	54	102	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Bacilli; o_Lactobacillales; f_Lactobacillaceae; g_Lactobacillus						
2	379	31	0	17	46	23	27	15	83	13	255	121	43	157	217	110	25	39	143	325	92	136	83	144	100	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Bacilli; o_Lactobacillales; f_Lactobacillaceae; g_Lactobacillus						
3a	24	19	11	62	62	167	35	26	45	55	226	0	4	0	38	141	26	103	7	1306	0	5	25	190	8	1,00	d_Bacteria; p_Bacteroidota; c_Bacteroidia; o_Bacteroidales; f_Marinifilaceae; g_Marinifilaceae						
aa	41	97	46	168	93	58	19	46	58	485	319	52	48	57	91	107	41	17	0	108	81	160	264	59	68	1,00	d_Bacteria; p_Desulfobacterota; c_Desulfovibrionia; o_Desulfovibrionales; f_Desulfovibrionaceae; g_Desulfovibrionaceae						
na	0	390	116	250	0	0	0	63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26	0	204	0	1471	1,00	d_Bacteria; p_Firmicutes; c_Clostridia; o_Clostridiales; f_Clostridiaceae; g_Clostridium						

Abbondanze

Risoluzioni tassonomiche



Come si valuta se due microbiomi hanno composizioni significativamente diverse?

Ci sono moltissimi indici/test statistici:

- presenza/assenza delle specie indipendentemente dalle quantità (Jaccard e simili, non-lineare ma poco informativo)
- Differenze nelle abbondanze (lineare) o nelle proporzioni delle abbondanze (praticamente lineare)
- Differenze nelle abbondanze pesate per la vicinanza filogenetica dei gruppi coinvolti (come il precedente)
- ANOVA, PCA, PCoA, e tanti altri metodi di ordinamento. Molti di questi presuppongono che le distribuzioni delle abbondanze siano gaussiane, ma praticamente tutti suppongono che le eventuali interazioni tra le variabili siano lineari.

Operatore O lineare se:

1. $O(kx) = k O(x)$ (con
2. $O(x+y) = O(x) + O(y)$

Qual è l'ipotesi implicita nell'assumere un modello lineare? Che se un batterio presenta abbondanza doppia nel microbioma 1 rispetto al microbioma 2, allora il suo ruolo in 1 abbia un impatto doppio.

Questa analisi, come nei profili di espressione genica e in tante altre situazioni analoghe, porta ad assegnare importanza alle componenti quantitativamente maggiori

Ma è sempre vero?

LE SFIDE DELLE TECNOLOGIE DIGITALI PER LA SALUTE DEL FUTURO

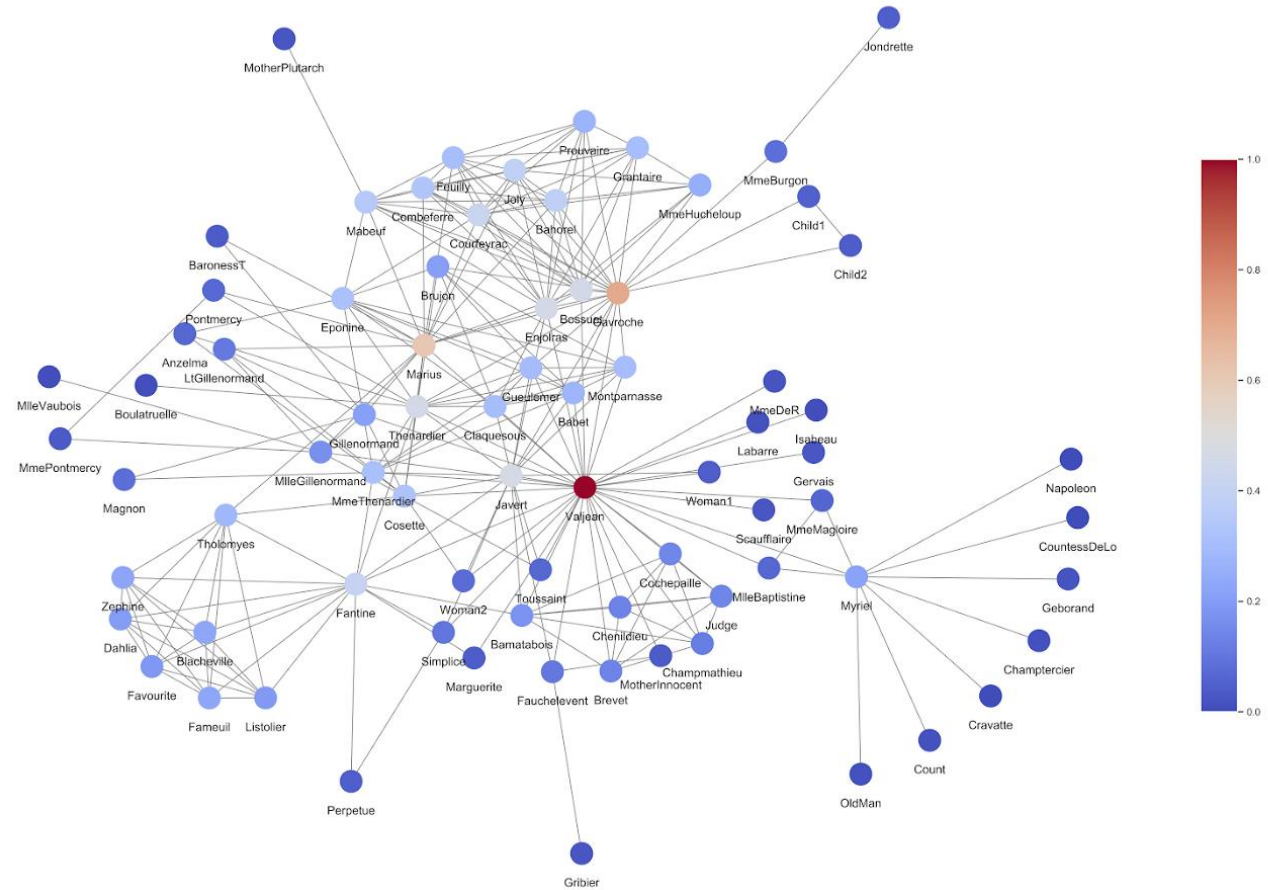
NO!

