

PROBIOTICI: “ALIMENTI FUNZIONALI” CHE AGISCONO EFFETTIVAMENTE SULLA FUNZIONALITÀ INTESTINALE E L’IMMUNITÀ NATURALE

ALBERTO BOZZANI

Area Gastroenterologica SIMG

Pane, formaggi, frutta, latte e cereali fermentati (vino, aceto, sidro, birra), alimenti alla base dell'alimentazione tradizionale in tutti i paesi del mondo, contengono fermenti vivi da sempre connessi alla salute grazie a elementi nutrizionali da essi derivati, come alcune vitamine, e per le proprietà organolettiche che contraddistinguono gli alimenti tradizionali.

Anche ai nostri giorni, nonostante la nostra civiltà “sterilizzata” dove gli alimenti sono in gran parte privati di componenti “vive”, i “probiotici e gli alimenti funzionali” sono i protagonisti di un vero e proprio boom soprattutto nell’ambito della ricerca scientifica (Tab. I).

I probiotici interagiscono con il sistema gastrointestinale, che con i suoi 200 m² di superficie totale (150 volte la superficie della pelle, paragonabile alla grandezza di un campo da tennis) rappresenta un’enorme area di interattività tra l’interno e l’esterno dell’organismo umano.

La sede specifica di tale interazione è rappresentata dal GALT (*Gut Associated Lymphoid Tissue* [tessuto linfoide associato all’intestino]), costituito dalle placche di Peyer, dall’appendice e dai linfonodi intestinali. Il GALT contiene tra il 40 e il 60% delle cellule immuni effettrici del sistema immunitario umano; basti pensare che la sola quantità delle IgA intestinali supera quella delle IgG di

tutto l’organismo. L’intestino, inoltre, è sede di funzionalità fondamentali per la salute umana grazie al bilanciamento dell’interazione tra gli antigeni alimentari, antigeni batterici e l’intero organismo: tra queste la regolazione della tolleranza (il sistema immunitario non reagisce a tutto ciò che non è riconosciuto come “self”, sicuro) e l’azione di contrasto nei confronti della traslocazione (meccanismo per cui batteri endoluminali invadono e colonizzano linfonodi intestinali e raggiungono quindi per via sistemica altri organi come la vescica, il fegato, il cuore, ecc.).

È noto come disfunzioni a questo livello possano determinare una serie di patologie gastrointestinali come alterazioni del transito, stipsi o diarrea, meteorismo e flogosi mucosa, e/o sistemiche come le alterazioni dell’immunità sia in senso autoimmune, sia come una diminuita difesa verso le infezioni causate da agenti esogeni. I sintomi di queste disfunzioni possono determinare una rilevante e prolungata diminuzione della qualità della vita.

Studi su soggetti umani hanno dimostrato che lo sviluppo di malattie infiammatorie intestinali (es. allergie alimentari, flogosi per cause autoimmuni) può dipendere dalla microflora intestinale e da un’alterata risposta immunitaria alle loro strutture antigeniche.

La flora batterica intestinale, un tempo chiamata micro-

Tabella I
Effetti provati dei probiotici e di alcuni altri alimenti funzionali presenti sul mercato.

ALIMENTO FUNZIONALE	COMPONENTE ATTIVA	EFFETTO SULLA SALUTE
Latticini fermentati	Ceppi probiotici	Equilibrio del microbiota, azione sulla motilità intestinale e sull’immunità locale e sistemica
Latti fermentati con stanoli aggiunti	Stanoli vegetali	Riducono i livelli di colesterolo, diminuiscono il rischio cardiovascolare
Pesce azzurro e alimenti con aggiunta di oli di pesce	Acidi grassi omega-3	Riducono il rischio cardiovascolare
Prodotti a base di succo di mirtillo	Antocianine	Riducono il rischio di infezioni delle vie urinarie
Prodotti a base di soia integrale	Proteine della soia	Se consumate con cereali al posto delle proteine animali riducono i livelli di colesterolo e il rischio cardiovascolare
Psillio, metilcellulosa	Fibra solubile	Riduce i livelli di colesterolo e migliora il transito intestinale
Vegetali cruciferi	Iso-tiocianati e indoli	Riducono il rischio di alcuni tumori

