

Microbiota intestinale, probiotici e benessere

Luca Dughera

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

Il microbiota umano

Il corpo umano è abitato da un vasto numero di batteri, virus e altri organismi eucarioti unicellulari. L'insieme dei microrganismi che vivono in pacifica coesistenza con il loro ospite umano viene definito "microbiota" o "microflora normale". La composizione e il ruolo dei batteri che fanno parte di questa comunità è stata estensivamente studiata in questi ultimi anni, mentre il ruolo dei virus e degli altri eucarioti che popolano il nostro corpo resta ancora poco conosciuto e da definire.

Il microbiota umano consiste di una biomassa veramente enorme, di non meno di 10^{14} cellule batteriche, numero che è dieci volte superiore di quello delle cellule procariotiche dell'organismo adulto¹. Il microbiota colonizza virtualmente ogni superficie del corpo umano che sia esposta all'ambiente esterno. I microbi abbondano sulla pelle e nelle vie respiratorie, nelle vie urogenitali e nel tratto gastrointestinale (GIT); quest'ultimo è di gran lunga l'organo più colonizzato: da solo alberga più del 70% di tutti i microbi del corpo umano e ha un'area stimata vasta come un campo da tennis, di circa 200 m².

L'habitat intestinale umano contiene almeno 500-1.000 specie differenti di batteri, con ampia variabilità inter-individuale². In ogni caso, però, la maggior parte del microbiota intestinale è composta di anaerobi obbligati che superano per numerosità gli anaerobi e gli aerobi facoltativi di 2-3 ordini di grandezza. Sebbene a oggi siano stati descritti oltre 50 filum batterici, nel GIT soltanto due sono quelli prevalenti: i *Bacteroidetes* (Gram negativi) e i *Firmicutes* (Gram positivi), mentre *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Cyanobacteria* sono presenti in proporzioni assai minori. *Firmicutes* è il filum batterico più numeroso e raggruppa più di 200 generi, compresi *Lactobacillus*, *Mycoplasma*, *Bacillus* e *Clostridium*, assai comuni nel microbiota intestinale^{3 4}.

Il numero delle cellule batteriche presenti nel GIT di un mammifero mostra un *continuum* crescente in senso oro-aborale, variando da 10^3 batteri/g nello stomaco e duodeno, a 10^4 - 10^7 nel digiuno e nell'ileo, fino a oltre 10^{12} cellule/g nel cieco e colon destro. Nello stomaco la concentrazione batterica è bassa perché l'ambiente acido distrugge quasi tutti batteri che lo attraversano, agendo così come prima barriera difensiva verso la contaminazione dall'esterno. La maggior parte dei batteri risiede nella parte inferiore dell'apparato digerente, specialmente nell'intestino crasso, poiché nel tratto più prossimale anche la bile e le secrezioni pancreatiche risultano tossiche o poco favorevoli per la crescita della maggior parte dei microrganismi.

Durante il parto, e immediatamente dopo, i batteri che costituiscono il microbiota urogenitale e cutaneo materno, e anche provenienti dall'ambiente circostante, colonizzano assai rapidamente il GIT del neonato. Dopo questa prima fase il microbiota subisce una seconda trasformazione, presumibilmente influenzata principalmente dalle caratteristiche del regime alimentare, fino a che, all'età di circa 4 anni, risulta abbastanza stabilizzato nella sua composizione, assai simile a quella dell'adulto. Esiste un equilibrio complesso e assai variabile fra i diversi microrganismi che risiedono normalmente nel GIT, dove svolgono un ruolo unitario ed essenziale per il mantenimento dell'omeostasi, per lo svolgimento dei processi digestivi e metabolici e per la regolazione del sistema immunitario locale dell'organismo ospite^{5 6}. Anche se alcune specie batteriche nel microbiota possono essere

agenti patogeni facoltativi, l'interazione costante fra l'ospite e i microbi residenti risulta solitamente favorevole alla salute dell'ospite, con un equilibrio fra le specie batteriche che favorisce i simbionti non patogeni.

