

Luca Dughera

Servizio di Motilità ed Endoscopia Digestiva, Azienda Ospedaliera Universitaria "San Giovanni Battista", Torino

Probiotici, prebiotici e disturbi funzionali intestinali

Il microbiota intestinale

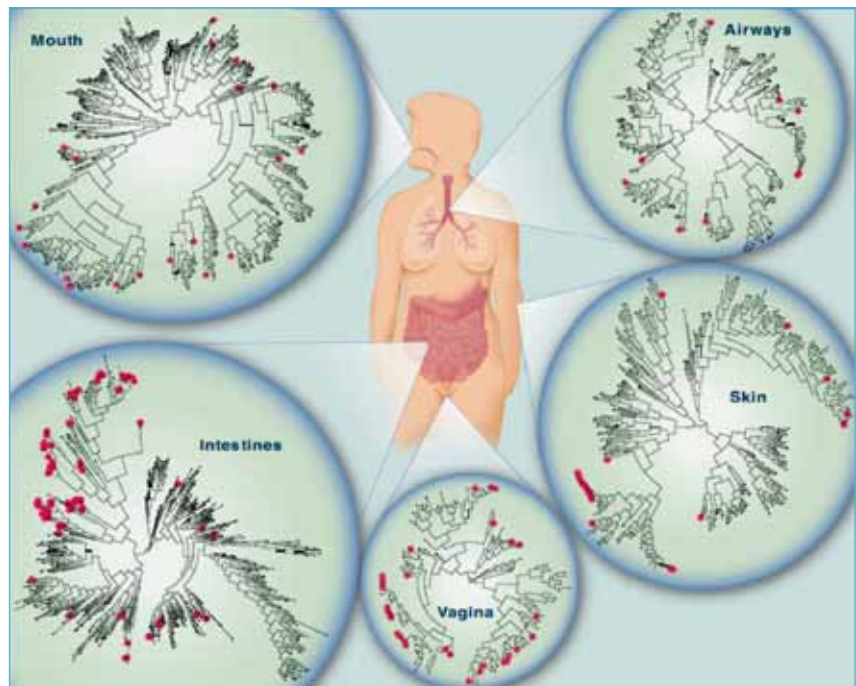
Il microbiota umano (la c.d. flora batterica) è una biomassa di non meno di 10^{14} cellule procariotiche, numero che è 10 volte superiore di quello delle cellule eucariotiche dell'organismo adulto. Il microbiota colonizza ogni superficie del corpo umano che sia esposta all'ambiente esterno: i microrganismi abbondano sulla pelle e nelle vie respiratorie, nelle vie urogenitali e nel tratto gastrointestinale; quest'ultimo è di gran lunga l'organo più colonizzato e da solo alberga più del 70% di tutti i microbi del corpo umano, con un'area stimata vasta come un campo da tennis, di circa 200 m². Il microbiota intestinale è un ecosistema complesso e attivo sotto il profilo metabolico e gioca un ruolo cruciale nel mantenimento dell'omeostasi e nel determinismo di svariate malattie. Negli ultimi 20 anni le conoscenze sul ruolo fisiopatologico del microbiota si sono considerevolmente estese, favorite dalle tecnologie biomediche in campo genetico e microbiologico. A oggi si può ritenere che la gran parte del patrimonio genico del microbiota sia stato sequenziato grazie alle tecniche di metagenomica ed è noto che il tratto gastrointestinale può essere popolato da oltre mille specie batteriche, la cui composizione varia in relazione alla razza, al sesso, all'età e all'ambiente di vita dell'ospite. Ogni individuo alberga almeno 160-200 specie batteriche, di cui 18 sono state riconosciute comuni a tutti gli esseri umani. A oggi sono stati descritti oltre 50 *filum* batterici, la maggior parte dei quali

sono anaerobi obbligati, che superano per numerosità gli anaerobi e gli aerobi facoltativi di 2-3 ordini di grandezza (Fig. 1). Nell'intestino umano sono riconosciuti due *filum* batterici prevalenti (enterotipi), i

Bacteroidetes (Gram-negativi) e i *Firmicutes* (Gram-positivi), che comprendono lattobacilli, bifidobatteri, clostridia e bacilli. Esiste un equilibrio delicato fra il microbiota, la barriera mucosa enterocitaria composta

FIGURA 1.