flora, viene oggi definita scientificamente “microbiota”. Quasi inesistente nello stomaco in condizioni fisiologiche (per l’estrema acidità dei succhi gastrici e per l’intensità dei movimenti peristaltici), è presente in quantità minima nei tratti prossimali del piccolo intestino (concentrazioni tra 10^2 e 10^4 di stafilococchi, streptococchi, lattobacilli e coliformi aerobi), è molto più diffusa nei tratti distali dell’ileo (tra 10^2 e 10^9 di stafilococchi, streptococchi, lattobacilli, coliformi, ma anche e soprattutto bacteroidi, bifidobatteri anaerobi e, solo in minima parte, clostridi), fino ad arrivare al colon, dove tutte queste specie sono invece largamente presenti con una forte prevalenza di batteri anaerobi che possono arrivare fino a una concentrazione di 10^{12} per ciascun genere.

A partire dall’intuizione originale del Premio Nobel Ilya Metchnikoff (ricercatore dell’Istituto Pasteur di Parigi) all’inizio del secolo scorso, passando attraverso gli studi di Minoru Shirota (ricercatore dell’Università di Kyoto) negli anni ’30, fino alle scoperte degli ultimi anni, favorite dalle innovazioni tecnologiche e dalla ricerca scientifica, si è compreso e si è iniziato a dimostrare che è possibile intervenire nel delicato equilibrio metabolico e immunologico del “microbiota” attraverso l’azione di ceppi batterici selezionati, in particolare di alcuni ceppi di lattobacilli e di bifidobatteri, con specifiche proprietà.

Tali ceppi possono essere definiti “probiotici” se, come menzionato nel precedente numero della rivista dal collega Ubaldi, secondo una recente definizione della *Food and Agriculture Organization/World Health Organization* (FAO/WHO) e ripresa dal nostro Ministero della Salute, possiedono una documentazione completa per quanto riguarda la corretta identificazione del ceppo batterico, la dose effettiva, la sicurezza e la valutazione dell’efficacia.

In questo settore si sta sviluppando una nuova scienza, che qualcuno chiama “nutriceutica”, attraverso la quale si studiano tali substrati, somministrati con gli alimenti, applicando regole analoghe a quelle della ricerca farmacologica, per distinguere gli effetti reali e dimostrabili da quelli proclamati dal marketing (*health claims*), spesso presentati in maniera vistosa e fuorviante su molte etichette di prodotti “salutistici”.

Gli studi sui ceppi batterici “probiotici”, portati a termine negli ultimi anni con metodologie e rigore scientifico sono ormai numerosi; è stato fatto pertanto un salto di qualità importante, con l’abbandono di un approccio approssimativo ed empirico, tipico del passato, per intraprendere la strada dei *clinical trials*, come indicato dalle organizzazioni internazionali (FAO e WHO).

Dopo un periodo di scetticismo, stimolati dalla *review* di Elmer su *JAMA* a metà degli anni ’90 e da altri articoli di metanalisi sull’effetto di ceppi batterici probiotici recentemente comparsi sulle riviste scientifiche più autorevoli, numerosi gruppi di ricerca mondiali si sono cimentati nella conduzione di trial sull’argomento.

Camilleri sottolinea che dai dati della letteratura emerge che i probiotici sono utili nella prevenzione e nel trattamento della diarrea acuta virale o secondaria ad antibiotici,

negli adulti e nei bambini, e nella pouchite (Camilleri, 2006). Studi preliminari dimostrano una potenziale utilità nella cura di atopie, enteriti attiniche, vaginiti ricorrenti, colite ulcerosa e colon irritabile (Tab. II).

Una metanalisi condotta per l’Istituto *Cochrane* ha raccolto i risultati di 23 studi controllati, randomizzati, realizzati in diversi paesi su un totale di 352 adulti e 1441 bambini con diarrea di origine infettiva. Il trattamento con vari probiotici (somministrati in un’ampia gamma di dosaggi) si è dimostrata in grado di abbreviare la durata media della diarrea di 1-3 giorni rispetto al placebo o a nessun trattamento (Allen et al., 2004).

La sicurezza dei ceppi probiotici è stata chiaramente accertata, ed è stato inoltre provato l’effetto di competizione con altri batteri, l’inibizione della traslocazione batterica nei linfonodi mesenterici, la stimolazione delle IgA secretorie e della risposta immunitaria sistemica, la digestione quasi completa del lattosio e la stimolazione della lattasi naturale, dimostrando quindi una tollerabilità rilevante. Inoltre l’azione di stimolo delle cellule NK (*Natural Killer*) può contrastare l’ipersensibilità ad antigeni alimentari a livello della mucosa intestinale.