La distribuzione del microbiota non è omogenea nell'ambiente intestinale. La superficie epiteliale è separata dal lume, da uno strato di muco abbastanza compatto, chimicamente complesso e di spessore superiore a 700 nanometri. La consueta rappresentazione dell'iconografia tradizionale che vede la microflora immediatamente sovrastante la superficie epiteliale è pertanto errata e il microbiota presente libero nel lume e in immediata prossimità della superficie delle cellule epiteliali differisce significativamente dalla flora che popola l'interno dello strato di muco, sia quantitativamente che qualitativamente. Numerose evidenze scientifiche indicano oggi che nei secoli si è determinata una co-evoluzione dell'ospite e del suo microbiota, fortemente condizionata da fattori ambientali, dalla struttura genica dell'ospite e dall'integrità del suo sistema immunitario, sia locale che sistemico⁷.

Normali funzioni del microbiota intestinale e ruolo in patologia umana

Il microbiota nel GIT svolge un ruolo importante nel mantenimento dello stato di salute e nel determinismo di stati patologici. Ippocrate (400 a.C.), già intuendo l'importanza dell'omeostasi gastrointestinale e dei fenomeni di disbiosi, affermava che "la morte risiede e origina nell'intestino"⁸.

Una funzione metabolica importante della microflora intestinale è la fermentazione del residuo dietetico non digeribile e dei mucopolisaccaridi endogeni prodotti dall'epitelio intestinale⁹. La variabilità di specie e genica che caratterizza la comunità microbica rende disponibili vari enzimi e vie biochimiche e metaboliche che sono ben distinte dalle risorse costitutive dell'ospite. Il risultato finale di questa attività metabolica complessa e autonoma del microbiota è il recupero di energia e di substrati assorbibili per l'ospite, ma anche il rifornimento di energia e di prodotti nutritivi per la crescita e la proliferazione delle stesse specie batteriche

residenti. La fermentazione dei carboidrati è una fonte di energia importante per entrambi. I carboidrati non digeribili includono i grandi polisaccaridi (amidi, cellulosa, emicellulosa, pectine e gomme resistenti), alcuni oligosaccaridi che sfuggono alla digestione amilolitica intraluminale e i polialcoli non assorbibili. Il prodotto finale metabolico è la generazione di acidi grassi a catena corta (SCFA) che esercitano, nel lume intestinale, una potente azione trofica ed energetica.

Il ruolo più importante degli SCFA nella fisiologia del GIT è il loro effetto trofico sull'epitelio intestinale¹⁰. La differenziazione delle cellule epiteliali è notevolmente influenzata e regolata dalla continua interazione con i microrganismi residenti. Tutti gli SCFA (acido acetico, propionico, butirrico e isobutirrico) stimolano la proliferazione e la differenziazione delle cellule epiteliali in vivo. Inoltre, il butirrato promuove la stabilità del patrimonio cellulare, favorendo la conversione delle cellule da fenotipi neoplastici a non neoplastici e ha un'azione antinfiammatoria. La consuetudine a una dieta povera in fibre e in amidi complessi, che determina una bassa produzione di SCFA, può essere implicata nell'elevata incidenza di patologia neoplastica e infiammatoria del colon nelle popolazioni occidentali.

Anche il metabolismo anaerobico dei peptidi e delle proteine (putrefazione) da parte della microflora comporta la produzione di SCFA ma, allo stesso tempo, genera una serie di sostanze potenzialmente tossiche e in grado di determinare la produzione di gas abbondante endoluminale, quali l'ammoniaca, le poliamine, i fenoli, i tioli e gli indoli¹¹.

La disponibilità giornaliera del substrato nell'adulto è di circa 20-60 g di proteine e di 5-20 g di carboidrati. Nel cieco e nel colon ascendente la fermentazione è molto intensa, con elevata produzione di zuccheri semplici e di SCFA, a un pH piuttosto acido (compreso fra 5 e 6), con una proliferazione batterica rapida. Nel digiuno e nel colon sinistro, invece, il substrato è meno disponibile, il pH è prossimo alla neutralità, i processi putrefattivi diventano quantitativamente più importanti e le popolazioni batteriche mostrano una curva di crescita assai più lenta, prossima alla stabilità "en plateau".

