UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II
SCUOLA DI MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI FARMACIA

CORSO DI LAUREA TRIENNALE
IN SCIENZE NUTRACEUTICHE

TESI DI LAUREA IN
FISIOLOGIA DELLA NUTRIZIONE

# ANTUR IMMUNO 1: UN APPROCCIO NUTRACEUTICO PER IL TRATTAMENTO DELLA DISBIOSI INTESTINALE

# ANTUR IMMUNO 1: A NUTRACEUTICAL APPROACH FOR THE TREATMENT OF INTESTINAL DYSBIOSIS

RELATORE
PROF LIPPIELLO PELLEGRINO

CANDIDATA
ARIANNA ROSIELLO
MATR. P06000907

TUTOR AZIENDALE
DOTT.SA MARIALUISA CONZA

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

Ai miei genitori, al loro costante sostegno, silenzioso ma tenace,
e ai loro insegnamenti senza i quali oggi non sarei ciò che sono.
Siete i pilastri della mia vita.

A Teresa e Giuseppe, il mio porto sicuro e il mio faro nella tempesta. Grazie per essere da sempre i miei primi sostenitori e anche se non ve l'ho mai detto, io sono la vostra. Noi così simili e così diversi, un solo cuore diviso in tre.
Siete la parte migliore della mia anima.

A VOI dedico tutto, immensamente vi amo.

**INDICE**

**CAPITOLO 1: APPARATO INTESTINALE**

1.1 COMPONENTI E FUNZIONI APPARATO INTESTINALE

1.2 MICROBIOTA INTESTINALE E FUNZIONI

1.3 DISTURBI GASTROINTESTINALI

**CAPITOLO 2: DISBIOSI INTESTINALE**

2.1 CARATTERISTICHE E DIAGNOSI

2.2 ALIMENTAZIONE E DISBIOSI

2.3 PROBIOTICI E PREBIOTICI

2.4 MICROBIOTA E INFIAMMAZIONE

**CAPITOLO 3: ANTUR-IMMUNO 1**

3.1 FORMULAZIONE E ALLESTIMENTO INTEGRATORE

**CAPITOLO 4: CONCLUSIONI**

# CAPITOLO 1

## *1.1 Componenti e funzioni apparato intestinale*

Il sistema gastrointestinale è responsabile della digestione e dell'assorbimento del cibo e dei liquidi ingeriti: per realizzare i processi digestivi in modo coordinato, il tratto gastrointestinale dispone di un'anatomia funzionale che è adatta a tale funzione. Il tratto gastrointestinale umano è composto da diversi organi e può essere diviso in tratto gastrointestinale superiore e inferiore. Il tratto gastrointestinale superiore comprende bocca, esofago, stomaco, duodeno, digiuno e ileo, mentre colon, retto e ano compongono il tratto gastrointestinale inferiore. La digestione e l'assorbimento dei nutrienti comincia dalla bocca: infatti, nel momento in cui ingeriamo gli alimenti, la saliva favorisce la disgregazione degli alimenti grazie a numerosi enzimi digestivi quali quali α-amilasi, lipasi e callicreina. In questa prima fase si viene a formare il bolo alimentare che viene poi spinto verso lo stomaco attraverso l'esofago: quest'organo ha una forma cilindrica, lungo circa 25-30-35 cm e con una larghezza di 2–3 cm negli individui adulti, che si estende dalla faringe allo stomaco e favorisce, mediante un movimento altamente coordinato definito peristalsi esofagea (*Gelberg, 2014*), l'arrivo del cibo nello stomaco. Lo stomaco invece è un organo localizzato nella parte sinistra della zona superiore dell'addome: dal punto di vista anatomico può essere considerato un allargamento, dalla forma a sacco, del tubo digerente. Lungo circa 25-28 cm e largo 10-12 cm, è una struttura elastica che può variare in forma e in dimensioni a seconda del cibo presente al suo interno: ciò è reso possibile dalle pliche ripiegate che ne compongono la parete. Quest'ultima è formata da tre strati o tonache: la mucosa gastrica, la tonaca muscolare e la tonaca sierosa: la mucosa gastrica che si trova nello strato più interno secerne i succhi gastrici e crea l'ambiente acido tipico dello stomaco; segue la tonaca muscolare che contraendosi permette il rimescolamento del cibo e infine la tonaca sierosa che avvolge completamente l'organo. Lo stomaco è suddiviso nelle seguenti parti: il fondo (la parte superiore, detta piccola curvatura), il corpo (la parte centrale che funge da serbatoio per il cibo deglutito), l'antro cardiale e l'antro pilorico (che corrispondono, rispettivamente, alla zona vicina alla valvola cardiale e a quella vicina allo sfintere piloro). Il canale attraverso cui l'esofago si congiunge allo stomaco è detto cardias, mentre l'orifizio che mette in comunicazione stomaco e duodeno è detto piloro. La zona inferiore è detta grande curvatura dello stomaco, al cui interno ci sono diversi tipi di cellule

con funzioni specifiche, tra queste ci sono le cellule parietali che producono la pepsina, enzima deputato all'idrolisi delle proteine, gastrina, grelina, somatostatina e HCl, che rende l'ambiente acido, ostacolando la colonizzazione di molti agenti patogeni. Una volta nello stomaco, il bolo alimentare viene miscelato con acido gastrico e gli enzimi digestivi cooperano per scomporlo ulteriormente. Il cibo digerito, definito chimo, passa attraverso lo sfintere pilorico nel duodeno. Una volta nell'intestino tenue, i nutrienti contenuti negli alimenti vengono degradati in proteine, grassi e carboidrati nei loro precursori, per consentire l'assorbimento dei nutrienti. L'intestino tenue rappresenta la porzione più sviluppata in lunghezza dell'intestino: lungo circa 7 metri, si divide in tre porzioni chiamate duodeno, digiuno e ileo. La mucosa che ne riveste le pareti interne dell'intestino è ricoperta da una struttura molto importante chiamata villi intestinali, responsabili dell'assorbimento dei nutrienti introdotti attraverso il cibo. Nel momento in cui il contenuto del lume raggiunge l'intestino crasso, tali prodotti di scarto, definite feci, vengono preparate per l'espulsione attraverso il retto e il canale anale (Figura 1). Le principali funzioni del tratto gastrointestinale sono la motilità, la secrezione e l'assorbimento: La motilità intestinale è sotto molteplici livelli di controllo compresi il sistema nervoso enterico e il sistema nervoso centrale, nonché gli ormoni gastrointestinali e gli agenti paracrini. In generale, ci sono due modelli distinti di motilità dell'intestino tenue: il primo caratterizza i momenti successivi al pasto, quando il lume intestinale contiene chimo; il secondo caratterizza la fase interdigestiva. Durante la fase digestiva la muscolatura liscia longitudinale e circolare del tratto gastrointestinale genera modelli coordinati di contrattilità chiamati peristalsi e segmentazione. La peristalsi si verifica in ondate di contrazione e rilassamento mentre la segmentazione riguarda un meccanismo di contrattilità più irregolare, affinché il contenuto luminale e gli enzimi digestivi abbiano un contatto adeguato con il cibo all'interno del lume intestinale. Durante la fase interdigestiva, invece, un modello complesso di motilità chiamato complesso motorio migrante (MMC) si estende lungo l'intero intestino tenue per pulire il tratto gastrointestinale da eventuali detriti luminali rimanenti. Una funzione importante dell'epitelio intestinale è il suo ruolo protettivo, in quanto funge da barriera tra l'ambiente extracellulare e intracellulare (*Smith et al., 2007*). In condizioni fisiopatologiche, gli aumenti della permeabilità epiteliale consentono a tossine, antigeni di attraversare la barriera epiteliale e attivare le terminazioni nervose afferenti che inducono la sensibilizzazione afferente viscerale.

Quest'ultima è importante poiché diverse malattie umane, tra cui la celiachia e la sindrome del colon irritabile (IBS), sono state associati ad un aumento della permeabilità intestinale e ad una funzione di barriera anomala (*Duncam et al., 2004*). All'interno della parete intestinale è contenuto il sistema nervoso enterico, che comprende neuroni sensoriali, motoneuroni e un numero complesso di interneuroni, i quali consentono la trasmissione dell'informazione al tratto gastrointestinale. Le informazioni sensoriali vengono trasmesse dal tratto gastrointestinale al tronco encefalico e al midollo spinale. All'interno del tratto gastrointestinale, i nocicettori estrinseci possono rispondere a stimoli multimodali, inclusi pH, prodotti batterici, sostanze rilasciate dalle cellule immunitarie e neurotrasmettitori; il segnale nocicettivo viene poi trasmesso al midollo spinale e i segnali dolorifici raggiungono il cervello attraverso il tratto spinotalamico e la colonna dorsale. Il tratto gastrointestinale presenta, inoltre, un complesso sistema immunitario della mucosa, innato e adattivo, in grado di monitorare il contenuto luminale per una vasta gamma di antigeni e agenti patogeni potenzialmente tossici. Insieme, le cellule del GALT svolgono un ruolo sia innato che adattativo immunità e sono fondamentali per il mantenimento dell'omeostasi immunitaria nell'intestino (*Cerf-Bensussan et al., 2010*).

