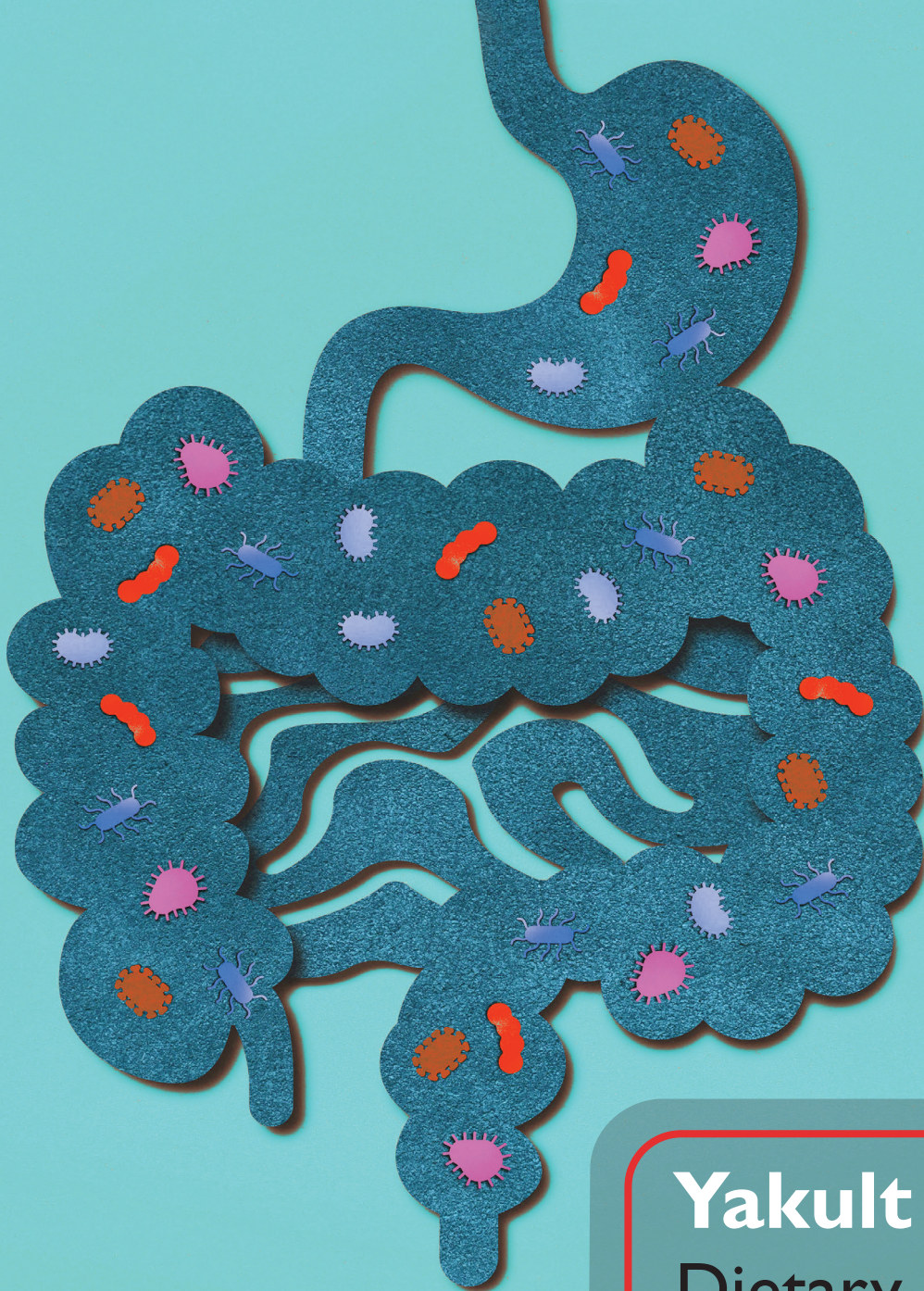




Yakult

Dietary Microbes Webinar

Indice

CAP 1	Dietary microbes: perché non si possono ignorare	pag. 4
CAP 2	Cibi fermentati e salute dell'intestino	pag. 8
CAP 3	Microbiota e sintomi clinici	pag. 11
CAP 4	Ricerca clinica sui benefici per la salute dei probiotici: il disegno tradizionale degli RCT è adeguato?	pag. 14
CAP 5	Take home messages	pag. 17

In collaborazione con 
Editore **Clorofilla srl** - editoria scientifica

Direttore responsabile
Massimo Barberi

Art Director
Stefania Maffoni

Redazione
Lisa Triscioglio

Direzione e redazione
Clorofilla srl - editoria scientifica
Via Podgora 12A, 20122 Milano
Tel 02 39523784 - www.clorofillaweb.it
Iscrizione al ROC n. 25358

Copyright © 2023 -
Questa pubblicazione è protetta da copyright.
Tutti i diritti sono riservati. Sono vietate
la riproduzione e l'archiviazione in qualsiasi
forma e qualsiasi mezzo elettronico,
compresa la fotocopiatrice, senza
autorizzazione scritta dell'Editore.