Il microbiota svolge altre numerose importanti attività metaboliche, in particolare la sintesi di alcune vitamine e di cofattori en-

zimatici e contribuisce all'assorbimento del calcio, del magnesio e del ferro ¹².

I batteri residenti rappresentano una prima linea di resistenza cruciale contro la colonizzazione da parte di microbi esogeni e dell'invasione dei tessuti da parte di agenti patogeni ¹³. In vitro, ceppi batterici diversi competono per i siti recettoriali di adesione dell'orletto a spazzola delle cellule epiteliali intestinali. I batteri non patogeni residenti con elevata affinità per le molecole di adesione espresse dalle cellule intestinali competono con tali recettori e impediscono la successiva penetrazione di batteri patogeni enteroinvasivi. Ancora, i batteri residenti competono per la disponibilità di sostanze nutritive e trofiche presenti nell'ecosistema intestinale e mantengono il loro proprio habitat amministrando e consumando il più possibile le risorse disponibili. Infine, i batteri residenti possono inibire la crescita dei loro competitori producendo sostanze ad azione antimicrobica locale, chiamate "batteriocine". La capacità di sintetizzare batteriocine da parte del microbiota intestinale è ampiamente distribuita nell'intero tratto gastrointestinale ed è una peculiarità di diversi generi e specie batteriche. I ceppi batterici che producono batteriocine sono detti "colicinogeni" e sono resistenti agli effetti tossici delle stesse batteriocine che producono; la capacità di sintesi è geneticamente determinata, per cui si trasmette nello stesso ceppo nel corso di repliche successive. L'ospite può in parte controllare la produzione di tali sostanze poiché si tratta per lo più di composti peptidici degradabili dalle proteasi intestinali e tale catabolismo avviene per solito se la concentrazione endoluminale di batteriocine è eccessiva e potenzialmente lesiva per l'epitelio ¹⁴.

Il microbiota nel tratto intestinale regola la risposta immune sistemica locale influenzando lo sviluppo e la reattività del tessuto linfoide associato intestinale (GALT) fin dall'età infantile ¹⁵. La colonizzazione microbica precoce determina lo sviluppo dei meccanismi immuni umorali, legati alla produzione locale di IgA secretorie e di IgM, particolarmente importanti nella fase precoce della risposta immune e per lo sviluppo di tolleranza alimentare. L'equilibrio delle differenti sottopopolazioni di linfociti T-helper (Th) è cruciale. Dopo il riconoscimento dell'antigene ("priming"), i linfociti B e Th attivati migrano e proliferano attivamente, con

produzione locale di citochine e di IgA. Il priming dell'antigene determina, da parte dei Th attivati, la produzione "a cascata" di citochine diverse, in grado di determinare due tipi di risposta immunitaria, a impronta prevalentemente pro-infiammatoria, e quindi potenzialmente nociva, o antinfiammatoria (Th1/Th2). Il GALT deve ottemperare a due funzioni apparentemente contrastanti: deve essere tollerante nei confronti del microbiota luminale sovrastante e impedire l'induzione di una risposta immunitaria esuberante e, al tempo stesso, controllarne la crescita eccessiva ed evitare la traslocazione batterica dal lume alla mucosa con la possibile disseminazione sistemica. Il ruolo centrale del microbiota nello sviluppo delle difese immunitarie mediate dal GALT non è sorprendente, considerando che la mucosa intestinale rappresenta la più grande superficie di contatto con gli antigeni dell'ambiente esterno e che la microflora residente che ricopre la mucosa del GIT rappresenta normalmente la maggior parte degli antigeni presentati alle cellule immuni residenti¹⁶.

Negli ultimi anni numerose evidenze hanno messo in risalto il ruolo potenziale del microbiota nell'eziopatogenesi di malattie diverse, con interessanti possibili ricadute terapeutiche¹⁷.