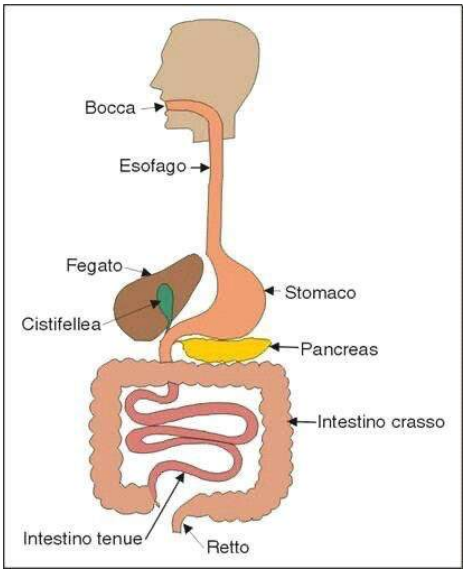


**Figura 1**: Anatomia apparato gastro-intestinale

## 1.2 Microbiota e funzioni

L'apparato gastrointestinale è importante per l'assorbimento dei nutrienti e funziona come una barriera fisica e biochimica contro antigeni di origine alimentare e microrganismi patogeni. Lo sviluppo di queste funzioni protettive è stimolato dalla colonizzazione di batteri commensali (*Nishikawa et al., 2009*). L'insieme dei microrganismi che vivono in pacifica coesistenza con il loro ospite umano viene definito "microbiota": quest'ultimo colonizza virtualmente ogni superficie del corpo umano che sia esposta all'ambiente esterno e la sua composizione è stata estensivamente studiata negli ultimi anni. I batteri residenti rappresentano una prima linea di resistenza cruciale contro la colonizzazione sia da parte di microbi esogeni e sia da parte di agenti patogeni. Gli esseri umani nascono in uno stato praticamente quasi privo di germi; poco dopo, vari microrganismi derivanti dalla madre o dall'ambiente iniziano a stabilirsi in molti punti del corpo, in particolare nell'intestino: la colonizzazione batterica nel tratto intestinale è correlata ad un corretto sviluppo e ad una condizione di salute. Studi dimostrano che i microrganismi colonizzatori stimolano la maturazione del tessuto intestinale, il metabolismo dell'ospite e l'assorbimento dei nutrienti, e rafforzano i sistemi di protezione dell'ospite come la produzione di muco e IgA secretorie (*Rajili´c-Stojanovi´c and de Vos, 2014*). Nell'intestino umano sono presenti ben 1000 specie di microrganismi, tra cui l'Escherichia coli e l'Enterococcus, rilevati per la prima volta subito dopo la nascita; invece, durante l'allattamento, i Bifidobatteri e Lattobacilli dominano l'intestino. La composizione del microbiota intestinale è influenzata da molti fattori compreso il sistema immunitario dell'ospite, la genetica e l'ambiente (*Mitsuoka et al., 1965*). La colonizzazione di alcuni commensali, come Bacteroides e Bifidobacterium, è stato dimostrato sia in grado di fortificare la barriera intestinale, stimolando l'espressione di sostanze antibatteriche e molecole di adesione intercellulare e sopprimendo l'infiammazione, modulando la trasduzione dei segnali infiammatori o attivando cellule T regolatorie (*Bhargava et al., 2020*). Infatti, la colonizzazione microbica favorisce 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. La maggior parte del microbiota intestinale è composta di anaerobi obbligati che superano per numerosità gli anaerobi e gli aerobi facoltativi: questi predominano nella parte inferiore dell'apparato digerente, specialmente nell'intestino crasso, poiché nel tratto piùprossimale la bile e le secrezioni pancreatiche risultano tossiche o poco favorevoli per la crescita della maggior parte dei microrganismi. Analogamente, l'ambiente acido dello stomaco distrugge quasi tutti batteri che lo attraversano, agendo così come prima barriera difensiva verso la contaminazione dall'esterno. (Figura 2) Innumerevoli studi evidenziano nuovi ruoli del microbiota nella patogenesi di un numero di malattie e disturbi oltre a mettere in luce il microbiota intestinale come strumento ad uso terapeutico. Questi studi hanno rivelato molte funzioni del microbiota intestinale, che vanno dalla modulazione immunitaria (*Round and, Mazmanian, 2009*) alla fermentazione dei nutrienti (*Turnbaugh et al., 2006*): La variabilità di specie 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. In particolare, la fermentazione dei carboidrati, quali amidi, cellulosa, pectine ed emicellulosa, favorisce la produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA) che esercitano, nel lume intestinale, una potente azione trofica ed energetica. Gli SCFA includono acido acetico, propionico, butirrico e isobutirrico: questi stimolano la proliferazione e la differenziazione delle cellule epiteliali. Inoltre, il butirrato ha una potente azione antinfiammatoria. Anche il metabolismo anaerobico dei peptidi e delle proteine 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 quali l'ammoniaca, le poliamine, i fenoli, i tioli e gli indoli. Infatti, 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 (*Mitsuoka et al., 1965).*

Il microbiota svolge altre numerose importanti attività metaboliche, in particolare la sintesi di alcune vitamine e di cofattori enzimatici e contribuisce all'assorbimento del calcio, del magnesio e del ferro. Il microbiota è stato implicato in una varietà di malattie come malattie infiammatorie intestinali e obesità; poiché queste malattie sono spesso legate a disregolazioni intestinali. Infatti, cambiamenti compositivi e funzionali del microbiota intestinale, noti come disbiosi, sono associati ad una serie di conseguenze. Le principali caratteristiche della disbiosi sono: diminuzione della diversità microbica, riduzione o completa perdita di microbi benefici e l'aumento di agenti potenzialmente patogeni ( *Stecher et al., 2013*). La disbiosi potrebbe essere causata da modificazioni genetiche del paziente, condizioni di salute (presenza di eventuali infezioni e/o infiammazioni), stile di vita (mancanza di esercizio fisico, stress) o da fattori ambientali. Il microbiota disbiotico può influenzare il sistema immunitario dell'ospite attraverso una varietà di meccanismi quali la modulazione del recettore Toll-like (TLR), la degradazione di IgA secretorie (*Levy et al., 2017*). Pertanto, il corretto funzionamento del microbiota è vitale per l'omeostasi intestinale (*Routy et al., 2018*).

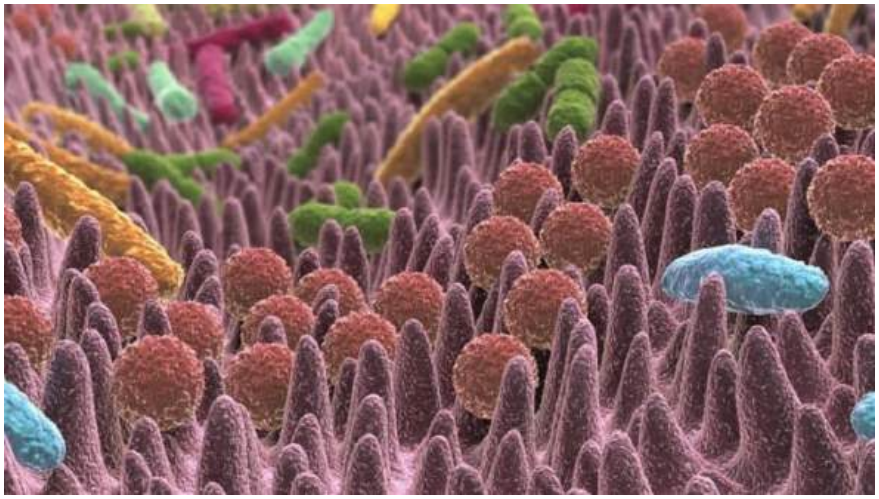

**Figura 2**: Microbiota intestinale

### 1.3 Disturbi gastrointestinali

I disturbi gastrointestinali comprendono tutte le patologie che interferiscono con la funzionalità del tratto gastrointestinale e vengono contraddistinte in patologie della sfera gastrica e quelle della sfera intestinale, anche se in alcuni casi si riscontra una stretta correlazione. Le patologie gastriche sono classificate come acido peptiche, ovvero patologie legate all'alterazione della funzionalità gastrica, dove si riscontrano delle problematiche associate all'acidità. Troviamo:

- Reflusso esofageo
- Ulcera peptica
- Danno mucoso da stress

Nella maggior parte dei casi si riscontra uno squilibrio sostanziale di quella che è la fisiologia gastrica, che è un processo che vede il coinvolgimento di meccanismi stimolatori, e inibitori, che contribuiscono a garantire a che a livello dello stomaco venga riscontrato il corretto range di pH (5-2). La condizione di equilibrio può venir meno, perché c'è uno spostamento verso quelli che sono i fattori stimolatori, aumenta l'acidità, ma anche ad un aumento di enzimi proteolitici che danneggia la struttura epiteliale. Il danno a tale struttura, che si manifesta con una sintomatologia sporadica, può evolvere verso una condizione più grave, innescando dei meccanismi di cancerogenesi (referenza). Lo stomaco è costituito da numerose cellule:

-le cellule parietali (ossintiche): producono acido cloridrico e fattore intrinseco;

-cellule principali o peptiche: producono pepsinogeno e lipasi gastrica;

-cellule endocrine: producono istamina;

-Cellule (D): producono somatostatina.

La cellula parietale è stimolata dall'acetilcolina, dall' istamina e dalla gastrina: attivano la pompa protonica promuovendo l'acidità. Si determina così la scelta terapeutica più opportuna, quindi se si riscontra una patologia si deve spegnere completamente la pompa, così da consentire al nostrotessuto di riprendere la funzionalità e di rimarginare quello che è il danno.

che vengono associati all'incidenza di questa patologia: l'utilizzo dei fans (farmaci anti-infiammatori non steroidei), fattori ambientali, fattori legati all'emotività, quindi prettamente condizioni di stress, e fattori genetici.

**Reflusso gastroesofageo**: Il reflusso gastroesofageo (Figura 3) è un disturbo fisiologico, occasionale o cronico, determinato dalla risalita dei succhi gastrici nell'esofago. La sintomatologia prevede principalmente: pirosi, rigurgito e dolore toracico, oltre che tosse, disfagia e difficoltà nel deglutire. Il reflusso generalmente è una conseguenza dell'eccesso di introito alimentare: infatti, quando mangiamo molto, lo stomaco stimola il nervo vago e questo rilascia ossido nitrico che favorisce il rilascio della muscolatura e il passaggio di acido. È fondamentale non sottovalutare il reflusso e le sue complicanze, dal momento che la mucosa dell'esofago, durante l'esposizione del materiale acido, attiva una serie di meccanismi difensivi che favoriscono un fenomeno definito metaplasi. L'espressione più grave di questo fenomeno è il cosiddetto 'esofago di Barrett', una lesione che predispone all'evoluzione in cancro dell'esofago. Il primo approccio riguarda alcune correzioni delle abitudini alimentari quali: evitare pasti abbondanti, alimenti piccanti, caffeina e sostanze gassate. Per quanto riguarda la cura farmacologica, sono molto utilizzati gli inibitori di pompa che bloccano la secrezione acida, oppure gli 'antiacidi', che hanno la funzione di neutralizzare l'acido gastrico, e i 'procinetici' che aumentano la mobilità delle pareti dell'esofago e dello stomaco favorendone lo svuotamento.

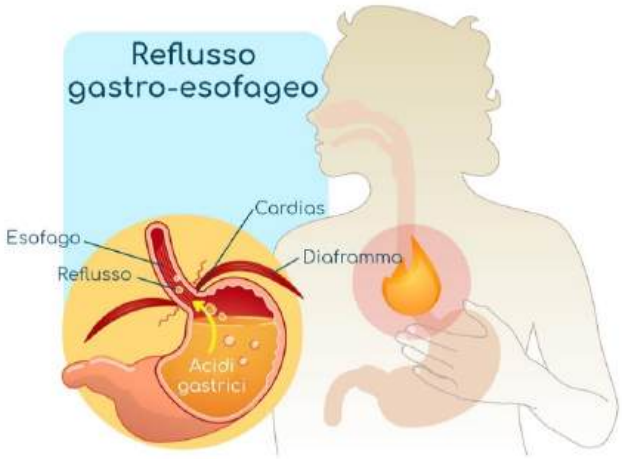


**Figura 3**: Reflusso gastroesofageo

**Ulcera peptica**: è un'erosione profonda del rivestimento interno che può coinvolgere lo stomaco (ulcera gastrica) o il duodeno (ulcera duodenale), con conseguente condizione di perforazione. La causa principale è l'infezione da Helicobacter Pylori ma anche l'utilizzo di antinfiammatori. Si manifesta principalmente con dolori a digiuno dopo mangiato, oltre che nausea, vomito e inappetenza. (Figura 4) L'ulcera può, in casi gravi, dar luogo a sanguinamento e provocare una condizione di ematemesi. Anatomicamente appare come un cratere bianco che è possibile visualizzare mediante endoscopia. L'approccio terapeutico inizialmente era quello di attenuare esclusivamente quella che era la sintomatologia, ma con la scoperta dell'elemento causale, è stata individuata la terapia antibatterica più opportuna, che prevede l'utilizzo di specifici antibiotici. Anche il problema della diagnosi di questa infezione, è stato risolto, perché non si ricorre più ad una gastroscopia, bensì c'è la possibilità di individuare l'infezione attraverso l'analisi delle feci.

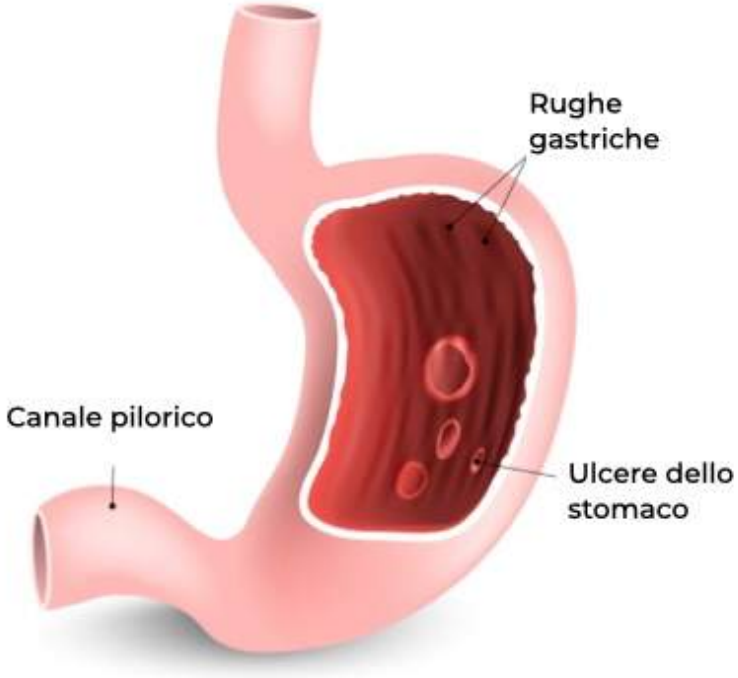


**Figura 4**: Ulcera peptica

**Dispepsia funzionale**: disturbo del movimento e della sensibilità dello stomaco caratterizzato da sintomi fastidiosi come dolore epigastrico, ripienezza, sazietà precoce, nausea o vomito. (Figura 5) La dispepsia funzionale è definita dalla presenza di sintomi dispeptici in un paziente con esame obiettivo negativo e normale endoscopia del tratto gastrointestinale superiore e/o altre valutazioni; pertanto, la diagnosi si basa prevalentemente sulla anamnesi (presenza dei sintomi da molti anni e loro accentuazione in corrispondenza di stress emotivi o fisici).