Immagine di copertina di Adobe Stock:
ArtemisDiana.

Immagini interne di Adobe Stock:
JeromeCronenberger, rob3000, Science RF,
Toranosuke, Creative Mood

Nota dell'Editore

La realizzazione di questa pubblicazione è stata
effettuata con la massima accuratezza.
Ciò nonostante, l'Editore non è responsabile
per errori, omissioni e/o inesattezze e per qualunque
conseguenza derivata dalle informazioni ivi
contenute.

Per qualsiasi immagine riprodotta e per cui non
si sia ottenuta autorizzazione alla riproduzione,
l'Editore è disponibile al riconoscimento dei diritti
di copyright in capo agli aventi diritto.

Le informazioni riportate nella pubblicazione non
sostituiscono le indicazioni contenute nel Riassunto
delle Caratteristiche di Prodotto dei prodotti
menzionati.

**Pubblicazione fuori commercio riservata
agli operatori sanitari.**

Questa pubblicazione è stata realizzata grazie
al contributo non condizionato di **Yakult**

Dietary microbes: perché non si possono ignorare

Bruno Pot

Guest professor alla Vrije Universiteit di Bruxelles (Belgio)
e Science Director di Yakult Europe

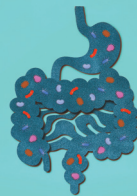
La relazione tra l'uomo e i batteri/lieviti naturalmente presenti negli alimenti o aggiunti per scopi nutrizionali od organolettici dura da millenni e si è evoluta in forme sempre più raffinate.

Il dr. Bruno Pot ha parlato del valore di questi microrganismi per la salute umana.

Microrganismi e sistema immunitario

La storia dei microrganismi "dietetici" ha incrociato quella dell'uomo oltre 10mila anni fa, con la scoperta della fermentazione, ma la consapevolezza del loro valore per la salute umana è nata molto più di recente, sulla scorta dei primi studi che hanno posto in relazione la riduzione della diffusione delle malattie infettive con la crescita di quelle autoimmuni, avvenute pressoché contestualmente tra il 1950 e il 2000 (Bach JF. NEJM 2002;347(12): 911-920).

Mentre il primo riscontro è apparso facilmente giustificabile con l'introduzione dei vaccini, l'impiego diffuso degli antibiotici (anche a scopo preventivo) e il miglioramento delle condizioni igieniche e di vita generali, interpretare il secondo dato è stato un po' meno immediato, dal momento che l'aumento delle malattie autoimmuni nell'arco di pochi decenni non poteva essere riferito a cambiamenti dell'assetto genetico della popolazione.



La riflessione che ne è seguita ha portato a formulare la cosiddetta “ipotesi igienica”, attribuendo l'origine del fenomeno alla minore esposizione ai microrganismi ambientali, che avrebbe impedito al sistema immunitario di svilupparsi in modo efficiente, inducendolo a orientare le proprie reazioni verso componenti endogene dell'organismo anziché contro i potenziali patogeni esterni.

Nel corso degli anni, l'ipotesi igienica è stata rivista e corretta, riconoscendo che per mantenere uno stato di benessere l'uomo ha bisogno di un'interazione positiva e costante non soltanto con i microrganismi esterni, ma anche con quelli che compongono il microbiota intestinale (Guarner F, et al. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2006;3(5):275-284).

Lo stile di vita e dietetico occidentale, che si è diffuso a partire dalla metà del secolo scorso, ha ridotto enormemente il livello di esposizione ai microrganismi ambientali e alimentari, interferendo a più livelli con l'equilibrio del microbiota intestinale, il metabolismo e l'attività del sistema immunitario.

Dieta e diversità del microbiota intestinale

Oltre che all'ipotesi igienica, l'imperfetto funzionamento del sistema immunitario umano attuale è stato attribuito alla perdita di microrganismi utili a causa del cambiamento delle abitudini alimentari avvenuto nel corso dei millenni (Sonnenburg ED, SonnenburgJL. Cell Metab 2014;20(5):779-786).

Le “transizioni alimentari” avrebbero drasticamente ridotto anche la disponibilità dei carboidrati accessibili ai batteri (MACs, *Microbiota Accessible Carbohydrates*) costitutivamente presenti nell'intestino, con conseguente ulteriore diminuzione del numero di specie residenti e della loro abbondanza (Sonnenburg ED, SonnenburgJL. Cell Metab 2014;20(5):779-786).