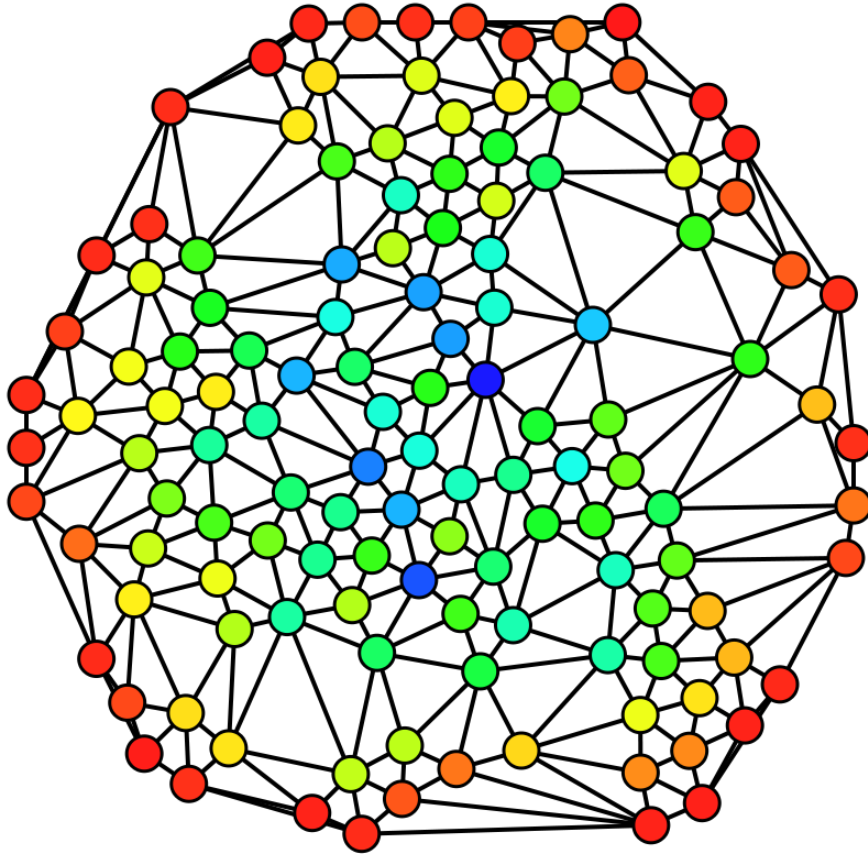
Il microbioma può essere visto, allo stesso tempo, come:

- un **ecosistema** (con commensali, competitori, prede, predatori, ecc)
- una **rete metabolica estesa**, dove microbi e organismo ospite mettono in rete i rispettivi input e output metabolici

L'importanza del singolo microrganismo è data da:

- Il suo grado di connessione in questa rete (**connectivity**)
- La capacità di connettere cluster diversi all'interno della rete (**betweenness**)





Se un microorganismo/metabolita fa comunicare due aree diverse della rete (= ha una alta betweenness) può far percorrere pathways metabolici che in sua assenza sarebbero molto improbabili/poco produttivi

Quindi, cosa si dovrebbe fare?

- Dai dati di identificazione delle specie nel microbioma, tracciare la mappa delle relazioni tra microrganismi (o la mappa metabolica estesa)
- Pesare il grado di connettività e di betweenness degli elementi le cui abbondanze sono differenti
- In prima analisi: usare tali pesi per ponderare il mero effetto quantitativo

LE SFIDE DELLE TECNOLOGIE DIGITALI PER LA SALUTE DEL FUTURO



Tutto questo prossimamente (se si trovano i fondi...) sugli schermi del:
Centro Interdipartimentale per lo Studio dei Sistemi Complessi – UniPI

Grazie per l'attenzione!