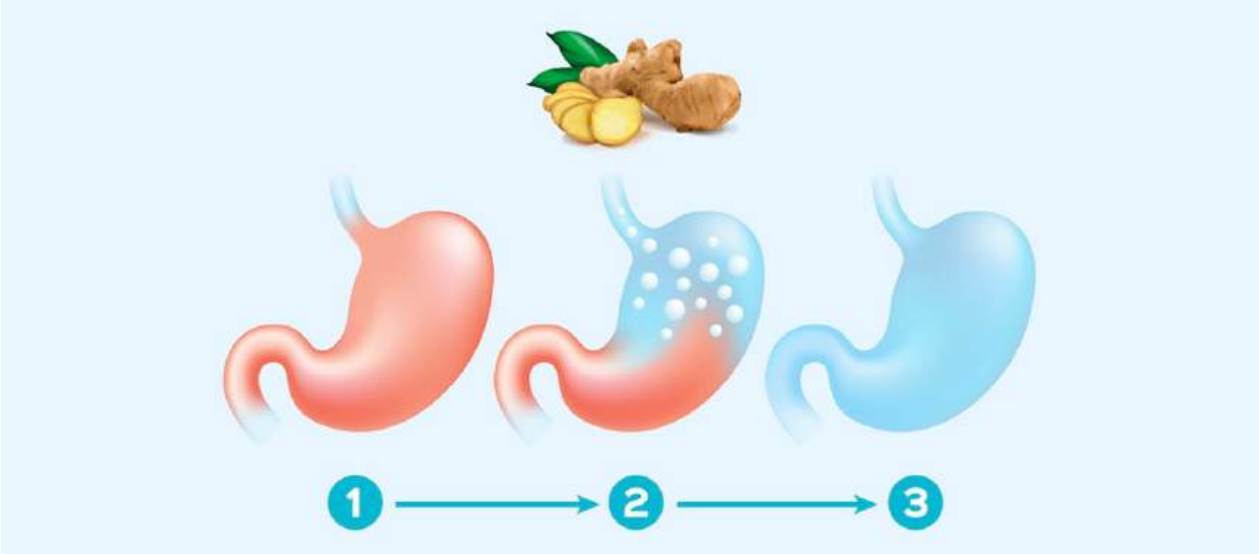


**Figura 5**: Dispepsia funzionale

**Gastrite**: è un'infiammazione dello stomaco e/o della mucosa gastrica che può essere acuta o cronica. La forma acuta è di natura transitoria, accompagnata da emorragia oppure erosione della mucosa: la causa principale è riconducibile all'assunzione di farmaci antinfiammatori, alcool, virus e batteri. La gastrite cronica, invece, si differenzia dall'acuta in quanto persiste per mesi e differisce in superficiale (infiammazione dell'epitelio che riveste la mucosa gastrica) e atrofica (infiammazione di tutti gli strati della mucosa e sottomucosa). La causa principale è l'infezione da Helicobacter pylori, un batterio gram negativo, che si localizza nello stomaco ed è in grado di sopravvivere all'acidità gastrica grazie all'enzima ureasi che tampona l'acidità. Uno dei segni principali di gastrite è l'anemia sideropenica e la trasmissione è prevalentemente oro- fecale o orale. Per diagnosticare la gastrite è necessario effettuare una gastroscopia oppure mediante test delle feci o del respiro che permettono di valutare la presenza dell'enzima ureasi.

Per quanto riguarda le malattie infiammatorie intestinali (IBD), queste sono un gruppo di disturbi multifattoriali caratterizzati da recidive croniche, infiammazioni della parete intestinale ed extra- intestinali (*Kostic et al., 2015*). Le IBD più comuni sono **la malattia di Crohn** (CD) e **la colite ulcerosa** (UC). (Figura 6) Il morbo di Chron può influenzare qualsiasi parte del tratto gastrointestinale, dalla bocca all'ano, ma più comunemente si verifica nell'ileo. Contrariamente, la colite ulcerosa di solito colpisce solo il retto e il colon causando lesioni continue della mucosa e della sottomucosa superficiale, mentre la CD è caratterizzata da lesioni transmurali della parete intestinale (*Vavricka et al., 2015*). I sintomi tipici delle IBD attive sono diarrea, febbre e affaticamento, dolore addominale, sangue nelle feci, scarso appetito e perdita di peso. L'incidenza delle IBD si sta stabilizzando in Nord America e Europa, ma la sua prevalenza continua ad aumentare e l'incidenza è rilevante nei paesi industrializzati (*Ng SC et al.,, 2018*). La patogenesi delle IBD non è ancora del tutto nota, ma l'infiammazione cronica è guidata da una risposta immunitaria disregolata dovuta a componenti del microbioma tra cui batteri, funghi, virus, o protozoi o antigeni alimentari. Nei pazienti con IBD è rilevante la ridotta diversità del microbiota rappresentata principalmente da una diminuzione dell'abbondanza relativa di Firmicutes e un aumento dei Proteobatteri (*Gevers et al., 2014*); inoltre, è evidente una diminuzione dei batteri produttori di acidi grassi

a catena corta (SCFA), come il Faecalibacterium prausnitzii ed il Clostridium cluster, e un aumento dei batteri solfato-riduttori (SRB), dei batteri mucolitici ad esempio Ruminococcus gnavus, oltre che l'abbondanza di enteropatogeni quali l'Escherichia coli, Clostridium difficile, Fusobacterium nucleatum(*Strauss et al., 2011*). Studi recenti hanno dimostrato che il microbioma dei pazienti con malattia di Crohn è meno diversificato e più instabile rispetto al microbioma dei pazienti con colite ulcerosa; inoltre, quello CD presenta una maggiore abbondanza di Fusobacterium ed Escherichia e una minore abbondanza di Faecalibacterium. Queste alterazioni compositive hanno diversi effetti: L'idrogeno solforato prodotto da SRB è tossico per le cellule epiteliali intestinali e scatena l'infiammazione e i batteri mucolitici degradano le mucine nell'intestino (*Png CW et al., 2010).*

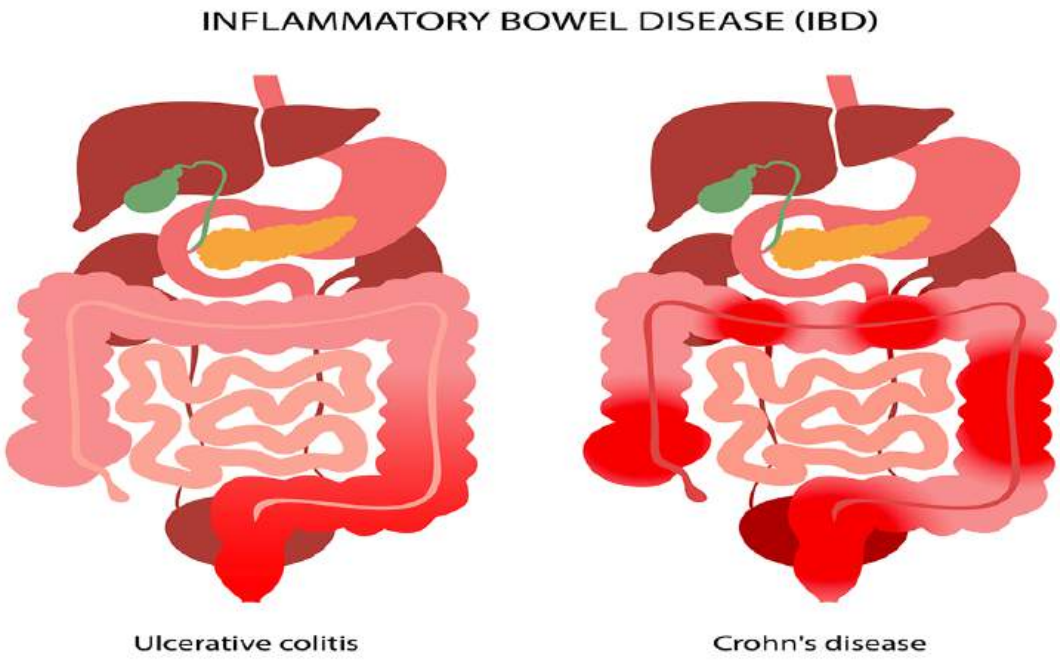


**Figura 6**: Colite ulcerosa Malattia di Crohn

## CAPITOLO 2 DISBIOSI

### *2.1 Disbiosi: Caratteristiche e diagnosi*

L'intestino è una rete complessa e dinamica in cui l'interazione tra l'ospite e il microbiota intestinale stabilisce un rapporto equilibrato e simbiotico. L'omeostasi intestinale si riferisce allo stato di resilienza e resistenza ai disturbi esterni ed endogeni: L'omeostasi intestinale è stabilita e mantenuta dal microbiota commensale, che comprende batteri, eucarioti, archaea, funghi e virus (*Brown et al., 2013*). Il microbiota intestinale può essere considerato come un vero e proprio organo del corpo che contribuisce al benessere dell'organismo ospite. I trilioni di microbi che colonizzano il tratto gastrointestinale influenzano processi locali e sistemici come il metabolismo dei nutrienti, l'apporto di vitamine, la maturazione dell'immunità mucosale, la comunicazione tra intestino e cervello, e persino la progressione tumorale (*Zitvogel L et al., 2015*). Come per altri organi, il corretto funzionamento del microbiota intestinale si basa su una composizione cellulare stabile, che nel caso del microbiota umano è costituita principalmente da batteri appartenenti ai phyla Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria e, in misura minore, Proteobacteria (*Arumugam M et al., 2011).* Grandi spostamenti nel rapporto tra questi phyla o l'espansione di nuovi gruppi batterici portano a uno squilibrio che favorisce le malattie (*Walker AW et al,2011).*

La composizione del microbiota intestinale è influenzata fortemente da diversi fattori, esogeni ed endogeni: quali la dieta, i farmaci ingeriti, la mucosa intestinale, il sistema immunitario e il microbiota stesso. Lo stress ossidativo, l'induzione di batteriofagi e la secrezione di tossine batteriche possono innescare una serie di eventi destabilizzanti: Le tossine batteriche, ad esempio, possono innescare rapidi cambiamenti tra i gruppi microbici intestinali, con conseguente disbiosi. Inoltre, l'enorme variabilità interindividuale nella composizione tassonomica del microbiota tra individui sani attraverso la geografia, l'età e le abitudini alimentari. Spesso, un singolo fattore non è sufficiente per indurre disbiosi, in quanto il microbiota intestinale è in grado di adattarsi alle variazioni; viceversa, le azioni combinate di diversi fattori per contrasto possono favorire alterazioni che determinano l'insorgenza di uno stato patologico. Con il termine disbiosi s'intende un cambiamento strutturale e/o configurazione funzionale del microbiota intestinale, che causa l'interruzione dell'omeostasi intestinale ed è associata a una varietà di malattie, come l'obesità, il diabete, le malattie autoimmuni, i disturbi neurologici, le allergie e le malattie infiammatorie e le malattie infettive (*Gordon et al., 2013*). L'associazione tra firme microbiche e malattie dimostra la potenziale applicazione diagnostica

nel monitoraggio dell'insorgenza e progressione della malattia. La disbiosi presenta tipicamente uno o più dei seguenti elementi:

-Fioritura di patogeni: Membri del commensale microbiota che hanno il potenziale di causare patologie sono stati definiti patobionti 13. Tali batteri sono tipicamente presenti con abbondanze relative basse ma proliferano quando si verificano aberrazioni a livello intestinale. Un esempio tipico di tale espansione della popolazione è la crescita della famiglia batterica delle Enterobacteriaceae, che è frequentemente osservata in infezione e infiammazione enterica (*Stecher et al., 2013*).