Il microbiota nelle diverse localizzazioni del corpo umano. Gli alberi filogenetici in ogni sede indicano la provenienza da ceppi batterici ancestrali comuni, ma benché vi siano similitudini fra le diverse popolazioni, ogni localizzazione ha un'impronta unica, caratterizzata da filum batterici prevalenti e caratteristici. Le aree in rosa indicano le porzioni del microbiota che sono state a oggi caratterizzate geneticamente.



(from Yun Kyung Lee, Sarkis K. Mazmanian. Has the Microbiota Played a Critical Role in the Evolution of the Adaptive Immune System? *Science* 2010;330:1768-73, with permission)

da strato mucinoso ed epitelio e il tessuto linfatico associato alla mucosa (*gut-associated lymphoid tissue*, GALT); il mantenimento di questa omeostasi è essenziale per la salute dell'ospite e al tempo stesso costituisce un fattore di rischio per l'instaurarsi di malattia. Il microbiota enterico contribuisce alla modulazione di diverse funzioni gastrointestinali quali la motilità, la secrezione esocrina e neuroendocrina, la permeabilità della barriera mucosa, la sensibilità viscerale e le funzioni immunitarie mediate dal GALT.

La sindrome del colon irritabile

Il colon irritabile (*irritable bowel syndrome*, IBS) si caratterizza per la presenza di tre sintomi cardinali: il dolore addominale, il meteorismo con o senza flatulenza e l'alterazione della frequenza alvina, sia in senso diarroico (IBS/d) che stiptico (IBS/c), in assenza di ogni possibile evidente causa organica. La sindrome viene di solito definita, in accordo con i Criteri di Roma III (Tab. I), come "la presenza di dolore o tensione addominale per almeno tre giorni al mese negli ultimi tre mesi associato ad almeno due dei seguenti criteri: a) i sintomi migliorano con la defecazione, b) i sintomi compaiono con un'alterazione della frequenza della defecazione, oppure, c) con un cambiamento della forma delle feci". I Criteri di Roma sono oggi ampiamente utilizzati, anche se la loro reale utilità e universale applicabilità per la stratificazione dei sottotipi di IBS in base ai

sintomi prevalenti non è da tutti accettata. Con una prevalenza stimata intorno al 15-20% nei paesi a maggiore sviluppo socio-economico, l'IBS rappresenta un problema sanitario emergente di notevole importanza, in quanto ha un impatto negativo significativo sulla qualità di vita percepita e determina un rilevante costo sociale come causa di assenza dal lavoro e ricorso alle risorse sanitarie.

La patogenesi dell'IBS è multifattoriale e include fattori ambientali, emotivi, cognitivi e comportamentali, oltre che dietetici e anche patologici coesistenti (basti ricordare l'elevato rischio per IBS a seguito di gastroenterite acuta); l'analisi dettagliata di questo aspetto non rappresenta lo scopo di questa revisione, ma merita menzionare che molti di questi fattori, per vie differenti, possono influenzare la composizione e la funzione del microbiota intestinale, con disbiosi intestinale, iperfermentazione e produzione di gas e attivazione del sistema immunitario del GALT. A oggi gli studi di metagenomica stanno tentando di caratterizzare il microbiota comune nell'IBS; il microbiota intestinale presenta modificazioni nei soggetti con IBS rispetto ai normali e, sebbene i risultati degli studi per ora siano molto variabili e non del tutto significativi, la maggior parte di essi indica che nell'IBS le feci contengono concentrazioni significativamente minori di bifidobatteri e di lattobacilli (specie batteriche usualmente presenti nei preparati probiotici, vedi oltre).