Gli effetti negativi di questa deplezione alimentare di microrganismi e fibre vegetali tipo MACs sarebbero, poi, stati amplificati dalla sempre maggiore igiene dei cibi industriali/trasformati e dell'ambiente e dall'impiego diffuso (e spesso eccessivo) degli antibiotici.

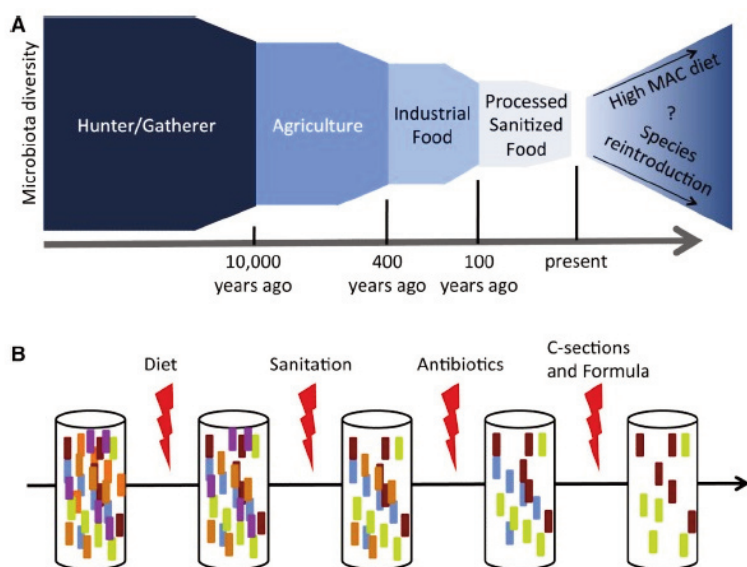


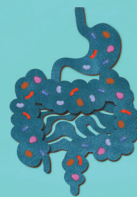
Figura 1. The Multiple-Hit Hypothesis for How the Microbiota of Industrialized Societies Has Lost Diversity over Time - Modificato da Sonnenburg ED, Sonnenburg JL. *Cell Metab* 2014;20(5):779-786.

(A) Microbiota diversity was likely altered at multiple stages of human evolution. As diversity and quantity of dietary MACs decreased with agriculture, industrialized food production, and processed food, the model reflects data that indicate a corresponding decrease in microbiota diversity.

(B) While diet is likely a key mediator of microbiota diversity, additional technological and medical leaps, while providing solutions for important problems such as infectious disease, have likely served as insults to the microbiota. These multiple hits have prevented the maintenance of microbiota diversity over recent generations.

Considerando valida questa ipotesi, una possibilità di ripristinare una maggiore diversità microbica intestinale, vantaggiosa per il funzionamento del sistema immunitario e la salute generale, consisterebbe nel reintrodurre un'adeguata quantità di microrganismi utili e MACs nella dieta.

Per verificare l'efficacia di questo approccio, sono stati testati gli effetti di una dieta arricchita di fibre vegetali oppure di alimenti fermentati, in due gruppi di soggetti sani, sottoposti al regime prescelto per 6 settimane, seguite da 4 settimane di wash-out (Wastyk HC et al. *Cell* 2021;184:4137-4151). Al termine del challenge dietetico, nel gruppo che aveva assunto la dieta ricca di fibre vegetali non è stato osservato un cambiamento della diversità del microbiota, ma un incremento degli enzimi in grado di digerire le fibre e della produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA, *Short Chain Fatty Acids*), protettivi della barriera intestinale e dotati di diverse attività metaboliche; inoltre, in questo gruppo, non sono stati osservati cam-



biamenti sul fronte della produzione di citochine. Nel gruppo che aveva assunto alimenti fermentati, invece, sono stati riscontrati sia un significativo aumento della diversità microbica intestinale sia una riduzione di numerosi segnali/mediatori dell'infiammazione e dell'attività infiammatoria sistemica (Wastyk HC et al. Cell 2021;184:4137-4151).

In sostanza, quindi, gli alimenti fermentati (ma non le fibre vegetali da sole) sembrerebbero in grado di controbilanciare l'impoverimento della diversità microbica intestinale conseguente alla dieta basata su alimenti industriali eccessivamente "igienizzati" e di ridurre il burden infiammatorio associato.