-Perdita di commensali: Viceversa alla crescita di patobionti, la disbiosi spesso presenta la riduzione o la completa perdita dei membri normalmente residenti del microbiota, che può essere la conseguenza dell'uccisione da parte di microbi o diminuzione della proliferazione batterica (*Korem et al.,2015*). Inoltre, anche i batteri commensali si sono rivelati efficaci contro particolari condizioni, come nel caso dell'infiammazione indotta da Clostridium difficile, che è stata migliorata dalla colonizzazione con Clostridium scindens (*Buffie et al., 2015*). Tali studi suggeriscono che la ricostituzione mirata del microbiota potrebbe essere un modo efficace per sfruttare la nostra comprensione dell'associazione tra disbiosi e malattia (*Sonnenburg et al., 2016*).

-Perdita di diversità: Una caratteristica ricorrente della disbiosi associata alla malattia è una riduzione della diversità microbica. La composizione microbica aumenta durante i primi anni di vita, ed è influenzata da molteplici fattori quali l'alimentazione e lo stress.

Data la definizione di disbiosi come distinto stato microbico che è causalmente legato alla manifestazione, diagnosi o trattamento di un particolare malattia, è fondamentale considerare i meccanismi che la determinano: La dieta ha un considerevole impatto a breve termine e a lungo termine sulla composizione microbica, cosi' come anche la genetica dell'ospite è coinvolta. Uno dei fattori rilevanti è anche la trasmissione familiare, in particolare quella del microbiota materno, il quale modella i microbiomi individuali (*Koenig et al., 2011*). (Figura 7) Sono stati suggeriti molti altri fattori in grado di determinare la disbiosi, inclusa l'interruzione circadiana, la dieta materna ricca di grassi, gravidanza e lesioni fisiche (*Kigerl et al., 2016).*

La disbiosi si manifesta principalmente con dolore addominale, gonfiore, meteorismo, flatulenza, diarrea o stitichezza. L'irritazione causata dalla disbiosi, infatti, può portare a disturbi legati alla digestione e ad alcune intolleranze alimentari indirette, ossia a quelle non direttamente

legate a un uno specifico alimento. Per quanto riguarda la diagnosi della disbiosi, è possibile effettuare un test su un campione di urine: Tale esame consiste nella quantizzazione di due sostanze ovvero lo scatolo e l'indicano. Queste molecole sono metaboliti del triptofano normalmente presenti nelle urine dei soggetti eubiotici (cioè sani) in tracce (4 -20 mg). La flora batterica presente nell'intestino tenue produce enzimi che catalizzano la conversione del triptofano, amminoacido essenziale, in indolo. Poiché l'intestino tenue è scarsamente popolato dalla flora batterica, l'Indicano è presente nelle urine a livelli bassi in individui clinicamente sani. Un elevato livello di Indicano urinario è indice di disbiosi a livello dell'intestino tenue. Per quanto riguarda quanto il 3-metil-indolo, meglio conosciuto come Scatolo, è un composto organico che deriva dalla decarbossilazione del triptofano a livello intestinale (soprattutto a livello del colon). Se la flora intestinale non è equilibrata, gli aminoacidi derivati da una non completa digestione delle proteine subiscono il processo di decarbossilazione che produce Scatolo in elevati quantitativi che sono poi riscontrabili anche a livello urinario. Pertanto, quando i valori di indicano e scatolo sono nella norma, il soggetto ha flora batterica intestinale in buone condizioni. Inoltre, il disbiosi test ci dà anche alcune indicazioni sul tratto dell'intestino che soffre maggiormente di uno squilibrio della flora batterica: se è alterato il valore dell'indicano, è l'intestino tenue ad essere più sofferente. Se invece è lo scatolo ad essere aumentato, il problema è soprattutto a carico dell'intestino crasso, in particolar modo del colon. Se risultano alti entrambi i valori, allora vuol dire che il dismicrobismo riguarda sia l'intestino tenue che il crasso. Valori di scatolo > 40 mg/l e 80 mg/l per l'indicano, si ha una condizione di disbiosi grave.

**Figura 7**: Disbiosi intestinale

### *2.2 Alimentazione e disbiosi*

La dieta è un elemento importante che influenza il microbiota intestinale: modifiche della composizione del cibo e carenza di cibo o eccessoinfluisce sul microbiota intestinale. In particolare, l'eccesso di apporto di nutrienti favorisce l'obesità, caratterizzata dalla diminuzione della diversità microbica e sovrarappresentazione di Firmicutes (*Le Chatelier E et al, 2013*). Un rapporto inferiore tra Bacteroidetes e Firmicutes si traduce in un rilascio maggiore di LPS in circolo: Livelli di LPS più elevati contribuiscono a uno stato infiammatorio cronico che si verifica nell'obesità (*Caricilli AM et al., 2009*). Ma le diete ricche di uno o due tipi di alimenti forniscono preziosi indizi sulle loro rispettive influenze:

**Proteine**

Sono stati effettuati numerosi studi sulla correlazione tra dieta iperproteica e microbiota: uno di questi ha effettivamente valutato che una dieta ad alto contenuto proteico (45% dell'apporto nutritivo giornaliero totale) ha comportato, già nelle prime settimane, un incremento dei mediatori pro-infiammatori e del tasso di stress ossidativo a livello del colon, oltre che un'alterazione strutturale del microbioma intestinale. In particolare, la specie Escherichia coli è aumentata di 21, 5.06 e 6.23 volte rispettivamente a 1, 4 e 6 settimane. A lungo termine, l'elevato assorbimento di proteine animali, aminoacidi acidi e grassi aumentano la quantità relativa di Bacteroides, mentre un basso contenuto di proteine e un elevato contenuto di carboidrati aumenta i livelli di Prevotella, Bifidobacterium, Akkermansia muciniphila, Ruminococcus bromii e Roseburia/Eubacterium rectale. Questi ultimi sono batteri fisiologicamente implicati nella via di metabolismo dei carboidrati per la sintesi di acidi grassi a catena corta quali acido acetico, propionico e butirrico. Il butirrato, in particolare, rappresenta una fonte energetica essenziale per gli enterociti, cioè le cellule epiteliali, e inoltre, assieme al propionato, ha proprietà
anti-infiammatorie e protettive per l'epitelio stesso. Una loro diminuzione dovuta all'elevato apporto proteico porta, dunque, a un aumento di rischio di patologie intestinali. (*Shankar V et al, 2017*).

Inoltre, un prodotto ad alto contenuto proteico aumenta la produzione di acidi grassi a catena ramificata, ma anche la produzione di sostanze potenzialmente tossiche quali composti di solfuro, ammoniaca e N-nitroso (*Magee EA et al., 2000*).Con un apporto alimentare eccessivo di proteine

e aminoacidi, aumenta anche la sintesi dell'ossido nitrico (*Alemany, 2017*).

**Grassi**

Un elevato apporto di grassi induce notevoli cambiamenti nella composizione del microbiota intestinale. La diversità complessiva diminuisce insieme alla relativa abbondanza di Bacteroidetes, mentre aumenta l'abbondanza relativa dei Firmicutes (*Zhang C et al., 2012*). Anche caratteristiche strutturali come la presenza di insaturazioni sono rilevanti: una dieta ricca di acidi grassi insaturi favorisce l'aumento di Attinobatteri, batteri lattici e Akkermansia muciniphila, creando una composizione microbica che protegge dall'aumento di peso e dall'infiammazione dei tessuti. Inoltre, uno studio ha evidenziato come gli acidi grassi saturi presenti nel latte e gli acidi grassi monoinsaturi dell'olio di oliva siano in grado di ridurre l'infiammazione dovuta ad infezioni enteriche: in particolare, gli acidi grassi saturi a catena media, come l'olio di cocco, hanno azione antifungina verso Candida albicans e proprietà antimicrobiche verso patogeni enterici. (*Caesar R et al., 2016*). Una dieta ricca di grassi influenza anche indirettamente il microbiota intestinale aumentando il pool di acidi biliari: Dopo l'emulsione dei lipidi alimentari, la maggior parte degli acidi biliari viene riassorbita nell'ileo distale. Acidi biliari non assorbiti, influenzano la crescita microbica creando un ambiente acido e, dunque, una forte attività antimicrobica (*Bell, 2015*).

**Fibre**

Le fibre hanno un effetto diretto sul microbiota raggiungendo ill colon, a causa della loro indigeribilità e della fermentazione mediata dai commensali del microbiota. Una dieta ricca di polisaccaridi vegetali promuove la crescita di Bacteroidetes rispetto ai Firmicutes (*De Filippo C et al., 2010*). Inoltre, mediante fermentazione vengono prodotti acidi grassi a catena corta (SCFA) quali acetato, butirrato e propionato. Il butirrato è utilizzato principalmente dai colonociti e ne stimola la proliferazione e la differenziazione mentre l'acetato alimenta la lipogenesi nei tessuti periferici, soprattutto muscolari, e il propionato entra nella gluconeogenesi nel fegato (Guarner *and Malagelada, 2003*). Oltre al loro contributo calorico Gli SCFA attivano le vie metaboliche agendo come ligandi per i recettori accoppiati alle proteine G, GPR41 e GPR43 (noti anche come recettori degli acidi grassi liberi 3 e 2) (*Brown et al., 2003*). L'attivazione di GPR41 e GPR43 aumenta i livelli di leptina, con conseguente aumento della

sensibilità all'insulina e maggiore sazietà (*Xiong et al., 2004*). Inoltre, nel momento in cui vi è la segnalazione del recettore GPR43 nell'intestino, le cellule L aumentano la produzione di GLP-1 che migliora la tolleranza al glucosio (*Brandsma E, 2015*). Acetato e propionato sono i principali liigandi che attivano GPR43 nel tessuto adiposo e immunitario poiché il butirrato serve principalmente come fonte di energia per i colonciti e quantità relativamente piccole raggiungono la periferia (*Cummings et al., 1987*).

**Cairboidrati**

L'elaborazione dei carboidrati complessi spesso si basa su azioni cooperative tra distinti taxa (gruppi) batterici. Inoltre, non tutti i batteri possiedono enzimi in grado di catabolizzare i carboidrati: Ad esempio, l'E. coli non esprime alcuna glicosidasi in grado di degradare i carboidrati complessi, ma è un avido consumatore dei monosaccaridi N-acetilglucosamina, acido N-acetilneuraminico (Neu5Ac) e fucosio (*Fabich et al., 2006*). Dunque, tra i consigli alimentari (Figura 8) più diffusi per prevenire una disregolazione del microbiota vi sono:

**Figura 8**: Dieta per il microbiota

-prediligere alimenti freschi, come frutta e verdura, non conservati e colorati artificialmente o raffinati. Consumare cereali integrali, riso e grano saraceno, finocchi, broccoli e cavoli e vegetali vari. Per quanto riguarda la frutta, meglio quella meno zuccherina e consumata lontano dai pasti.

-Limitare il consumo di grassi, preferendo comunque quelli di origine vegetale polinsaturi poichè utili, nelle giuste dosi, per l'assorbimento delle vitamine liposolubili, per il metabolismo energetico e la sintesi di numerose molecole.

-Consumare i legumi, come fagioli, lenticchie e ceci, sono fonti eccellenti di proteine vegetali e fibre. Inoltre, i legumi contengono anche amido resistente, un tipo di fibra che non viene digerito nell'intestino tenue e che nutre i batteri benefici nell'intestino.

-Lo yogurt e altri alimenti fermentati, come il kefir, il miso e il kimchi, contengono batteri benefici per l'intestino, noti come probiotici. I probiotici aiutano a ripristinare l'equilibrio nella flora batterica intestinale e a prevenire la disbiosi intestinale.