I probiotici

I probiotici sono "microrganismi vivi che somministrati in preparazioni di adeguata concentrazione esercitano effetti favorevoli al benessere e alla salute dell'ospite".

I probiotici comunemente usati sono batteri e lieviti appartenenti ai generi *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Saccharomyces*. I preparati commerciali contenenti probiotici possono consistere di uno o più ceppi o generi batterici e sono disponibili in capsule, polveri liofilizzate o contenuti in yogurt o latte fermentato. L'efficacia dei probiotici nelle diverse condizioni cliniche per le quali sono usualmente impiegati dipende dalle proprietà microbiologiche dei singoli ceppi. Il probiotico ideale deve essere ben tollerato dall'organismo umano, deve poter sopravvivere nelle diverse condizioni fisiologiche del tratto gastrointestinale, deve poter aderire all'epitelio e replicare attivamente e, infine, deve esercitare effetti benefici per l'ospite, in termine di competizione con altri batteri del microbiota, di regolazione di funzioni fisiologiche e di stimolazione delle proprietà immunologiche del GALT.

I probiotici esercitano un effetto di regolazione sulla barriera epiteliale in modi diversi. Con un'azione diretta sull'epitelio intestinale, il probiotico aumenta la sintesi e la secrezione della mucina da parte delle cellule caliciformi; i batteri probiotici sono inoltre in grado di produrre diverse forme molecolari di batteriocine e competono con gli agenti patogeni e commensali per le sedi di legame con le mucine o sulle cellule epiteliali, impedendo una colonizzazione nociva e contribuendo alla funzione della barriera mucosa; il probiotico migliora la stabilità delle *tight-junctions*, con riduzione della permeabilità epiteliale agli agenti patogeni e ai loro prodotti e determina una *down-regulation* a livello nucleare dell'espressione di geni che codificano per citochine ad azione pro-infiammatoria.

È stato recentemente dimostrato che i batteri commensali modulano l'espressione di geni che sono implicati in funzioni intestinali essenziali, compresa l'omeostasi della barriera mucosa, l'assorbimento di sostanze trofiche, dell'angiogenesi e della maturazione intestinale postnatale. I probiotici determinano anche *down-regulation* dell'apoptosi cellulare. L'induzione aberrante di apoptosi da parte di stimoli diversi, anche di natura batterica, può essere causa

TABELLA I.

Criteri di Roma III.

L'IBS può essere diagnosticata sulla base della presenza di sintomi da almeno 12 settimane, non necessariamente consecutive, purché nei 12 mesi precedenti ci sia stato disagio o dolore addominale con due su tre di queste caratteristiche:

- dolore alleviato con la defecazione, e/o
- esordio associato a un cambiamento nella frequenza delle feci, e/o
- esordio associato a un cambiamento di forma (aspetto) delle feci

I sintomi che cumulativamente supportano la diagnosi di IBS sono:

- frequenza di evacuazione anormale (per scopi di ricerca, "anormale" può essere definito come più di tre evacuazioni al giorno e meno di tre evacuazioni a settimana)
- feci di forma anomala (feci grumose o a pezzi o acquose)
- passaggio delle feci anomale (sforzo, urgenza o sensazione di evacuazione incompleta)
- gonfiore o sensazione di distensione addominale

di malattia a livello del tratto gastrointestinale. I processi apoptotici in condizioni di normale salute mantengono un equilibrio fra proliferazione e degenerazione cellulare, mentre un'apoptosi incontrollata può determinare danno tissutale indotto da sostanze tossiche rilasciate da un eccesso di cellule in degenerazione. I probiotici esercitano effetti positivi sull'immunità locale aumentando la proliferazione di linfociti B secernenti IgA nella lamina propria e promuovendo la secrezione di IgA nello strato mucoso endoluminale. Inoltre, il probiotico può alterare la composizione e l'espressione genica a livello del microbiota, con potenziamento indiretto della barriera attraverso i batteri commensali (Tab. II).