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD), ad esempio, sono caratterizzate da una risposta immunitaria anomala nei confronti di antigeni endoluminali e del microbiota stesso, che determina e auto-mantiene un quadro di flogosi cronica tissutale. L'estrema conseguenza del subset infiammatorio con risposta immune alterata può essere lo sviluppo del cancro associato alle IBD.

Il ruolo del microbiota nella patogenesi della sindrome del colon irritabile (IBS) e nel determinismo dei sintomi e della loro severità deve ancora essere chiarito, ma studi recenti hanno chiarito che fino al 50% delle IBS può essere indotto da un episodio isolato di gastroenterite tossinfettiva in grado di determinare sia alterazioni qualitative e quantitative nella flora come pure disfunzione immune.

Recentemente è stato postulato che cambiamenti qualitativi nel microbiota intestinale, con sviluppo di una flora in grado di degradare maggiormente le sostanze nutrienti assorbibili, sono implicati nella patogenesi dell'obesità e della sindrome metabolica associata alla steato-epatite non alcolica.

Proprietà dei probiotici e usi terapeutici

L'incremento nel microbiota intestinale di alcune specie batteriche considerate "favorevoli" alla salute dell'organismo, quali *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, è correlato con una riduzione dell'incidenza e severità di una serie di disordini a carico del GIT. Secondo la definizione ufficiale di FAO (Organizzazione per l'alimentazione e l'agricoltura delle Nazioni Unite) e OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità)¹⁸, i probiotici sono "organismi vivi che, somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell'ospite". Il termine probiotico significa "a favore della vita" (dalla particella latina *pro*, a favore di, e dall'aggettivo greco *biotikos*, da *bios*, vita). In questo senso, il concetto di probiotico nasce molto prima della sua definizione: nel 1908 il biologo russo Elie Metchnikoff propose la tesi che la longevità dei pastori bulgari e caucasici (cioè la frazione della popolazione che arrivava a cento anni) dipendesse dal consumo massiccio di yogurt. Le ottimistiche conclusioni dello scienziato russo ebbero il merito di attirare l'attenzione della comunità scientifica internazionale sui batteri presenti nello yogurt, i cosiddetti fermenti lattici, anche se questi non possono essere considerati tutti strettamente probiotici.

Per definizione, sono probiotici quei microrganismi non patogeni (batteri o lieviti) del microbiota che, se somministrati per via orale, possono replicare e colonizzare il GIT in numero sufficiente per determinare effetti benefici per l'ospite. Affinché un microrganismo possa definirsi probiotico deve essere di origine umana, resistere all'acidità dello stomaco e all'azione della bile, sopravvivere nel tratto gastrointestinale e aderire alla mucosa riproducendosi, essere perfettamente tollerabile e avere effetti benefici per la salute antagonizzando i microrganismi patogeni e producendo sostanze antimicrobiche. Le recenti linee guida sui probiotici emanate dal Ministero della Salute nel 2011 prevedono che, sulla base della letteratura disponibile, la quantità sufficiente per ottenere una temporanea colonizzazione dell'intestino da parte di un ceppo di probiotico sia di almeno 10^9 cellule vive. Tale quantità di cellule deve essere presente nella quantità di assunzione giornaliera dell'alimento/integratore per almeno un ceppo fra quelli presenti nel prodotto. Non si ritiene

necessaria una caratterizzazione a livello di ogni singolo ceppo della sicurezza di ceppi che appartengano a specie per cui sia disponibile un sufficiente corpo di conoscenze, unica eccezione riguarda la determinazione del profilo delle antibiotico-resistenze che andrà valutato per ogni singolo ceppo microbico utilizzato, al fine di escludere la presenza di antibiotico resistenze (antibatteriche o antimicotiche, a seconda dei casi) acquisite e anche solo potenzialmente trasmissibili.