Con il progredire delle ricerche e delle metodologie di indagine, risulta sempre più evidente come i singoli ceppi probiotici abbiano proprietà differenti e interagiscano quindi con l’organismo umano in modo diverso. Sicuramente, ogni ceppo è in grado di interagire con il microbiota e con le cellule intestinali, innescando molteplici effetti sui numerosi processi che avvengono nell’intestino (digestione, assorbimento dei nutrienti, protezione, attivazione del sistema immunitario).

Tra i ceppi con effetti benefici dimostrati ricordiamo *Lactobacillus casei* Shirota, *Lactobacillus rhamnosus* GG e il mix di *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Streptococcus salivarius* (VSL#3).

Il ceppo *Lactobacillus casei* Shirota (LcS) (Fig. 1) è uno dei ceppi probiotici più studiati a partire dagli anni ’30, ovvero da quando è stato isolato. La sicurezza di questo

Tabella II
Patologie gastrointestinali sulle quali è stato studiato un effetto potenzialmente benefico dei probiotici.

- Gastroenterite virale acuta
- Diarrea da antibiotici
- Sindrome dell’intestino irritabile
- Stipsi funzionale
- Meteorismo addominale cronico
- Intolleranze alimentari
- Rettocolite ulcerosa
- Morbo di Crohn
- Pouchite

Flash sulle recenti acquisizioni sperimentali

I probiotici contribuiscono a equilibrare la microflora e a mantenere in salute funzionale l'intestino perché, attraverso l'abbassamento del pH, la competizione per la colonizzazione della mucosa e dei nutrienti consentono di creare un ambiente ostile per lo sviluppo dei batteri dannosi e patogeni che possono indurre la formazione di infezioni, se lasciati liberi di invadere i tessuti.

In uno studio condotto nel 2001 con conigli *germ free* (completamente privi di batteri) è stato evidenziato come l'assunzione quotidiana di *LcS* (dalla nascita degli animali) contribuisca ad attivare la risposta umorale del sistema immunitario contro le infezioni acute determinate da *Escherichia coli* O157:H7. In particolare, è stato osservato un aumento degli anticorpi specifici per le cellule di *E. coli* e di quelli specifici per le due tossine STX prodotte da questo patogeno. Inoltre, gli animali trattati preventivamente con il latte fermentato contenente *LcS* hanno mostrato un danno ridotto della mucosa intestinale di tenue, cieco, colon a seguito dell'infezione (Ogawa et al., 2001).

Un altro studio ha dimostrato come la somministrazione di *LcS* nei topi può inibire gli effetti di un'infezione cronica causata da *E. coli* HU-1 nel tratto urinario. L'infezione è stata causata prima dell'assunzione del probiotico per la durata di 3 settimane: è interessante notare come anche una sola somministrazione del probiotico *LcS* (10^8 cellule) abbia contribuito a diminuire drammaticamente la crescita di *E. coli* e la risposta infiammatoria nel tratto urinario (Asahara et al., 2001).

Yasui et al. (2004) hanno osservato che l'assunzione per via nasale di *LcS* in topi di laboratorio può diminuire la suscettibilità alle infezioni causate dal virus dell'influenza. In particolare, gli Autori suggeriscono che *LcS* agisce probabilmente stimolando il sistema immunitario immaturo (tra cui le cellule NK e interleukina 12), proteggendo quindi questi animali dalle infezioni respiratorie.

Studi *in vitro* e *in vivo* hanno dimostrato l'inibizione di *Helicobacter pylori* da parte di *LcS* (Bosschaert et al., 1999; Cats et al., 2003; Sgouras et al., 2004): a 14 soggetti *H. pylori* positivi per alcune settimane sono state somministrate tre bottigliette (65 ml ogni bottiglietta) al giorno di un latte fermentato contenente *LcS*; questi volontari sono stati poi sottoposti al test *H. pylori* nel respiro.

In questo studio è stato osservato che il batterio *H. pylori* è stato inibito nel 64% dei soggetti trattati con Yakult, rispetto al 33% del gruppo di controllo (6 soggetti non trattati [Cats et al., 2003]).