Gli studi effettuati sulla composizione del microbiota intestinale indicano che i ceppi batterici impiegati per le riconosciute proprietà probiotiche sono presenti usualmente in concentrazione elevata nei campioni di feci prelevati da soggetti sani e che la loro prevalenza si può sensibilmente modificare in alcune patologie del tratto gastrointestinale; questa osservazione costituisce il razionale per l'utilizzo dei probiotici come terapia mirata a modificare la composizione del microbiota in senso maggiormente favorevole.

I prebiotici

I prebiotici sono definiti come "componenti alimentari non digeribili e fermentescibili

in grado di determinare una stimolazione selettiva della crescita e dell'attività di uno o più generi/specie batteriche del microbiota intestinale dotati di proprietà benefiche per l'ospite". A seguito della ricerca scientifica che è scaturita dalla prima divulgazione del concetto di prebiotico, oltre 15 anni fa, i prodotti commerciali a base di prebiotici hanno standardizzato la composizione al fine di controbilanciare la disbiosi intestinale e migliorare la stabilità del microbiota.

I prebiotici maggiormente utilizzati sono fruttani (inulina, fruttoligosaccaridi, FOS, e galattoligosaccaridi, GOS). Il tratto gastrointestinale umano non produce enzimi in grado di digerire questi prebiotici, che pertanto raggiungono il colon non modificati e vengono fermentati dal microbiota colico. Le specie batteriche in grado di fermentare le fibre prebiotiche sono relativamente poche, ma incrementano per un fenomeno di selezione naturale indotto dalla disponibilità di substrato locale. La disponibilità di prebiotici nel lume rappresenta quindi una condizione di naturale induzione per la selezione di specie batteriche probiotiche nel microbiota umano. A oggi ancora poco è conosciuto dei meccanismi che favoriscono la fermentazione batterica dei prebiotici, ma studi recenti indicano che diverse specie di bifidobatteri sono geneticamente determinati, tramite un locus cromosomico che codifica per enzimi specifici, a riconoscere e fermentare i FOS.

Un importante effetto dei prebiotici è la capacità di facilitare l'attività immunologica del GALT tramite la modificazione della composizione del microbiota, specie in termini di incremento della concentrazione fecale di bifidobatteri. Questo effetto determina un miglioramento della qualità dell'output fecale in termini di pH, concentrazione di acidi grassi a catena corta, consistenza e frequenza, riduce il rischio di infezioni e di gastroenterite e perfino l'incidenza di disturbi allergici a livello sistemico, in particolare cutaneo. L'introduzione di prodotti alimentari con prebiotici è in grado di favorire l'assorbimento di calcio e la mineralizzazione dell'osso in giovani adulti e anche in donne in età post-menopausa. L'assunzione di prebiotici, inoltre, favorisce l'omeostasi termo-calorica e regola il senso di sazietà e l'incremento ponderale. Anche questi effetti sono verosimilmente (ma non unicamente) dovuti all'effetto favorente da parte dei prebiotici alla crescita di determinati ceppi batterici, soprattutto bifidobatteri, nel microbiota residente.

Probiotici e IBS

A oggi sono stati pubblicati oltre 30 trial clinici randomizzati e controllati (RCT) sull'efficacia dei probiotici nell'IBS e 4 meta-analisi sistematiche ne hanno valutato i risultati. Le meta-analisi sono oggi considerate il *gold standard* di riferimento nel determinare linee guida per le singole patologie. La maggior parte dei RCT sui probiotici hanno valutato il miglioramento del dolore/tensione addominale come endpoint primario o secondario, con un effetto positivo rispetto al placebo in 20 dei 34 RCT valutati. Il maggior numero di effetti positivi riguardano gli RCT che hanno utilizzato i bifidobatteri quali probiotici, superiori anche rispetto ai lattobacilli e che, inoltre, mostrano di possedere un'azione di tipo immunoregolatrice. In 12 dei 24 RCT che hanno utilizzato come endpoint primari o secondari il meteorismo e la distensione addominale, i bifidobatteri hanno determinato un significativo miglioramento dei sintomi rispetto al placebo; in maniera analoga, valutando la funzione alvina, i bifidobatteri hanno un determinato miglioramento del tempo di transito, della frequenza di defecazione, del senso di incompleta evacuazione o di urgenza e della difficoltà meccanica a evacuare.