Le specie batteriche con caratteristiche probiotiche riconosciute secondo i criteri sopra esposti sono ancora molto poche e comprendono alcuni ceppi di *Lactobacillus*, di *Bifidobacterium* e di *Streptococcus*, mentre il solo lievito probiotico usato attualmente è il *Saccharomyces Boulardii*; peraltro l'evoluzione delle tecnologie che consentono di tipizzare e di manipolare geneticamente le specie microbiche consentiranno, in un prossimo futuro, di ampliarne la disponibilità¹⁹.

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, l'angiogenesi e la 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 di malattia a livello del GIT. I processi apoptotici in condizioni di normale salute mantengono un equilibrio fra proliferazione e degenerazione cellulare, mentre un'apoptosi incontrollata può de-

terminare danno tessutale indotto da sostanze tossiche rilasciate da un eccesso di cellule in degenerazione²⁰.

I probiotici esercitano effetti positivi sull'immunità mucosale 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. I)²¹.

I probiotici rappresentano un approccio terapeutico-nutrizionale economico, sicuro, esente da effetti collaterali negativi a lungo termine e di sperimentata efficacia nel trattamento di malattie immunologiche, digestive e respiratorie²².

TABELLA I MECCANISMO D'AZIONE DEI PROBIOTICI

Inibizione di microrganismi patogeni

- Riduzione del pH intraluminale
- Secrezione di batteriocine
- Competizione alimentare
- Competizione per loci di adesione epiteliale

Miglioramento della barriera epiteliale e mucosa

- Aumento della sintesi e secrezione di IgAs
- Stimolazione della secrezione di mucine
- Aumento della produzione di SCFA
- Stabilizzazione delle *tight junctions*

Controllo dei meccanismi di omeostasi cellulare

- Aumento della sintesi di citochine antinfiammatorie
- Riduzione della sintesi di citochine proinfiammatorie
- Ridotta induzione di apoptosi cellulare

IgAs: immunoglobuline A secretorie; SCFA: acidi grassi a catena corta

TABELLA II IMPIEGO TERAPEUTICO DEI PROBIOTICI	
IN ETÀ PEDIATRICA	IN ETÀ ADULTA
<p>Sostenuti da trial clinici</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diarrea acuta infettiva • Diarrea da antibiotici • Allergia intestinale • Intolleranza al lattosio • Enterocolite necrotizzante 	<p>Sostenuti da trial clinici</p> <ul style="list-style-type: none"> • Diarrea acuta infettiva • Diarrea da antibiotici • Infezione da <i>Clostridium difficile</i> • Diarrea del viaggiatore • IBD e <i>pouchite</i> • Sindrome del colon irritabile <p>Suggeriti da trial clinici</p> <ul style="list-style-type: none"> • NAFLD/NASH e obesità • Dislipidemia • Diverticolosi colica • Stipsi cronica
<p>IBD: malattia infiammatoria cronica intestinale; NAFLD/NASH: steatosi semplice e steatoepatite non alcolica</p>	

L'efficacia terapeutica dei probiotici è stata valutata in studi clinici randomizzati e controllati per diverse patologie del GIT, sia in ambito pediatrico che nell'adulto (Tab. II). Una dettagliata disamina delle diverse indicazioni cliniche e delle evidenze scientifiche che sostengono l'uso dei probiotici non è l'obiettivo di questo articolo e si rimanda pertanto il lettore a revisioni di letteratura specifiche e approfondite²³⁻²⁵.

Tuttavia, merita qui considerare che la somministrazione di specie probiotiche non sortisce il medesimo effetto in patologie diverse e in differenti fasce di età. Recenti dati clinici dimostrano che ceppi specifici di *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* non sono ugualmente efficaci nel trattamento della stessa patologia, che ciascuno di essi può avere diversi meccanismi di azione e che le caratteristiche dell'organismo ospite possono essere fondamen-

tali per definire l'efficacia di una determinata specie batterica e perfino di un singolo ceppo probiotico in diverse patologie. La risposta a ceppi diversi di probiotici, in termini di riduzione dell'infiammazione e controllo dei sintomi è assai variabile sia in modelli sperimentali animali di infiammazione colica che in pazienti affetti da IBD^{26 27}.