## 2.3 Probiotici e Prebiotici

Un altro importante ambito di ricerca è la relazione tra microbioma e trattamento terapeutico: Probiotici e prebiotici, in particolare, hanno una lunga storia come strumenti terapeutici nel trattamento della diarrea, delle infezioni vaginali da lieviti, delle infezioni del tratto urinario, sindrome dell'intestino irritabile e prevenire o ridurre la gravità del raffreddore e dell'influenza (*Leyer et al. 2009; Vouloumanou et al. 2009; Ciorba 2012; Borges, Silva e Teixeira 2014*). Molti sono i lavori scientifici, infatti, che sottolineano i benefici per la salute derivanti dall'uso di probiotici e prebiotici nella nutrizione umana. La parola "probiotico" deriva dal greco e significa "per la vita": Molto probabilmente fu Ferdinand Virgin a inventare il termine "probiotico" nel 1954, nel suo articolo intitolato "Anti-und Probiotika" confrontando gli effetti nocivi di antibiotici e altri agenti antibatterici sul microbiota intestinale con effetti benefici di alcuni batteri utili (*Vergin et al., 1954*). Qualche tempo dopo, nel 1965, Lilly e Stillwell descrissero i probiotici come microrganismi che stimolano la crescita di altri microrganismi (*Lilly et al., 1965*). La definizione dei probiotici è stata modificata e cambiata molte volte: Per sottolineare la loro origine microbica, Fuller (1989) ha affermato che i probiotici devono essere microrganismi vitali e devono esercitare un effetto benefico sul loro ospite (*Fuller et al. , 1989*). La definizione attuale per definire i probiotici è stata formulata nel 2002 dalla FAO (Organizzazione delle Nazioni Unite per l'Alimentazione e l'Agricoltura) e gli esperti del gruppo di lavoro dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità), affermano che i probiotici sono ceppi vivi di microrganismi rigorosamente selezionati che, somministrati in quantità adeguate, conferiscono benefici per salute dell'ospite (*Food and Agriculture Organization (FAO). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food; Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food; FAO: London, ON, Canada, 30 April–1 May, 2002*). La definizione è stata mantenuta dall'Associazione Scientifica Internazionale per Probiotici e Prebiotici (ISAPP) nel 2013 (*Hill et al., 2014).*

I risultati degli studi clinici confermano l'effetto positivo dei probiotici sulle malattie gastrointestinali (ad esempio, sindrome dell'intestino irritabile, disturbi gastrointestinali, malattie infiammatorie intestinali, diarrea) e malattie allergiche (ad es. dermatite atopica). Nel 2004 la definizione è stata aggiornata e i prebiotici sono stati definiti come componenti fermentati selettivamente che consentono cambiamenti specifici nella composizione e/o nell'attività dei microrganismi nel tratto gastrointestinale, apportando benefici per la salute e il

benessere dell'ospite (*Gibson et al., 2004*). Infine, nel 2007, gli esperti FAO/OMS hanno descritto i prebiotici come componente alimentare non vitale che conferisce un beneficio per la salute all'ospite (*Food and Agriculture Organization. FAO Technical Meeting on Prebiotics: Food Quality and Standards Service (AGNS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); FAO Technical Meeting Report; FAO: Rome, Italy, 15–16 September, 2007*). I prebiotici possono essere utilizzati come alternativa ai probiotici o come supporto aggiuntivo agli stessi: questi hanno un enorme potenziale per modificare il microbiota intestinale. Nel 1995 Gibson e Roberfroid hanno introdotto il termine "sinbiotico" per descrivere una combinazione di azioni sinergiche di probiotici e prebiotici: questi prodotti presentano una componente prebiotica che favorisce selettivamente la crescita di un microrganismo probiotico (*Cencic et al., 2010*). Lo scopo principale di questo tipo di combinazione è il miglioramento della sopravvivenza dei microrganismi probiotici nel tratto gastrointestinale. Perciò, un'adeguata combinazione di entrambi i componenti in un unico prodotto dovrebbe garantire un effetto superiore, rispetto all'attività del solo probiotico o prebiotico (*Panesar et al., 2009*). Naturalmente la selezione dei ceppi probiotici, prebiotici e i rispettivi dosaggi, sicurezza d'uso e studi clinici associati, sono fondamentali per ottenere un effetto terapeutico e documentare gli effetti desiderati sulla salute. Secondo i suggerimenti dell'OMS, della FAO e dell'EFSA (l'Autorità europea per la sicurezza alimentare), nel loro processo di selezione, i ceppi probiotici devono soddisfare sia criteri di sicurezza che di funzionalità (*Hill et al., 2014*): La sicurezza di un ceppo è definita dalla sua origine, dall'assenza di associazione con colture patogene e profilo di resistenza agli antibiotici mentre gli aspetti funzionali definiscono la loro sopravvivenza nel tratto gastrointestinale e il loro effetto immunomodulatore. I ceppi probiotici devono soddisfare i requisiti associati alla tecnologia della loro produzione, il che significa che devono essere in grado sopravvivere e mantenere le loro proprietà durante i processi di stoccaggio e distribuzione (*Lee et al., 2009*). I microrganismi di un probiotico appartengono principalmente ai seguenti geni: Lactobacillus, Bifidobacterium e Lactococus, Streptococco, Enterococco. Inoltre, ceppi di batteri Gram-positivi appartenenti al genere Bacillus e alcuni ceppi di lievito appartenenti al genere Saccharomyces sono comunemente utilizzati nei prodotti probiotici (*Simon et al., 2005*). I probiotici sono soggetti alle norme contenute nella legislazione alimentare generale, secondo la quale essi dovrebbero essere sicuri per la salute umana e animale. I probiotici hanno numerose funzioni vantaggiose negli organismi umani tra cui: garantire un corretto equilibrio tra agenti patogeni e batteri necessari per la normale funzione dell'organismo (*Oelschlaeger, 2010*) e

contrastare l'attività di agenti patogeni quali Escherichia coli, varie specie di Shigella, Staphylococcus e Yersinia, prevenendo così l'intossicazione alimentare. Inoltre, i probiotici presentano effetti positivi sui processi di digestione, trattamento delle allergie alimentari e candidosi, migliorano l'assorbimento delle vitamine e dei composti minerali e stimolano la sintesi di acidi organici e amminoacidi (*Ouwehand et.al., 1999*).

Studi molecolari e genetici hanno permesso di determinare quattro meccanismi principali dei probiotici:

(1) Antagonismo attraverso la produzione di sostanze antimicrobiche;

(2) Competizione con agenti patogeni per l'adesione all'epitelio e per i nutrienti;

(3) Immunomodulazione dell'ospite;

(4) Inibizione della produzione di tossine batteriche.

I primi due meccanismi sono direttamente associati al loro effetto su altri microrganismi: Questi meccanismi sono importanti nella profilassi e nel trattamento delle infezioni, nonché nel mantenimento dell'equilibrio del microbiota intestinale dell'ospite. I risultati degli studi in vitro indicano il ruolo delle sostanze a basso peso molecolare prodotte da microrganismi probiotici (ad esempio, idroperossido e acidi grassi a catena corta) nell'inibire la replicazione dei patogeni: Ad esempio, i batteri del genere Lactobacillus potrebbero essere in grado di produrre batteriocine (*Schachtsiek et al., 2004*). La stimolazione immunologica indotta dai probiotici si manifesta anche con l'aumento della produzione di immunoglobuline, aumento dell'attività dei macrofagi e dei linfociti e stimolazione della produzione di interferone γ.

I batteri probiotici sono anche in grado di stimolare la produzione di citochine da parte di cellule immunocompetenti del tratto gastrointestinale (*Gill et al., 2002*). L'ultimo degli effetti probiotici sopra menzionati è l'inibizione della produzione batterica di tossine: Tuttavia, non tutti i probiotici mostrano proprietà disintossicanti, poiché è una caratteristica correlata al ceppo. Gli studi dovrebbero quindi essere condotti per selezionare ceppi con tali caratteristiche. Per quanto riguarda i prebiotici, questi hanno un enorme potenziale per modificare il microbiota intestinale, ma queste modifiche avvengono a livello di singoli ceppi e specie e non sono facilmente prevedibili a priori. Inoltre, l'ambiente intestinale, in particolare il pH, gioca un ruolo chiave nel determinare l'esito della competizione tra specie. Frutta, verdura, cereali e altre piante commestibili sono le fonti di carboidrati che costituiscono potenziali prebiotici, oltre che pomodori, carciofi, banane, asparagi, frutti di bosco, aglio, cipolle, cicoria, verdure verdi, legumi, avena, semi di lino, orzo e grano (*Crittenden et al., 2008).*

Alcuni prebiotici prodotti artificialmente sono: lattulosio, galattoligosaccaridi, fruttooligosaccaridi, maltooligosaccaridi, ciclodestrine e lattosaccarosio. Secondo Wang (2009), esistono cinque criteri fondamentali per la classificazione dei componenti alimentari: Il primo criterio presuppone che i prebiotici non vengano digeriti (o semplicemente parzialmente digeriti) nei segmenti superiori del tratto alimentare; di conseguenza, raggiungono il colon, dove vengono fermentati selettivamente da batteri potenzialmente benefici, favorendo la produzione di SCFA, aumento della massa fecale, riduzione dei prodotti finali nitrosi e degli e miglioramento del sistema immunitario (*Crittenden et al., 2009*). L'ultimo criterio della classificazione presuppone che un prebiotico debba essere in grado di resistere alle condizioni di lavorazione degli alimenti e che, quindi, non venga degradato o chimicamente inalterato (*Wang, Y. Prebiotics: Present and future in food science and technology. Food Res. Int., 8–12, 2009).* Inoltre, resistenza agli acidi, proteasi e sali biliari presenti nel tratto gastrointestinale possono essere considerati come altre proprietà favorevoli dei prebiotici. I prebiotici possono essere consumati a lungo termine  e per scopi profilattici. Inoltre, se utilizzati nelle dosi corrette, non stimolano alcun effetto avverso.

I prebiotici possono essere classificati in base a tali proprietà:

- non digeriti (o solo parzialmente digeriti);
- non assorbiti nell'intestino tenue;
- scarsamente fermentati dai batteri del cavo orale;
- ben fermentati da batteri intestinali apparentemente benefici;

Tra le fibre alimentari utilizzate come prebiotici vi sono: cellulosa, emicellulosa, pectine, gomme, sostanze ottenute da alghe marine, nonché lattulosio, oligosaccaridi di soia, inuline, fruttooligosaccaridi, galattoligosaccaridi, xilooligosaccaridi, e isomaltooligosaccaridi. In base al numero di monomeri legati insieme, i prebiotici possono essere classificati come: disaccaridi, oligosaccaridi (3-10 monomeri) e polisaccaridi. Nel 1997 e nel 2003, Bovee-Oudenhoven et al. hanno studiato l'uso del lattulosio nella prevenzione delle infezioni da Salmonella Enteritidis su un modello di ratto. I loro risultati hanno indicato che l'acidificazione dell'intestino che si verifica a seguito della fermentazione del lattulosio ha causato il ridotto sviluppo degli agenti patogeni e aumento della traslocazione di agenti patogeni dall'intestino ( *Bovee-Oudenhoven et al., 1997*).