Stimolazione immunità naturale

È risaputo come fattori quali fumo e stress possano incidere negativamente sul sistema immunitario, mentre un'attività fisica regolare, un'alimentazione bilanciata e, in generale, uno stile di vita sano, possano indurre un aumento di attività delle cellule *Natural Killer* (NK), componenti importanti del sistema di difesa naturale in quanto giocano un ruolo cruciale nell'inibire lo sviluppo delle infezioni e di alcuni tumori.

Numerosi studi, *in vitro* e *in vivo*, su modello animale ma anche sugli uomini, evidenziano la capacità di *LcS* di modulare alcuni componenti del sistema immunitario, in particolare delle cellule NK. I meccanismi alla base di questa stimolazione non sono ancora chiari. Di seguito alcuni studi clinici a supporto di questo risultato.

Un recente studio clinico ha evidenziato la relazione tra l'assunzione quotidiana di un latte fermentato contenente il ceppo probiotico *LcS* e la stimolazione del sistema immunitario.

Sono stati studiati due gruppi di soggetti (10 persone di 30-45 anni e 10 persone di 55-75) che per tre settimane hanno inserito nella loro dieta quotidiana un latte fermentato contenente il ceppo probiotico considerato. Come controllo queste persone hanno poi assunto per tre settimane un latte non fermentato privo del probiotico (placebo).

Nelle persone più giovani, dai 30 ai 45 anni, è stato osservato un considerevole aumento nell'attività delle cellule NK durante l'assunzione del probiotico già dopo una settimana. Questa attività è rimasta elevata anche dopo 3 settimane dalla sospensione dello studio, mentre dopo due mesi l'attività citotossica delle cellule NK è ritornata al livello iniziale. Questo risultato è stato ancora più evidente nei soggetti con bassi livelli di partenza di cellule NK (Takeda & Okumura, 2007).

Nel secondo gruppo, di età compresa tra i 55 e i 75 anni, è stato osservato che l'assunzione quotidiana del probiotico *LcS* può contribuire a mantenere l'attività citotossica delle cellule NK, che con l'avanzamento dell'età tende naturalmente a diminuire, mentre si riduce considerevolmente quando queste persone assumono il latte non fermentato, privo di probiotico.

Gli Autori dello studio hanno quindi concluso che la quotidiana assunzione del ceppo probiotico *LcS* può contribuire a stimolare il sistema immunitario e, in particolare, a indurre la produzione di interleukina 12 e aumentare l'attività delle cellule NK, aiutando così l'organismo a mantenersi in salute (Takeda et al., 2006; Takeda & Okumura, 2007).

Questi risultati erano stati ottenuti anche precedentemente in uno studio in doppio-cieco, controllato verso placebo, in cui erano stati inclusi, in due esperimenti successivi, rispettivamente 38 e 61 adulti (20-60 anni) fumatori. Anche in questo caso l'assunzione per tre settimane di latte fermentato contenente *LcS* ha contribuito ad aumentare l'attività delle cellule NK, ridotta notevolmente a causa del fumo (Matsumoto et al., 2006).

Il meccanismo non è ancora del tutto chiaro e non è da escludere la possibile stimolazione di altri elementi del sistema immunitario, perciò altre ricerche saranno svolte in futuro per aggiungere maggiore chiarezza a questi aspetti.



Figura 1
Immagine al microscopio elettronico di *Lactobacillus casei* Shirota (concessione di Yakult Honsha).

ceppo è stata testata in passato e anche in studi recenti (Srinivasan et al., 2006). Numerosi studi scientifici condotti su volontari hanno osservato come il consumo quotidiano di un latte fermentato contenente questo ceppo probiotico possa contribuire al bilanciamento della microflora intestinale, alla prevenzione dei disturbi intestinali, alla diminuzione di enzimi fecali correlati alla produzione di composti tossici, all'aumento dell'attività citotossica degli anticorpi. Inoltre, LcS agisce positivamente sul transito intestinale in caso di stipsi. Studi condotti su animali e sugli uomini possono contribuire a comprendere gli effetti benefici di questo ceppo probiotico a livello immunitario quali meccanismi vengono attivati, a livello cellulare nell'interazione tra ceppo probiotico e il GALT (v. *Flash sulle recenti acquisizioni sperimentali ...*, p. 44). In conclusione, numerosi studi scientifici hanno dimostrato alcuni effetti benefici dei probiotici; ciononostante, è necessario continuare a stimolare la ricerca per ottenere maggiori evidenze e spiegazioni sui meccanismi che sottendono l'attività dei probiotici e per esplorare altri campi di applicazione.