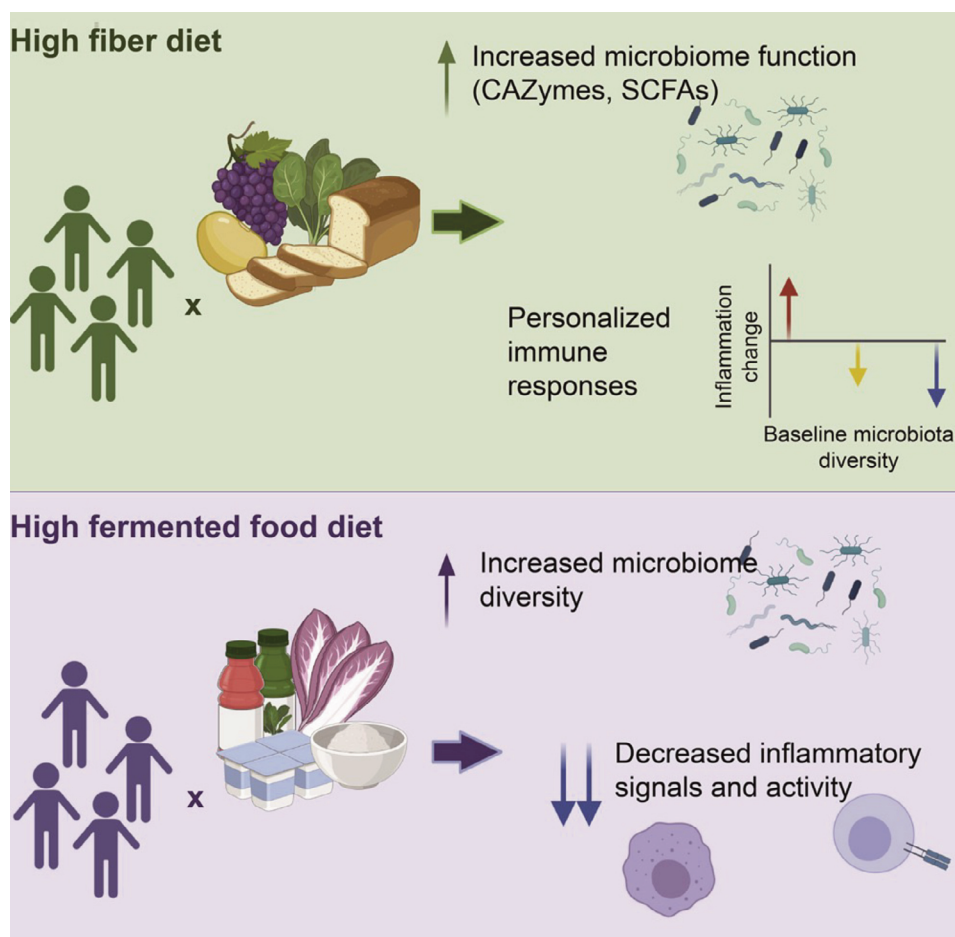


Figura 2. Modificato da Wastyk HC et al. Cell 2021;184:4137-4151.

Cibi fermentati e salute dell'intestino

Paul Cotter

Direttore dell'area Food Biosciences al Teagasc - Agriculture and Food Development Authority (Irlanda), Chief Technology Officer (CTO) SeqBiome, Principal Investigator nei Centri di ricerca APC Microbiome Ireland, Vista Milk SFI e Food for Health Ireland (FHI); Field Chief Editor di Frontiers Microbiology

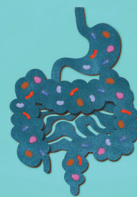
Quali caratteristiche distintive possiedono gli alimenti fermentati e quali benefici di salute possono derivare dal loro consumo, a livello intestinale e dell'intero organismo? Lo ha spiegato il prof. Paul Cotter.

Fermentazione e benefici per la salute

Da alcuni anni, nel mondo occidentale si sta assistendo a un "ritorno alla fermentazione" per effetto della crescente richiesta di alimenti conservati con una metodica percepita come "naturale" e "sana".

I cibi fermentati, correttamente prodotti e conservati, hanno una lunga storia d'uso sicuro nell'uomo e possono determinare effetti favorevoli per la salute attraverso:

- l'azione di componenti costitutivi dell'alimento (elementi attivi o substrati utili);
- la modifica di componenti iniziali dell'alimento da parte dei microrganismi fermentanti (trasformazione di alcuni elementi in sostanze utili o eliminazione di composti tossici);
- la produzione di composti microbici utili per l'ospite (vitamine, SCFA, acido linoleico, peptidi, aminoacidi, acidi organici, batteriocine ecc.);



- la modulazione della composizione e dell'attività del microbiota intestinale.

I costituenti degli alimenti fermentati e i microrganismi fermentanti o loro metaboliti bioattivi possono interagire con l'epitelio e la barriera intestinali, modulandone le caratteristiche e la permeabilità, con effetti diretti o indiretti anche sul sistema immunitario enterico e generale.