## 2.4 Microbiota e infiammazione

L'infiammazione è un segno distintivo di molti disturbi metabolici, come l'obesità, diabete di tipo 2, steatosi epatica (NAFLD), che sono in rapido aumento in prevalenza in tutto il mondo (*Ridker et al., 1997*). Rispetto ad un'infiammazione acuta, che di solito è una risposta fisiologica a lesioni o infezioni, le infiammazioni croniche caratteristiche dei disordini metabolici, definite anche "infiammazioni metaboliche", sono caratterizzate da risposte infiammatorie locali o sistemiche di basso livello. Pertanto, diversi studi hanno associato queste condizioni con un aumento dei livelli circolanti di proteine della fase acuta (come la proteina C-reattiva (CRP), fibrinogeno, aptoglobina, amiloide sierica A, citochine e chemochine) (*Ridker et al., 2000).*

Il microbiota gastrointestinale umano è un ecosistema complesso costituito principalmente da batteri, ma anche virus e organismi eucarioti. (Figura 9) Questi svolgono un ruolo nel mantenimento della barriera intestinale, essenziale per l'omeostasi e la funzionalità dell'intestino, stimola il sistema immunitario ad un livello adeguato per mantenere allertati i meccanismi di difesa, allo stesso tempo fornendo segnali regolatori per indurre tolleranza verso il microbiota commensale. Il tratto digestivo ha due distinti ecosistemi microbici, il luminale e la mucosa microbiota: Nel compartimento luminale oltre il 90% dei batteri appartiene a Firmicutes e Bacteroidetes, e i phyla minori includono Actinobacteria, Proteobacteria e Verrucomicrobia (*Ouwerkerk et al., 2013*). La composizione microbica è influenzata da una serie di fattori endogeni ed esogeni, come fisiologia e immunità, dieta e farmaci degli ospiti: Forti perturbazioni come queste possono portare a uno stato di disbiosi, che è stato associato a numerosi malattie umane. I nessi causali tra disbiosi del microbiota e stati patologici sono attualmente chiari oggetto di approfondite indagini, nonché i meccanismi attraverso i quali il microbiota potrebbe contribuire ai processi patologici (*Schroeder et al., 2016*). Complessivamente, un microbiota disbiotico non solo ha perso la capacità di supportare l'omeostasi intestinale, ma può addirittura esacerbare l'infiammazione intestinale (*Satokari et al., 2015*). In un intestino sano, i proteobatteri sono numericamente un phyla minore: Maggiore abbondanza dei proteobatteri, in particolare della classe gamma-proteobatteri e della famiglia delle enterobatteriacee, è stato associato a una serie di malattie umane: tutti i batteri gram negativi presentano sulla membrana esterna l'LPS, un glicolipide complesso e uno dei principali fattore di virulenza batterica (*Rizzatti et al., 2017*). La molecola LPS è composta da tre domini: lipide A, nucleo, e polisaccaridi O-specifici. La struttura del lipide A, che determina l'immunogenicità di LPS, differisce tra le diverse specie batteriche: La maggior parte dei batteri

Gram-negativi esprimono il LPS esaacilato, che è uno dei più potenti agonisti del sistema immunitario innato umano (*Cochet et al., 2017).*

L' LPS innesca una forte reazione proinfiammatoria e la secrezione di citochine proinfiammatorie da parte dell'ospite quali l'interferone-γ (IFN-γ), il fattore di necrosi tumorale-α (TNF-α), e interleuchina-1β (IL-1β), mentre le citochine antinfiammatorie IL-10 e IL-17 diminuiscono e ripristinano la permeabilità intestinale (*Suzuki, 2013*). La persistenza di questa condizione può portare a un'infiammazione subacuta o cronica, che può successivamente guidare lo sviluppo di malattie come malattie infiammatorie intestinali, diabete o malattie cardiovascolari. Pertanto, l'elevata abbondanza di proteobatteri è stata associata a molte condizioni patologiche dove l'infiammazione intestinale o sistemica o entrambe sono coinvolte come fattori eziopatologici chiave. Secondo alcuni studi la presenza, nel sangue, di molecole derivanti dal microbiota intestinale può attivare i macrofagi verso uno stato proinfiammatorio che può promuovere l'aterosclerosi e che è associato allo sviluppo non solo di malattie cardiovascolari ma anche di demenza vascolare. Altre ricerche hanno svelato che le variazioni nei livelli di citochine e di acidi grassi a catena corta associati a cambiamenti nel microbiota intestinale possono influenzare l'attività del sistema nervoso centrale, dando così il loro contributo al declino cognitivo. E la risposta proinfiammatoria stimolata dal lipopolisaccaride (la tossina batterica associata alla sepsi) promuove la produzione di proteina beta-amiloide, fornendo la prova di un possibile legame tra il microbiota intestinale e la malattia di Alzheimer (*Hotamisligil,* 2006).

**Figura 9**: Proteobatteri all'interno del microbiota

## CAPITOLO 3: ANTUR IMMUNO-1

### *3.1Formulazione e allestimento integratore*

***Figura 10**: Integratore Antur Immuno 1*

Antur immuno 1 è un integratore alimentare a base di succo concentrato di frutti di bosco, succo di noni ed estratti vegetali di polline e acerola. Il prodotto è, inoltre, arricchito di magnesio, vitamina D e frutto-oligosaccaridi. Antur Immuno 1 contribuisce a mantenere l'intestino in buono stato favorendo l'assunzione dei macronutrienti e, soprattutto, dei micronutrienti; contribuisce ad alleviare stanchezza fisica e mentale; regola la funzione cellulare e la rigenerazione delle cellule danneggiate; funge da immunostimolante e immunoprotettore (Figura 10). Segue una panoramica degli ingredienti attivi scelti per l'integratore.

**– Succo concentrato di frutti di bosco**

Bacche, frutti, fiore e foglie dei frutti di bosco contengono elevate quantità di polifenoli, tra cui le antocianine che contribuiscono a migliorare l'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità, il grado di perossidazione lipidica, la capacità antiossidante del plasma, la dislipidemia e a ridurre i marcatori molecolare della malattia cardiovascolare. Negli ultimi anni, i polifenoli, antocianine incluse, sono state utilizzati nel trattamento di patologie croniche e neurodegenerative. Le

antocianine sono un sottogruppo di pigmenti solubili in acqua, appartenente al gruppo più vasto dei flavonoidi, responsabili dei colori che vanno dal rosso al blu di piante, fiori, semi e altri tessuti vegetali (*Khurana,, 2013*). Le antocianine espletano la loro funzione antiossidante o attraverso l'inibizione enzimatica o sequestrando gli oligoelementi coinvolti nella produzione di specie reattive dell'ossigeno (*Pagano et al., 1998*). Si presume che i flavonoidi interrompano la catena di reazione dei radicali liberi donando un atomo di idrogeno al radicale perossilico formando un radicale flavonoide che reagisce con i ROS mettendo fine a questa reazione a catena di propagazione (*Griendling et al., 1994*). Gli antociani hanno, inoltre, capacità antiperossidativa in quanto inibiscono la perossidazione lipidica delle membrane cellulari, come dimostrato da studi condotti su cellule di fegato dei ratti. Le antocianine espletano la loro funzione di antiossidanti in vari modi: catturando i radicali liberi e/o gli anioni, inibendo la xantina ossidasi, chelando gli ioni metallici, mirando all'acido arachidonico e all'adesione delle molecole (*Baldus et al., 2006*). Studi in vitro e in vivo dimostrano che le antocianine inibiscono lo stresso ossidativo alla base del processo di formazione delle placche aterosclerotiche, probabilmente grazie alla capacità di inibire la perossidazione lipidica e di ridurre il danno ossidativo delle cellule vascolari endoteliali (*Seeram et al., 2003*). Le antocianine mostrano anche proprietà antinfiammatorie attraverso l'azione sui mediatori lipidici derivati dall'ossidazione dell'acido arachidonico, sulla lipossigenasi e sul fattore nucleare NF-kB in modo da bloccare i segnali pro-infiammatori (*Paixao et al., 2012*). Alla luce dei vari studi, è possibile affermare che l'attività più impattante che esercitano le antocianine sulla salute umana è quella antinfiammatoria (*Reis et al., 2016).*

Il succo concentrato di frutti di bosco contiene un'elevata quantità di polifenoli che possono avere un effetto positivo sui processi cognitivi, nel trattamento delle malattie neurodegenerative e sull'umore (*Travica et al., 2020*). In un altro studio si è osservato che, in caso di stress post-traumatico, il consumo di mirtilli aumenta significativamente la produzione di neurotrasmettitori, tra cui la serotonina e i suoi precursori (*P.J. Ebenezer et al., 2016*).

**-Noni (*Morinda citrifolia*)**

Noni è il nome comune di Morinda citrifolia, un piccolo albero appartenente alla famiglia delle Rubiaceae. Il Noni è un albero con distribuzione pan-tropicale, particolarmente presente nelle Isole del Pacifico e nelle zone tropicali dell'America. Oltre che in ambito culinario (ad esempio per la preparazione di currie, per la cottura del pesce e nei momenti di carestia), i tradizionali

guaritori tahitiani utilizzavano la pianta del noni come rimedio contro una vasta gamma di malattie: le infezioni, l'angina pectoris, il diabete, gli ascessi, la ranula e il fibroma addominale (*Petard et al., 1986*). In altre parti della Polinesia, il noni è stato utilizzato per trattare l'osteoartite, i reumatismi, il mal di schiena, vari problemi articolari, le emorroidi, le allergie cutanee, le bruciature e le verruche (*C., Butaud J.F et al., 2015*). Di recente il frutto è stato utilizzato per produrre integratori alimentari ed è stato uno dei primi ad essere approvato ai sensi delle normative sui nuovi alimenti dell'Unione Europea del 1997 *(European Commission Commission decision of 5 June 2003 authorising the placing on the market of "noni juice "(juice of the fruit of Morinda citrifolia L.) as a novel food ingredient under regulation (EC) No 258/97 of the European parliament and of the council. [(accessed on 11 December 2017)].* Nel noni sono stati identificati 160 composti nutraceutici, quali enzimi, vitamine, amminoacidi, minerali, oligoelementi, polisaccaridi, alcaloidi, antiossidanti e flavonoidi. Molti studi sono stati condotti per indagare le proprietà del Noni. Una review, in particolare, raccoglie vari studi clinici eseguiti sull'uomo che si

proponevano di indagare l'attività del noni in condizioni patologiche: Si è osservato che tale alimento protegge il DNA dai danni indotti dal fumo di sigaretta, ha proprietà antiossidanti, immunostimolanti, antinfiammatorie, antimicotiche, antitumorali, inibisce la glicazione delle proteine, contribuisce alla salute delle ossa e delle articolazioni, al mantenimento della pressione sanguigna, all'aumento della performance fisica e migliora la salute delle gengive. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per comprenderne maggiormente la biodisponibilità dei componenti e i loro meccanismi d'azione (*West B.J et al., 2008*).

Diversi studiche hanno coinvolto soggetti fumatori hanno dimostrato l'attività antiossidante del succo misto di noni (TNJ) e l'effetto protettivo verso il danno cellulare e al DNA, senza effetti avversi causati dall'assunzione del TNJ (*Wang et al., 2009*).

I processi ossidativi e la funzionalità del sistema immunitario sono interconnessi; le specie reattive dell'ossigeno, infatti, sono coinvolte nella modulazione della funzionalità immunitaria e fungono da messaggeri secondari nella trasduzione del segnale. Per valutare le proprietà antinfiammatorie del noni, è stato condotti uno studio su 132 fumatori accaniti. I parametri di interesse, in questo caso erano il colesterolo LDL, il colesterolo HDL, l'hs-CRP (proteina C-reattiva ad alta sensibilità) e l'omocisteina; il fumo comporta un aumento di lipidi nel sangue, infiammazione sistemica e l'aumento di omocisteina e alla fine del periodo di osservazione nei soggetti trattati è stata riscontrata una diminuzione dei valori medi di hs-CRP (proteina C-reattiva

ad alta sensibilità), dei valori medi di omocisteina e di colesterolo LDL e un aumento dei valori medi del colesterolo HDL (*Wang et al., 2012*). Per verificare l'attività immunomodulatrice del noni sugli umani, è stato condotto uno studio su 12 volontari adulti sani i quali hanno assunto 330 ml di succo di noni al giorno per 30 giorni. Alla fine della sperimentazione si è osservata, da un lato, una riduzione dei livelli medi di malonildialdeide tale da ridurre il grado di stress ossidativo e, dall'altro, un aumento dei livelli medi di interleuchina-2 e dell'attività delle cellule natural killer (*Schafer et al., 2008*). Si ritiene che il noni abbia proprietà antimicotiche; in uno studio sperimentale è stata evidenziata l'attività che esso esercita contro Candida albicans. L'estratto di noni inizia ad avere un effetto inibitorio sulla crescita di C. albicans ad una concentrazione pari a 40 mg/mL e dopo un tempo di contatto pari a 90 minuti; a concentrazioni superiori l'effetto inibitorio è immediato (*Brooks et al., 2013*). Uno studio condotto su 90 pazienti affetti da spondilosi cervicale ha mostrato l'effetto del noni sulla mobilità e sulle articolazioni. I risultati più sostanziali sono stati osservati nei pazienti sottoposti a fisioterapia e contemporaneamente al trattamento con succo di noni; il succo di noni, inoltre, sembra mitigare i sintomi dell'osteoporosi nelle donne in menopausa e delle gengiviti ricorrenti (*Brooks et al., 2013*).