Le potenzialità terapeutiche non sono solo specie-specifiche, ma addirittura ceppo-specifiche, e quanto rilevato per un determinato probiotico non può essere esteso ad altri. La possibilità di associare, nell'alimentazione quotidiana, vari "alimenti funzionali attivi" ci aiuterebbe a mantenere la salute e a prevenire alcune patologie intestinali, con il risultato auspicabile di diminuire il numero di farmaci da somministrare.

Le aziende alimentari rispondono sempre di più alle esigenze dei consumatori, più attenti rispetto al passato all'alimentazione e alla salute; tuttavia, in futuro ciò che farà la differenza tra un "alimento probiotico" e l'altro saranno un'approfondita ricerca scientifica in grado di chiarire le potenzialità dei diversi prodotti probiotici e

una corretta informazione basata su dati scientifici certi e non solo sulla logica del marketing.

Bibliografia di riferimento

Adams MR, Marteau P. *On the safety of lactic acid bacteria from food*. Int J Food Microbiol 1995;27:263-4.

Allen SJ, Okoko B, Martinez E, Gregorio G, Dans LF. *Probiotics for treating infectious diarrhoea*. Cochrane Database Syst Rev 2004;2: CD003048.

Bianchi Salvadori B, Camaschella P, Cislighi S. *Effect of yogurt lactic acid bacteria and Bifidobacteria on traslocation of Escherichia coli in the lymph system*. Microecol and Therapy 1989;18:137-42.

Camilleri M. *Probiotics and irritable bowel syndrome: rationale, putative mechanisms, and evidence of clinical efficacy*. J Clin Gastroenterol 2006;40:264-9.

D'Souza AL, Rajkumar C, Cooke J, Bulpitt CJ. *Probiotics in prevention of antibiotic-associated diarrhea: meta-analysis*. BMJ 2002;324:1361-4.

Elmer GW, Surawicz CM, McFarland LV. *Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. A review*. JAMA 1996;275:870-6.

Floch MH, Madsen KK, Jenkins DJ, Guandalini S, Katz JA, Onderdonk A, Walker WA, Fedorak RN, Camilleri M. *Recommendations for probiotic use*. J Clin Gastroenterol 2006;40:275-8.

Gorbach SL. *Lactic acid bacteria and human health*. Ann Med 1990;22:37-41.

Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, Rogers TR, Want S, Rajkumar C, et al. *Use of probiotic Lactobacillus preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial*. BMJ 2007;335:80.

Isolauri E. *Probiotics in human disease*. Am J Clin Nutr 2001;73:22425-65.

Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. *Enhancement of the circulating antibody secreting cell response on human diarrhea by a human Lactobacillus strain*. Pediatr Res 1992;32:141-4.

Koebnick C, Wagner I, Leitzmann P, Stern U, Zunft HJ. *Probiotic beverage containing Lactobacillus casei Shirota improves gastrointestinal symptoms in patients with chronic constipation*. Can J Gastroenterol 2003;17:655-9.

Majama H, Isolauri E. *Probiotics: a novel approach in the management of food allergy*. J Allergy Clin Immunol 1997;99:179-85.

Miraglia del Giudice M, De Luca MG. *The role of probiotics in the clinical management of food allergy and atopic dermatitis*. J Clin Gastroenterol 2004;38:S84-5.

Morimoto K, Takeshita T, Nanno M, Tokudome S, Nakayama K. *Modulation of natural killer cell activity by supplementation of fermented milk containing Lactobacillus casei in habitual smokers*. Prev Med 2005;40:589-94.

Perdigon G, Alvarez S, Rachid M, Agüero G, Gobbato N. *Immune system stimulation by probiotics*. J Dairy Sci 1995;78:1597-606.

Spanhaak S, Havenaar R, Schaafsma G. *The effect of consumption of milk fermented by Lactobacillus casei strain Shirota on the intestinal microflora and immune parameters in humans*. Eur J Clin Nutr 1998;52:899-907.

Srinivasan R, Meyer R, Padmanabhan R, Britto J. *Clinical safety of Lactobacillus casei Shirota as a probiotic in clinically ill children*. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2006;42:171-3.

Whorwell PJ, Altringer L, Morel J, Bond Y, Charbonneau D, O'Mahony L, et al. *Efficacy of an encapsulated probiotic Bifidobacterium infantis 35624 in women with irritable bowel syndrome*. Am J Gastroenterol 2006;101:1581-90.