Inoltre, i microrganismi fermentanti possono degradare il lattosio del latte (rendendo l'alimento derivato adatto anche alle persone intolleranti a questo zucchero), produrre acetato o lattato (riducendo il pH e aumentando la conservabilità dell'alimento), rimuovere il glutine (evitando reazioni autoimmuni o di intolleranza verso questa proteina dei cereali) oppure produrre composti azotati o solforati.

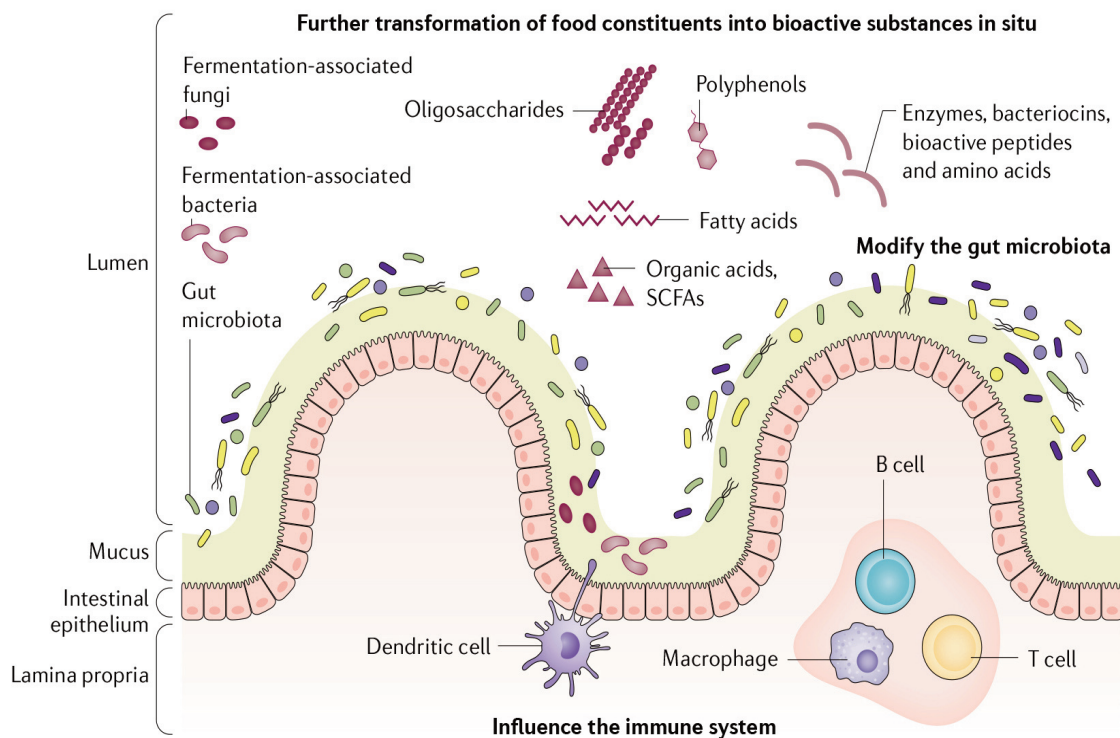


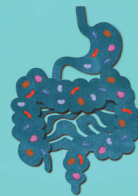
Figura 3. Modificato da Marco ML et al. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2021 Mar;18(3):196-208.

L'analisi degli alimenti fermentati

Uno studio pilota condotto nel contesto della “*Global Fermented Food Microbiome Initiative*” ha indicato che diversi cibi fermentati, benché caratterizzati da un profilo microbico differente, possono presentare parziali sovrapposizioni sul piano delle trasformazioni metaboliche operate dai microrganismi che contengono, per esempio nell'impiego dei carboidrati (Leech et al. *MSystems* 2020;5(6):e00522-20).

L'analisi metagenomica ha permesso anche di individuare nuove specie batteriche e di osservare che gli alimenti fermentati contengono mediamente più cluster genetici microbici associati alla sopravvivenza in situazioni di stress, alla capacità di colonizzare l'intestino e di modulare l'ambiente intestinale, rispetto ai cibi non fermentati (Leech et al. *MSystems* 2020;5(6):e00522-20).

Uno studio metagenomico ha evidenziato, inoltre, una stretta correlazione tra i batteri lattici presenti negli alimenti e quelli riscontrati nel microbiota intestinale, suggerendo che i cibi fermentati potrebbero essere un buon mezzo per arricchire di lattobacilli la popolazione intestinale endogena (Pasoli E, et al *Nature Communicatin* 2020;11:2610; doi:10.1038/s41467-020-16438-8).