Il frutto del noni contiene la proxeronina, un alcaloide precursore della xeronina, convolta nel metabolismo delle proteine; tale componente rende il noni un tonico capace di contribuire alla riduzione della stanchezza fisica e mentale. La proxeronina è presente anche nell'ananas, ma il frutto di noni ne contiene 800 volte in più (*Akinbo et al., 2006*).

In questa formulazione Morinda citrifolia è stata scelta per le sue proprietà antiossidanti, antinfiammatorie, immunomodulatrici e per il contenuto di vitamine e minerali.

**– Polline**

Il polline, o granulo pollinico, è l'insieme dei microgameti prodotti dalle spermatofite ed è la materia dalla consistenza appiccicosa che determina la fecondazione dei fiori. Il polline può essere trasportato da una pianta all'altra attraverso il vento o dagli insetti impollinatori (come le api). Il polline viene raccolto dalle api mellifere (Apis sp. Incluse Apis mellifera) e api senza pungiglione ed è composto principalmente da polline di fiore con un po' di miele o nettare, enzimi, cera e secrezioni d'ape. Tale composto viene trasportato sottoforma di pellet all'alveare, dove sarà utilizzato come nutrimento durante tutte le fasi dello sviluppo dell'alveare (*A. Chantarudee et al., 2012*). Nel momento in cui si impregna dei secreti delle api, il polline

acquisisce caratteristiche nutrizionali e biochimiche tali da essere considerato *l'unico cibo perfettamente completo*: Esso, infatti, contiene una vasta gamma di carboidrati, lipidi, proteine, vitamine idro- e liposolubili, minerali e fenoli ( *Pascoal et al., 2014*). La ripartizione relativa di macro e micronutrienti varia e sembra essere strettamente dipendente dal tipo di pianta, dal clima e dalle modalità di raccolta del polline e molti sono gli studiosi che si sono concentrati sull' estrazione e sulla determinazione qualitativa e quantitativa delle varie componenti. La composizione dei lipidi varia dall'1% al 19% del peso secco e comprende principalmente carotenoidi, steroli e acidi grassi: i carotenoidi fungono da coloranti naturali, in alcuni casi agiscono come pro-vitamina A e determinano una riduzione del rischio di diversi tipi di cancro o malattie cardiovascolari (. *Bernal et al., 2011*); gli steroli vegetali, conosciuti anche come fitosteroli, bloccano i siti di assorbimento del colesterolo nell'intestino umano, e riducono i livelli plasmatici delle lipoproteine a bassa densità; gli acidi grassi, di cui soprattutto la serie degli Ω-3, sono importanti nella prevenzione e nel trattamento dell'aterosclerosi ( *Conte et al., 2017*).

Il polline possiede un'ampia gamma di composti fenolici, tra cui rutina, quercetina, vinilacetato e l'acido protocatecuico, che possiedono attività antiallergiche, antinfiammatorie, antiossidanti, antimicrobiche, antitumorali e antidiarroiche (*L. Sun et al., 2017*). Le proteine sono una delle componenti più abbondanti del polline, costituendo dal 10% al 40% del peso secco, e apportano effetti benefici all'organismo; esse possiedono, infatti, proprietà antimicrobica, antiossidante, antitrombotica e antinfiammatoria.

Il polline possiede vari tipi di vitamine quali le vitamine del gruppo B, β-carotene e le vitamine B, C ed E. Le vitamine assolvono varie funzioni: agiscono come regolatori del metabolismo dei minerali e della crescita cellulare, possiedono attività antiossidante e alcuni sono precursori di cofattori enzimatici (*Pereira de Melo et al., 2009*).

Il polline contiene tra il 15% e il 60 % di carboidrati e tale frazione è suddivisa in monosaccaridi, zuccheri riducenti (in particolare, glucosio e fruttosio), polisaccaridi e fibre. L'ingente quantità di carboidrati rende il polline un'ottima fonte di energia.

Il polline d'api risulta essere, inoltre, una ricca risorsa di minerali, quali zinco, cromo, magnesio, potassio, fosforo, calcio, sodio, zolfo, rame, manganese, nichel e selenio (*Denisow et al., 2016*). I minerali intervengo in numerosi processi fisiologici: nella regolazione delle vie metaboliche, nel mantenimento dell'omeostasi, nella salute, nella funzionalità e nella protezione cellulare. La carenza di minerali può essere la causa scatenante di determinate malattie (*Sattler et al., 2016*).

Il polline è stato inserito nella formulazione di ANTUR Immuno 1 perché ha proprietà

antibatteriche, antiossidanti, antitumorali, ma soprattutto immunostimolanti e perché rappresenta una ricca fonte di sostanze nutrienti.

**– Frutto-Oligosaccaridi**

I fruttani sono carboidrati formati dalla ripetizione di unità di fruttosio che, solitamente, terminano con un'estremità di saccarosio. I fruttani a catena corta (oligosaccaridi) sono noti come frutto-oligosaccaridi, mentre quelli a catena più lunga sono rappresentati dalle inuline. La posizione in cui le unità di fruttosio stabiliscono il legame determina il tipo di fruttano che si forma: L'inulina può contenere da due a sessanta residui di fruttosio, con una media di dodici. L'idrolisi enzimatica parziale di inulina produce un frutto-oligosaccaride (FOS) noto come oligofruttosio (OF), che può avere un residuo terminale di glucosio o fruttosio (*Hamilton, 2004).*

Il FOS a catena corta può anche essere derivato mediante aggiunta enzimatica di residui di fruttosio al saccarosio; i prodotti formati contengono da due a quattro residui di fruttosio con un residuo di glucosio terminale. I FOS vengono utilizzati nella fabbricazione di diversi prodotti alimentari come dolcificanti che esaltano il gusto e la dolcezza del prodotto.

I fruttani β (2→1) sono molecole di carboidrati con proprietà prebiotiche: stimolano selettivamente la crescita e/o l'attività del microbiota intestinale. Attraverso questa modifica del microbiota intestinale, i fruttani β (2→1) possono avere effetti benefici sulla funzione immunitaria, sulla capacità di combattere le infezioni e sui processi e condizioni infiammatori (*Tsai et al., 2013*). La ricerca sui potenziali benefici per la salute dei prebiotici si è svolta negli ultimi 15 anni circa, con un recente interesse per gli effetti sul sistema immunitario, la capacità dell'ospite di combattere le infezioni e i processi e le condizioni infiammatorie. I prebiotici sono definiti come "ingredienti fermentati selettivamente che consentono cambiamenti specifici, sia nella composizione che/o nell'attività del microbiota gastrointestinale che conferisce benefici al benessere e alla salute dell'ospite". Inoltre, i prebiotici possono sopprimere la crescita dei patogeni per migliorare la salute generale ( *Roberfroid, 2001*).

Le prove attuali indicano che i batteri benefici possono conferire una serie di effetti vantaggiosi all'ospite, tra cui la produzione di vitamine, la modulazione del sistema immunitario, il miglioramento della digestione e dell'assorbimento, l'inibizione delle specie batteriche nocive e la rimozione di agenti cancerogeni e altre tossine. È anche noto che il microbiota residente è costituito da agenti patogeni che possono interrompere la normale funzione intestinale e predisporre l'ospite alla malattia se gli viene permesso di crescere troppo ( *Kolida and. Gibson,*

*, 2007*). I FOS sono carboidrati non digeribili a basso contenuto calorico che migliorano il gusto e la consistenza dei prodotti alimentari, mentre il potenziale immunitario, le proprietà nutraceutiche, la salute delle ossa, le proprietà microbiche e la sua attività prebiotica nel tratto digestivo sono le luci della ribalta dei recenti studi. Si stima che l'assunzione giornaliera tipica di IN per gli adulti sia compresa tra 3 e 11 g/giorno in Europa e tra

1 e 4 g/giorno in Nord America (*Van Loo et al., 1995*). Gli oligosaccaridi, compresi alcuni ritenuti prebiotici, sono presenti nel latte materno umano: Possono essere trovati in concentrazioni fino a 12 g/L, il che li rende il terzo componente più grande del latte materno (*Newburg et al., 2004*). La presenza di oligosaccaridi in grandi quantità nel latte materno suggerisce che questi composti possono svolgere un ruolo importante nello sviluppo precoce del bambino, forse dell'intestino, del suo microbiota e del sistema immunitario. Il latte materno contiene molti composti e sostanze che influenzano la maturazione intestinale e immunitaria e di conseguenza ha un ruolo protettivo contro le infezioni e lo sviluppo di allergie (*Obihara et al., 2005*). Come nelle piante, è stato dimostrato che i fruttani e altri carboidrati eliminano i ROS (*Tarini and Wolever, 2010):* queste molecole attaccano il DNA, i lipidi e le proteine con conseguente danno cellulare. I fruttoligosaccaridi potrebbero agire come scavenger di ROS nelle piante perché hanno una forte attività antiossidante in vitro. Pertanto, l'aggiunta di fruttani alla dieta può fornire una difesa precoce contro lo stress ossidativo e può agire prima dell'attivazione dei sistemi endogeni di disintossicazione dei ROS. Il consumo di prebiotici è senza dubbio associato a numerosi benefici per la salute, in particolare al loro impatto sulla salute immunitaria, nonché alle potenziali capacità antiossidanti dei fruttani prebiotici.

**-Acerola (*Malpighia emarginata*)**

L’acerola è una pianta da frutto appartenente alla famiglia delle Malpighiaceae nativa dell’America Centrale, dell’America Meridionale e dei Caraibi. Nota anche come “ciliegia delle Barbados”, l’acerola è un frutto ricco di fitonutrienti quali antocianine, flavonoidi, acidi fenolici, carotenoidi, minerali (ferro, fosforo, calcio), vitamine (pro-vitamina A, vitamine B1, B2 e B3); ciò che rende questo frutto interessante dal punto di vista nutrizionale e terapeutico è, tuttavia, l’elevatissimo contenuto di acido ascorbico (vitamina C) che può variare dai 1500 mg/100 g ai 4500 mg/100 g, circa 50-100 i livelli di vitamina C del limone o dell’arancia (*Prakash et al., 2018*). L’acido ascorbico e i polifenoli sono alla base della spiccata capacità antiossidante del frutto, superiore a quella di altri frutti notoriamente noti per questa caratteristica. L’elevata

presenza di antiossidanti rende l'acerola un ottimo alimento per proteggere le cellule dalla tossicità delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) contrastando, in tal modo, l'invecchiamento e migliorando il quadro clinico in patologie caratterizzate da stress ossidativo (*Klosterhoff et al., 2018*).