TABELLA II.

Meccanismo d'azione dei probiotici.

<ul style="list-style-type: none"> • Inibizione di microrganismi patogeni
<ul style="list-style-type: none"> Riduzione del pH intraluminal Secrezione di batteriocine Competizione alimentare Competizione per loci di adesione epiteliale
<ul style="list-style-type: none"> • Miglioramento della barriera epiteliale e mucosa
<ul style="list-style-type: none"> Aumento della sintesi e secrezione di IgAs Stimolazione della secrezione di mucine Aumento della produzione di SCFA Stabilizzazione delle <i>tight junctions</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Controllo dei meccanismi di omeostasi cellulare
<ul style="list-style-type: none"> Aumento della sintesi di citochine anti-infiammatorie Riduzione della sintesi di citochine pro-infiammatorie Ridotta induzione di apoptosi cellulare
<p>IgAs: immunoglobuline A secretorie; SCFA: acidi grassi a catena corta.</p>

Prebiotici e IBS

Contrariamente ai probiotici, gli RCT che hanno valutato l'efficacia dei prebiotici nell'IBS sono molto pochi e, ovviamente, non esistono meta-analisi sull'argomento. È stato dimostrato con il *C14 breath test* che una dieta ricca in oligofruttani è in grado di aumentare il contenuto batterico intestinale, con peculiare incremento di bifidobatteri, sia nei soggetti con IBS che nei controlli sani, ma in alcuni soggetti con IBS la dieta arricchita in prebiotico può determinare un significativo incremento della flatulenza e della tensione addominale. L'integrazione alimentare con oligofruttani, inulina e galattosio in soggetti volontari sani determina un importante incremento del volume fecale e della frequenza

di evacuazione, ma, per dosaggi elevati di prebiotico, anche del meteorismo e della flatulenza. La dose del prebiotico è fattore critico nel determinare iperfermentazione batterica e produzione di gas intraluminale. In verità i più redenti dati della letteratura pongono in crescente evidenza che nei pazienti con IBS una dieta a basso tenore di oligosaccaridi, disaccaridi, monosaccaridi fermentabili e polioli (i c.d. FODMAPs, che includono anche FOS e GOS) è in grado di ridurre significativamente l'intensità dei sintomi e, specialmente, del meteorismo e flatulenza.

Conclusioni

Certamente i probiotici hanno un considerevole potenziale nel trattamento dei pazienti

affetti da IBS, ma è abbastanza chiaro che gli effetti positivi sono strettamente legati alle singole specie e ceppi batterici, che possono anche essere efficaci solo su determinati clusters di sintomi. Sono necessari RCT che coinvolgano popolazioni molto più selezionate e numerose e che utilizzino probiotici con proprietà microbiologiche meglio caratterizzate e definite.

L'efficacia reale dei prebiotici sui sintomi da IBS, al di là dell'effetto positivo noto sulla replicazione della flora batterica e dei probiotici somministrati, resta tutta da dimostrare: sono indispensabili ampi RCT che valutino, anche con una *intention-to-treat analysis*, l'effetto sui singoli sintomi di IBS di regimi alimentari con e senza prebiotico e che misurino anche l'impatto di tali diete sul microbiota gastrointestinale.