Ceppi diversi di *Bifidobacterium* mostrano un'efficacia superiore nel controllo dei sintomi nei pazienti sia con IBD che con IBS ed esercitano una risposta con produzione di citochine ad azione antinfiammatoria più intensa^{28 29}, mentre *Lactobacillus* mostra un'azione molto più spiccata in subset immunologici caratterizzati da una più marcata iperergia, quali l'allergia alimentare e l'intolleranza al lattosio, mostrando inoltre una più spiccata attività in età pediatrica e infanto-giovanile^{30 31}.

Conclusioni e prospettive future

Le attuali conoscenze sul microbiota intestinale dimostrano che non è "un organo silenzioso" o semplicemente un insieme di microrganismi ospiti; le comunità microbiche intestinali sono invece partecipi attivi a tutti i meccanismi che connotano l'immunità e i processi digestivi dei mammiferi.

Sono ormai molto numerose le evidenze che indicano un'efficacia reale dei probiotici in malattie diverse, non solo del GIT, e non è più lecito considerare la somministrazione orale di un probiotico come una forma aspecifica e coadiuvante di terapia, ma molti sforzi devono ancora essere dedicati allo studio delle proprietà che caratterizzano le singole specie e ceppi batterici, anche con riferimento ai sottotipi fenotipici e genetici dei pazienti e alle differenti patologie. Questo sforzo è anche necessario per chiarire se la somministrazione di preparazioni contenenti più ceppi probiotici abbiano efficacia superiore a quelle che ne contengono uno solo, non potendo escludere, a oggi, che ceppi batterici diversi possano avere azione non sinergica, ma di mutua esclusione³².

La ricerca sperimentale e clinica sui diversi ecosistemi nei mammiferi, insieme alle indagini genetiche che rendono possibile un'accurata tipizzazione e tassonomia dei filum batterici del

microbiota renderanno disponibili nuovi probiotici con caratteristiche specifiche e meccanismi d'azione ben definiti e studiati per determinate patologie. Nello stesso tempo, la ricerca sui probiotici può condurre a una più vasta conoscenza sulla fisiologia e la fisiopatologia del GIT. Certamente anche la ricerca in campo di tecnica farmaceutica potrà apportare sostanziali novità nella terapia con probiotici e, attualmente, gli sforzi maggiori sono rivolti alla possibilità di ottenere preparazioni a rilascio controllato del ceppo probiotico, così da renderlo disponibile alle massime concentrazioni possibili solo nei siti del GIT ove effettivamente può esercitare un'azione benefica nelle diverse patologie³³.

Bibliografia

- ¹ Dethlefsen L, Fall-Ngai M, Relman DA. *An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease.* Nature 2007;449:811-8.
- ² Xu J, Gordon JL. *Inaugural article: honor thy symbionts.* Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:10452-9.
- ³ Zoetendal EG, Vaughan EE, de Vos WM. *A microbial world within us.* Mol Microbiol 2006;59:1639-50.
- ⁴ Zoetendal EG, von Wright A, Vilponen-Salmela T, et al. *Mucosal-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from the feces.* Appl Environ Microbiol 2002;68:3401-7.
- ⁵ Zoetendal EG, Akkermans AD, de Vos WM. *The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract.* Microb Ecol Health Dis 2001;13:129-34.
- ⁶ Palmer C, Bik EM, Digiulio DB, et al. *Development of the human infant intestinal microbiota.* PLoS Biol 2007;5:1556-73.
- ⁷ Lee YK, Mazmanian SK. *Mazmanian. Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system?* Science 2007;330:1768-73.
- ⁸ Hawrelak JA, Myers SP. *The causes of intestinal dysbiosis: a review.* Altern Med Rev 2004;9:180-97.
- ⁹ Wong JMW, Jenkins DJ. *Carbohydrate digestibility and metabolic effects.* J. Nutr 2007;137:2539S-4S.
- ¹⁰ Canani RB, Costanzo MD, Leone L, et al. *Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases.* World J Gastroenterol 2011;17:1519-28.
- ¹¹ Vrieze A, Holleman F, Zoetendal EG, et al. *The environment within: how gut microbiota may influence metabolism and body composition.* Diabetologia 2010;53:606-13.
- ¹² Oelschlaeger TA. *Mechanisms of probiotic actions - A review.* Int J Med Microbiol 2010;300:57-62.
- ¹³ Rescigno M. *The intestinal epithelial barrier in the control of homeostasis and immunity.* Trends Immunol 2011;32:256-64.
- ¹⁴ Montalbán-López M, Sánchez-Hidalgo M, Valdivia E, et al. *Are bacteriocins underexploited? Novel applications for old antimicrobials.* Curr Pharm Biotechnol 2011;12:1205-20.
- ¹⁵ Mason KL, Huffnagle GB, Noverr MC, et al. *Overview of gut immunology.* Adv Exp Med Biol 2008;635:1-14.
- ¹⁶ Pimentel M, Chang C. *Inflammation and microflora.* Gastroenterol Clin North Am 2011;40:69-85.
- ¹⁷ Guarner F, Malagelada JR. *Gut flora in health and disease.* Lancet 2003;361:512-9.
- ¹⁸ Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, et al. *The intestine and its microflora are*

- partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium "The Intelligent Intestine"*. Am J Clin Nutr 2003;78:675-83.
- ¹⁹ Aires J, Butel MJ. *Proteomics, human gut microbiota and probiotics*. Expert Rev Proteomics 2011;8:279-88.
- ²⁰ Patel RM, Lin PW. *Developmental biology of gut-probiotic interaction*. Gut Microbes 2010;1:186-95.
- ²¹ Ohland CL, Macnaughton WK. *Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2010;298:G807-19.
- ²² Sanders ME, Akkermans L, Haller D et Al. *Safety assessment of probiotics for human use*. Gut Microbes 2010;1:3, 164-185.
- ²³ Indrio F, Neu J. *The intestinal microbiome of infants and the use of probiotics*. Curr Opin Pediatr 2011;23:145-50.
- ²⁴ Limdi JK, O'Neill C, McLaughlin J. *Do probiotics have a therapeutic role in gastroenterology?* World J Gastroenterol 2006;12:5447-57.
- ²⁵ Lata J, Jurankova J, Kopacova M, et al. *Probiotics in hepatology*. World J Gastroenterol 2011;17:2890-6.
- ²⁶ Cain AM, Karpa KD. *Clinical utility of probiotics in inflammatory bowel disease*. Altern Ther Health Med 2011;17:72-7.
- ²⁷ Meijer BJ, Dieleman LA. *Probiotics in the treatment of human inflammatory bowel diseases: update 2011*. J Clin Gastroenterol 2011;45(Suppl):S139-44.
- ²⁸ Sheil B, Shanahan F, O'Mahony L. *Probiotic effects on inflammatory bowel disease*. J Nutr 2007;137(Suppl 2):819S-24S.
- ²⁹ Dughera L, Elia C, Navino M, et al. *Effects of symbiotic preparations on constipated irritable bowel syndrome symptoms*. Acta Biomed 2007;78:111-6.
- ³⁰ Vanderhoof JA, Mitmesser SH. *Probiotics in the management of children with allergy and other disorders of intestinal inflammation*. Benef Microbes 2010;1:351-6.
- ³¹ Ozdemir O. *Various effects of different probiotic strains in allergic disorders: an update from laboratory and clinical data*. Clin Exp Immunol 2010;160:295-304.
- ³² Chapman CM, Gibson GR, Rowland I. *Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains?* Eur J Nutr 2011;50:1-17.
- ³³ Del Piano M, Carmagnola S, Ballarè M, et al. *Is microencapsulation the future of probiotic preparations? The increased efficacy of gastro-protected probiotics*. Gut Microbes 2011;2:120-3.

Finito di stampare nel mese di Febbraio 2012
presso le Industrie Grafiche della Pacini Editore S.p.A.
Via A. Gherardesca • 56121 Ospedaletto • Pisa
Telefono 050 313011 • Telefax 050 3130300
www.pacinimedica.it