Microbiota e sintomi clinici

Francisco Guarner

Centro Medico Teknon di Barcellona (Spagna)

Il microbiota intestinale esercita molte funzioni preziose per la salute umana, che possono essere compromesse in caso di un suo impoverimento o in condizioni di disequilibrio.

Di questi aspetti e degli interventi nutrizionali che possono migliorare lo stato della comunità microbica enterica, con ripercussioni favorevoli sul metabolismo e il benessere addominale dell'ospite, ha parlato il prof. Francisco Guarner.

Attività del microbiota e implicazioni cliniche

È stato osservato che alterazioni dell'equilibrio microbico intestinale, dovute ad assunzione di antibiotici (Pinato DJ, et al. JAMA Oncol 2019;5(12):1774-1778; Aversa et al. Mayo Clin Proc 2021;96(1):66-77) o altri farmaci/sostanze xenobiotiche, dieta sbilanciata o altri fattori endogeni o esogeni, si associano a un aumento del rischio di sviluppare diverse patologie metaboliche e infiammatorie/autoimmuni, come diabete, sindrome metabolica, obesità, malattia di Crohn, colite ulcerosa, celiachia, dermatite atopica, asma ecc. (<https://disbiome.ugent.be/statistics>).

D'altro canto, è stato verificato che tale rischio può essere ridotto attraverso l'assunzione di cibi fermentati, in grado di controbilanciare la riduzione della diversità e dell'abbondanza della flora batterica intestinale tipicamente riscontrata in chi soffre di queste condizioni, promuovendo l'arricchimento della comunità microbica endogena.

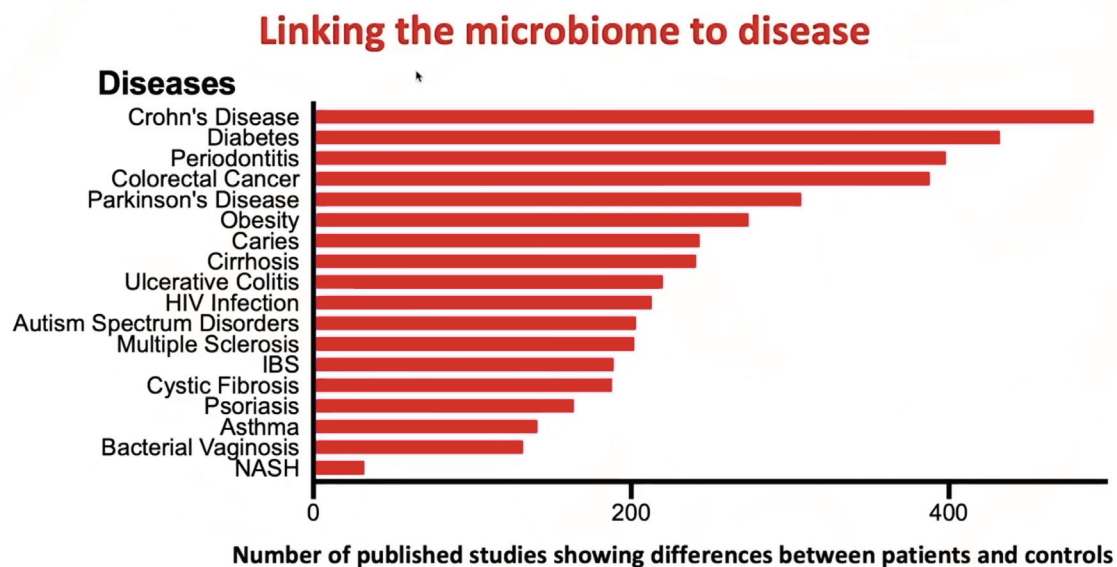


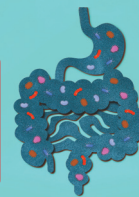
Figura 4. Modificato da <https://disbiome.ugent.be/statistics>

Alimenti fermentati e sindrome metabolica

Numerosi studi hanno indicato che il differente assetto del microbiota intestinale legato, oltre che alle caratteristiche individuali, anche al fatto di assumere o meno cibi fermentati, si associa a una diversa propensione all'aumento di peso e allo sviluppo di condizioni di sovrappeso e obesità.

In particolare, uno studio prospettico osservazionale che ha coinvolto oltre 120mila uomini e donne privi di malattie croniche e non obesi al basale, seguiti dal 1986 al 2006, ha evidenziato che chi consumava maggiori quantità di alimenti favorevoli per l'equilibrio e la proliferazione del microbiota intestinale (come verdura, frutta, cereali integrali, frutta secca e yogurt) tendeva a perdere peso, diversamente da chi seguiva un'alimentazione di tipo occidentale (Mozaffarian D et al. NEJM 2011;364:2392-2404).