Messaggi chiave

1. La patogenesi dell'IBS è poco conosciuta, ma oggi è noto che oltre il 70% dei casi si determina in seguito a una gastroenterite acuta; nell'IBS la disbiosi intestinale, l'iperproduzione di gas e il grado di attivazione del sistema immune sono fattori determinanti la malattia e che condizionano la gravità dei sintomi
2. I risultati di RCT indicano chiaramente che i probiotici sono efficaci nel trattamento dei pazienti affetti da IBS e che gli effetti positivi sono anche legati alle singole specie e ceppi batterici
3. I prebiotici favoriscono lo sviluppo del microbiota intestinale e in particolare dei bifidobatteri; gli studi nell'IBS sono ancora del tutto preliminari, ma a dosi elevate i prebiotici possono incrementare la produzione di gas intestinale e i sintomi associati

Bibliografia di riferimento

Qin J, Li R, Raes J, et al. *A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing*. Nature 2010;464:59-65.

Spiller R, Camilleri M, Longstreth GF. *Do the symptom-based, Rome Criteria of irritable bowel syndrome lead to better diagnosis and treatment outcomes?* Clin Gastroenterol Hepatol 2010;8:125-9.

Salonen A, de Vos WM, Palva A. *Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: present state and perspectives*. Microbiology 2010;156:3205-15.

Food and Agriculture Organization of the UN and World Health Organization Working Group. *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*. Rome-Geneva: FAO/WHO 2002.

Ohland CL, Macnaughton WK. *Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2010;298:G807-19.

Patel RM, Lin WP. *Developmental biology of gut-probiotic interaction*. Gut Microbes 2010;1:186-95.

Roberfroid M, Gibson GR, Hoyle L, et al. *Probiotic effects: metabolic and health benefits*. Br J Nutr 2010;104(Suppl 2):S1-63.

Sonnenburg ED, Zheng H, Joglekar P, et al. *Specificity of polysaccharide use in intestinal bacteroides species determines diet-induced microbiota alterations*. Cell 2010;141:1241-52.

McFarland LV, Dublin S. *Meta-analysis of probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome*. World J Gastroenterol 2008;14:2650-61.

Hoveyda N, Heneghan C, Mahtani KR, et al. *A systematic review and meta-analysis: probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome*. BMC Gastroenterol 2009;9:15.

Brenner DM, Moeller MJ, Chey WD, et al. *The utility of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review*. Am J Gastroenterol 2009;104:1033-49.

Moayyedi P, Ford AC, Talley NJ, et al. *The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review*. Gut 2010;59:325-32.

O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, et al. *Lactobacillus and Bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles*. Gastroenterology 2005;128:541-51.

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

Konieczna P, Groeger D, Ziegler M, et al. *Bifidobacterium infantis 35624 administration induces Foxp3 T regulatory cells in human peripheral blood: potential role for myeloid and plasmacytoid dendritic cells*. Gut 2011 [Epub ahead of print].

Guglielmetti S, Mora D, Gschwender M, et al.

Randomised clinical trial: Bifidobacterium bifidum MIMBb75 significantly alleviates irritable bowel syndrome and improves quality of life – a double-blind, placebo-controlled study. Aliment Pharmacol Ther 2011;33:1123-32.

Ong DK, Mitchell SB, Barrett JS, et al. *Manipulation of dietary short chain carbohydrates alters the pattern of gas production and genesis of symptoms in irritable bowel syndrome*. J Gastroenterol Hepatol 2010;25:1366-73.

Macfarlane S, Macfarlane GT, Cummings JH. *Review article: probiotics in the gastrointestinal tract*. Aliment Pharmacol Ther 2006;24:701-14.

Olesen M, Gudmand-Hoyer E. *Efficacy, safety, and tolerability of fructooligosaccharides in the treatment of irritable bowel syndrome*. Am J Clin Nutr 2000;72:1570-5.

Silk DB, Davis A, Vulevic J, et al. *Clinical trial: the effects of a trans-galacto-oligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome*. Aliment Pharmacol Ther 2009;29:508-18.

Staudacher HM, Whelan K, Irving PM, et al. *Comparison of symptom response following advice for a diet low in fermentable carbohydrates (FODMAPs) versus standard dietary advice in patients with irritable bowel syndrome*. J Hum Nutr Diet 2011;24:487-95.