Un maggiore consumo di yogurt è risultato invece associato a una minore probabilità di sviluppare ipertensione e a valori di pressione arteriosa inferiori in individui già ipertesi (Wade AT, et al Int Dairy J 2021;122:105159).



Una metanalisi di 42 studi osservazionali condotti per verificare l'impatto del consumo di latticini sul rischio di sviluppare sovrappeso/obesità, diabete di tipo 2 e ipertensione ha, inoltre, segnalato che il rischio di obesità diminuiva del 13% e quello di diabete di tipo 2 del 7% per ogni aumento di 50 g di yogurt consumato al giorno, secondo una relazione lineare (Feng et al. Adv Nutr 2022;13(6):2165-2179). In sostanza, il consumo di cibi fermentati (in particolare, da lattobacilli) sembrerebbe avere la potenzialità di contrastare le principali componenti della sindrome metabolica.

Ricerca clinica sui benefici per la salute dei probiotici: il disegno tradizionale degli RCT è adeguato

Robert-Jan Brummer

Professore di Gastroenterologia e Nutrizione clinica all'Orebro University e Ospedale universitario (Svezia)

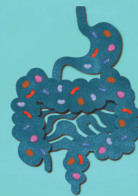
Disegnare uno studio clinico non è mai semplice perché la scelta dei criteri da considerare può influenzare gli esiti della valutazione, fino a renderla inattendibile. Questo è vero soprattutto quando si devono studiare gli effetti di prodotti complessi e diversificati per composizione, attività e possibili influenze sull'ospite, come probiotici e prebiotici.

Il prof. Robert-Jan Brummer ha cercato di fare chiarezza sull'argomento.

Qualità delle evidenze

La solidità delle conclusioni di una ricerca dipende, oltre che dal tipo di disegno dello studio, anche dalla logica che si usa per ottenere le evidenze a partire dall'ipotesi di lavoro e da una serie di presupposizioni fondamentali, quali:

- l'omogeneità e la rappresentatività dei gruppi di soggetti che si confrontano;
- la corretta definizione dei preparati usati come trattamenti attivi o placebo;
- la capacità di attribuire all'intervento testato le differenze di esito osservate tra gruppo trattato e di controllo.



Nel caso dei probiotici, il microbiota intestinale è altamente variabile a livello interindividuale e i probiotici determinano effetti differenti nell'intestino di soggetti diversi, in funzione dell'ecosistema microbico intestinale individuale e di innumerevoli variabili interferenti.

Ciò rende molto arduo rilevare un effetto medio ben definito e attribuirlo in modo univoco a una determinata attività del preparato probiotico assunto. In aggiunta, anche l'intervento placebo può non essere del tutto ininfluenza sull'esito, poiché ogni modificazione della dieta può avere un effetto a livello del microbiota enterico.

Responders e non-responders

Per tutte le terapie farmacologiche è normale riscontrare una variabilità di risposta clinica da parte dei pazienti che permette di distinguerli in "responders" e "non-responders". Nel caso degli studi su probiotici o prebiotici questa distinzione può essere critica.

Se l'azione che si ottiene dall'intervento probiotico o prebiotico è poco caratterizzabile e sfumata, sulla media della popolazione considerata può non essere possibile raggiungere un'adeguata significatività statistica dei risultati, ritenuta indispensabile per considerare affidabili le conclusioni dello studio. Per superare questo ostacolo si dovrebbe riuscire a separare il "segnale d'efficacia" dell'intervento somministrato dal "rumore di fondo" della variabilità di risposta interindividuale.

Studi crossover vs gruppi paralleli

In linea di principio, il disegno crossover (ovvero quando alla stessa popolazione vengono somministrati in successione l'intervento in esame e il placebo, confrontando tra loro gli esiti ottenuti nei due periodi di studio) sembrerebbe preferibile per lo studio di probiotici e prebiotici poiché permette di ridurre la variabilità interindividuale. Tuttavia, il primo intervento somministrato (probiotico/prebiotico o placebo) può influenzare la risposta dello stesso soggetto nella fase successiva della valutazione, confondendo gli esiti. Per questa ragione, si dovrebbe sempre prevedere un periodo di wash-out tra le due fasi di somministrazione.

Inoltre, per valutare gli effetti di un probiotico/prebiotico sul colon, sono generalmente necessari tempi di assunzione abbastanza prolungati (da un minimo di 4-6 fino a 12 set-

timane) e la prova deve essere ripetuta due volte (per il probiotico/prebiotico e per il placebo), intervallandola con un adeguato periodo di wash-out.

Lo studio complessivo finisce, quindi, con il protrarsi a lungo, e non si possono escludere variazioni dell'aderenza all'assunzione del preparato da parte dei partecipanti. Tutti questi aspetti aumentano la variabilità della risposta clinica e riducono la possibilità di ottenere esiti affidabili e significativi dallo studio crossover, inducendo a ritenere preferibili studi a gruppi paralleli (nei quali due gruppi di soggetti con caratteristiche simili vengono randomizzati per l'assunzione dell'intervento o del placebo e, quindi, confrontati tra loro al termine del periodo di osservazione predefinito).

Criteri di inclusione ed esclusione

Un altro aspetto da considerare sono i criteri di inclusione ed esclusione dei partecipanti: se sono molto stringenti, si riesce a definire meglio il campione da esaminare e a ridurre la variabilità interindividuale, ma con la contropartita di verificare gli effetti dell'intervento in un gruppo di soggetti molto selezionato, non rappresentativo della popolazione generale alla quale si vorrebbe proporre il probiotico/prebiotico.

Per finire, va considerata la variabilità intra-individuale. Nel caso degli studi su probiotici/prebiotici, anche questo tipo di variabilità a livello di singolo soggetto deve essere il più possibile ridotta se si vuole aumentare la probabilità di ottenere risultati statisticamente significativi (Larsen OFA et al. *Beneficial Microbes* 2020;11(6):511-517).



Take home messages

Kaitlin Colucci

Dietista specializzata in Salute digestiva e dell'intestino, fondatrice della Kaitlin Colucci Nutrition Ltd, Londra (Regno Unito)

Kaitlin Colucci, dietista londinese specializzata in Salute digestiva e dell'intestino, ha sottolineato i take home messages relativi all'impiego di probiotici e cibi fermentati a supporto dell'equilibrio intestinale e del buon funzionamento dell'organismo.

- Probiotici e cibi fermentati influenzano la salute dell'intestino attraverso diversi meccanismi, legati agli specifici microrganismi contenuti, ai metaboliti prodotti o ai substrati da essi modificati e alla loro interazione dinamica con il microbiota e l'intestino dell'ospite.
- La diversità e l'abbondanza del microbiota intestinale sono cruciali per il benessere dell'organismo a molteplici livelli e contribuiscono a prevenire numerose malattie croniche di tipo metabolico, infiammatorio e autoimmune, la cui incidenza è aumentata contestualmente alla diffusione dello stile di vita occidentale, caratterizzato da una ridotta interazione ambientale e assunzione di microrganismi.

- La diversità del microbiota intestinale può essere promossa anche attraverso il consumo abituale di diversi tipi di frutta e verdura, cereali integrali, semi e frutta secca, legumi e germogli, erbe aromatiche e spezie.
- Lo studio dei probiotici è complesso perché essi esercitano azioni articolate a livello intestinale, interagendo con un microbiota endogeno differente da individuo a individuo e determinando effetti sfumati e variabili nel tempo, difficilmente quantificabili come media statistica a livello di popolazione.
- Per comprendere effettivamente tipologia ed entità dei benefici offerti dai probiotici è necessario ridefinire il disegno e i criteri da considerare negli studi clinici, adattandoli alla natura e alle caratteristiche dei preparati da testare e agli esiti che si intende valutare nella popolazione target.



Science for Health

«La nostra filosofia: contribuire al benessere delle persone in tutto il mondo, attraverso l'eccellenza nella ricerca scientifica e la specializzazione nel campo dei probiotici».

La visione lungimirante del fondatore di Yakult, il Dott. Minoru Shirota, microbiologo e ricercatore della facoltà di medicina di Kyoto in Giappone, lo portò ad isolare e coltivare in latte l'esclusivo ceppo probiotico *L. paracasei* Shirota (LcS). 85 anni dopo, molta strada è stata fatta nel rispetto dei valori fondanti: la promozione di un corretto stile di vita attraverso una sana alimentazione per la salute dell'intestino.



L. paracasei Shirota (LcS)cv

Oggi come allora, il cuore di Yakult è rappresentato dai suoi due Centri di Ricerca in costante collaborazione con la Comunità Scientifica internazionale: l'Istituto centrale per la Ricerca Microbiologica di Kunitachi in Giappone e il Centro di Ricerca Europeo a Gent in Belgio.

Oltre 300 sono gli studi clinici condotti con LcS e pubblicati sulle principali riviste scientifiche.

Ti invitiamo a visitare i nostri canali di informazione riservati ai professionisti della salute:

Science for Health:
www.scienceforhealth.it

LinkedIn Yakult Italia:
www.linkedin.com/company/yakult-italia/