L'acido ascorbico è una vitamina idrosolubile essenziale per la salute umana in quanto cruciale in numerosi processi metabolici (tra i quali la biosintesi di collagene, carnitina e alcuni neurotrasmettitori) come cofattore enzimatico (*EFSA Journal;79:1226, 2009*). L'EFSA (European Food Safety Authority), partendo da un corposo elenco di pubblicazioni scientifiche sui meccanismi d'azione, gli effetti, l'efficacia terapeutica della vitamina C, ha presentato diversi Panel riepilogativi su questo nutriente: la sua azione antiossidante protegge il DNA, i lipidi e le proteine dall'azione dei radicali liberi; favorisce l'assorbimento del ferro non-eme (di derivazione vegetale) a livello intestinale; è fondamentale per la rigenerazione della vitamina E; partecipa al normale metabolismo energetico in quanto necessaria alla biosintesi della carnitina, coinvolta nell'ossidazione lipidica; partecipa alla biosintesi del collagene, fondamentale per mantenere l'integrità del tessuto osseo, del tessuto connettivo, dei denti; è necessaria per la biosintesi di catecolamine (adrenalina e noradrenalina) e, quindi, per il corretto funzionamento del sistema nervoso; è necessaria per il normale funzionamento del sistema immunitario (*Vitamin C and contribution to the normal function of the immune system: evaluation of a health claim pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies*). Una cronica carenza di vitamina C può evolvere nello scorbuto, una patologia che porta a diverse manifestazioni cliniche progressivamente più gravi: si va da sintomi legati alla ridotta biosintesi di collagene (fratture ossee, versamenti articolari, artralgia, sanguinamento gengivale, caduta dei denti e, nei casi più gravi, emorragie interne) a quelli riconducibili a ridotta produzione di neurotrasmettitori (irritabilità, depressione, confusione). Uno studio del 2011 ha riscontrato un maggior grado di assorbimento di vitamina C se introdotta attraverso l'acerola e non in forma sintetica, suggerendo la presenza di un componente del frutto che ne stimola

l'assimilazione (*Uchida et al., 2011*). L'acerola è, quindi, un componente chiave per ANTUR Immuno 1, soprattutto per l'elevata disponibilità di vitamina C, nutriente imprescindibile per un buon immunostimolante.

**– Magnesio**

Il magnesio è il quarto minerale più abbondante nell'essere umano ed ha un ruolo essenziale come cofattore di più di 300 enzimi e come chelante per l'ATP. Alcuni degli enzimi magnesio-dipendenti sono: l'esochinasi, la glucosio-6-fosfatasi, la piruvato chinasi, enzimi coinvolti nel metabolismo glucidico; la pompa sodio-potassio (o pompa Na+/K+-ATP dipendente); la creatina chinasi; le ciclasi. In generale, il magnesio ricopre un ruolo fondamentale in numerosi processi biologici: sintesi degli acidi nucleici e delle proteine, divisione cellulare, metabolismo energetico, contrazione muscolare, tono dei vasi sanguigni ed eccitabilità cardiaca, neurotrasmissione, equilibrio elettrolitico (*Gröber et al., 2015*). Considerato l'ampio spettro d'azione del magnesio è evidente come una carenza cronica possa portare a disfunzioni a carico di diversi organi; i primi segni di un ridotto apporto di magnesio, poco specifici, includono inappetenza, nausea, vomito, astenia. La cronicizzazione di un insufficiente apporto di magnesio può portare a manifestazioni più severe quali: variazioni dell'eccitabilità muscolare, con sintomi quali tremori, crampi, tetania, aritmie cardiache, tachicardia; peggioramento del profilo lipidico e della tolleranza al glucosio con aumentato rischio di sviluppare la sindrome metabolica; squilibri nel metabolismo osseo e della vitamina D; squilibri nell'equilibrio elettrolitico con ricorrenti calcoli di ossalato di calcio. Osteoporosi, complicazioni della gravidanza, malattia di Alzheimer, patologie cardiovascolari, diabete mellito di tipo 2, emicrania sono tutti stati patologici associati a bassi livelli di magnesio ( *Nelson, 2018*). Il magnesio è, quindi, un prezioso elemento che contribuisce alla composizione di un integratore completo e adatto a numerose esigenze, da quelle di una donna in gravidanza a quelle di un bambino. Il mantenimento del normale metabolismo energetico, delle ossa e dei denti, la riduzione dell'affaticamento, il sostegno alla funzionalità muscolare, cardiaca e neuropsicologica sono solo alcuni esempi di ciò che Antur cercava per arricchire ANTUR Immuno 1 ed il magnesio risponde a queste e numerose altre esigenze.

**-Colostro bovino**

Il colostro è il primo latte che i mammiferi producono dopo il parto e la sua composizione differisce notevolmente da quella del latte prodotto successivamente durante il periodo di allattamento. È una fonte naturale ricca di macro e micronutrienti, immunoglobuline e peptidi con attività antimicrobica e fattori di crescita. Esso contribuisce in modo significativo alla difesa immunologica iniziale nel periodo neonatale, nonché alla crescita, sviluppo, maturazione, e integrità del tratto gastrointestinale. La concentrazione totale delle proteine nel colostro bovino

costituisce circa 15% della composizione totale, scendendo successivamente a circa il 3% nel latte maturo. I costituenti proteici possono essere divisi in due gruppi: proteine del siero di latte, che sono i componenti proteici solubili, e caseine, che sono le proteine insolubili. Entrambi i gruppi forniscono proprietà nutrizionali e bioattive. La caseina è una fosfoproteina che rappresenta circa il 75% delle proteine rinvenute in latte e derivati. Contiene peptidi con attività di tipo oppioide che hanno dimostrato di favorire lo svuotamento gastrico e l'attivazione del sistema immunitario. La caseina possiede anche una spiccata attività antibatterica, pertanto non dovrebbe essere considerata solo come una fonte di energia, ma anche come un fattore che possiede proprietà immunitarie, antibatteriche e antiinfiammatorie. La quota proteica rimanente, la componente solubile, è composta da: immunoglobuline, lattoferrina, α-lattoalbumina, β-lattoglobuina, lattoperossidasi e molti fattori di crescita. Le attività biologiche associate comprendono la modulazione del sistema immunitario, la riduzione dell'infiammazione e la stimolazione dei meccanismi di riparo cellulare.

I carboidrati presenti all'interno del colostro sono lattosio, oligosaccaridi, glicolipidi e glicoproteine e rappresentano circa l'1% della quota totale di metaboliti presenti. Possono fungere da prebiotici poiché non completamente digeriti nel tratto intestinale.

Il 7% del colostro è costituito da grassi, tra cui omega 3, omega 6, coniugati dell'acido linoleico, acidi grassi a catena corta e fosfolipidi. Sono coinvolti nello sviluppo, nella protezione e differenziazione neuronale, nella protezione contro i patogeni e nell'attivazione del sistema immunitario. Le vitamine presenti sono la vitamina A, D, E ed il complesso delle vitamine B, funzionali alla crescita ossea, all'attività antiossidante e al supporto del sistema immunitario. Tra i minerali annoveriamo calcio, zinco, rame, magnesio, fosforo, manganese e ferro. In uno studio osservazionale in pazienti affetti da HIV è stata valutata la somministrazione di colostro in 27 adulti e 2 bambini. I risultati mostrano dei miglioramenti della sintomatologia e, soprattutto, nel numero e nella frequenza delle evacuazioni. In un altro studio dopo supplementazione di colostro è diminuita la sensazione di fatica nell'81% dei pazienti trattati ed è migliorata la risposta immunitaria all'infezione da HIV. Anche l'assunzione nutrizionale e il senso di fame sono aumentati (*Rathe et al., 2014*).

In una metanalisi dove sono stati valutati diversi studi clinici su un totale di 324 bambini che soffrivano di diarrea infettiva è stato somministrato colostro dalle 2 alle 6 settimane. I risultati indicano una riduzione della frequenza delle evacuazioni, una diminuzione delle scariche diarroiche ed una riduzione della quantità di patogeni nelle feci (*Li et al., 2019*).

È stato anche dimostrato l'effetto della supplementazione di colostro nella nutrizione funzionale e nell'attività sportiva. È stato, infatti, ipotizzato come il colostro determini un aumento della sintesi proteica, della forza muscolare, della resistenza nella pratica sportiva e del recupero funzionale. Inoltre, a causa della presenza dell'IGF-1 (fattore di crescita insulino-simile), all'interno del colostro, è stata dimostrata l'attività di riduzione della glicemia, del peso corporeo, del colesterolo totale, dei trigliceridi e dei chetoni circolanti. Questo suggerisce l'impiego del colostro in pazienti prediabetici.

In una review, in cui sono stati riportati i risultati di 51 studi clinici, si è evidenziata l'attività immunomodulante del colostro, capace portare a un mantenimento o miglioramento dei sistemi di difesa nella popolazione oggetto di studio (adulti e bambini). Sono state, inoltre, dimostrate attività di supporto della funzionalità gastro-intestinale, dell'attività antimicrobica, della diminuzione dell'infiammazione intestinale e il ripristino della funzionalità della barriera intestinale. In uno studio clinico randomizzato con placebo è stata valutata la risposta alla supplementazione di colostro bovino di 3 mesi di trattamento in 120 bambini da 1 a 10 anni che soffrivano di mancata crescita (FTT). La mancata crescita (FTT) nei bambini può essere definita come un mancato aumento di peso, causato da vari fattori (socio-economici, abusi, problemi di salute, malnutrizione). Il trattamento include l'ospedalizzazione (nei casi più gravi) o il trattamento nutrizionale (aumento di proteine, carboidrati, assunzione di nutrienti essenziali). I risultati di questo studio indicano un aumento di peso nei bambini trattati rispetto al placebo ed una mancanza di effetti avversi (*Panahi et al., 2010*).

In un'altra review ottenuta da vari studi clinici è stata valutata l'efficacia del colostro in pazienti che soffrivano di disturbi gastrointestinali, vaginali e respiratori ed in persone sane. I risultati hanno evidenziato come l'assunzione di colostro determini una diminuzione della sintomatologia associata a patologie respiratorie e vaginali, una diminuzione della permeabilità intestinale ed un miglioramento della sensazione di benessere (*Guberti et al., 2021*).

**– Vitamina D3**

La D3 è una vitamina liposolubile primariamente prodotta nella pelle per esposizione ai raggi UV del 7-deidrocolesterolo. La pre-vitamina D risultante (il colecalciferolo) viene successivamente idrolizzata a livello epatico in 25-idrossicolecalciferolo (o calcidiolo), la forma

misurata durante le analisi di laboratorio per valutare i livelli di vitamina D dell'individuo. Un ultimo passaggio avviene a livello renale, dove il calcidiolo viene ulteriormente idrossilato in 1,25- diidrossicolecalciferolo (o calcitriolo), la forma attiva della vitamina D3. Una percentuale minoritaria (fino al 20% in dipendenza da etnia, stagione e tempo di esposizione al sole) viene, invece, introdotta con l'alimentazione come colecalciferolo o come ergocalciferolo (vitamina D2). La funzione principale della vitamina D è la regolazione dei livelli di calcio e fosforo (compreso il loro assorbimento a livello intestinale) e, di conseguenza, della corretta mineralizzazione ossea. Un Panel dell'EFSA (European Food Safety Authority), dall'analisi di numerosi studi svolti sull'argomento, sottolinea la forte associazione tra un corretto apporto di vitamina D e la sana crescita ossea in bambini e adolescenti. Livelli non ottimali di vitamina D hanno, al contrario, mostrato una riduzione dell'accrescimento osseo nella stessa popolazione di riferimento. Tale fenomeno, se prolungato, può portare a rachitismo nei bambini ed osteomalacia negli adulti (*Uchitomi et al.,. 2020*). La vitamina D è, inoltre, fondamentale per il corretto funzionamento del sistema immunitario, stimolando sia la risposta innata che quella adattativa. Bassi livelli di vitamina D sono, inoltre,

associati a una maggiore incidenza di patologie autoimmuni come il diabete mellito di tipo 1, la sclerosi multipla, l'artrite reumatoide (*Prietl et al., 2013*).

Un ultimo importante aspetto della vitamina D è il suo ruolo nel mantenimento della funzione muscolare, in particolar modo nella sarcopenia geriatrica: Un corretto apporto di vitamina D può, quindi, costituire una buona prevenzione per la perdita di massa e potenza muscolare se associato a una corretta alimentazione e attività fisica.

La vitamina D è, quindi, parte della formula immunostimolante di Antur Immuno 1 e, in più, rappresenta un fondamentale nutriente per la corretta crescita ossea nei più giovani e per il loro mantenimento nell'età adulta.

## *CAPITOLO 4 CONCLUSIONI*

L'importanza del microbiota intestinale nell'omeostasi della salute e nella patogenesi delle malattie è diventato sempre più evidente. Infatti il microbiota intestinale è strettamente collegato a tanti aspetti della fisiologia che sono stati evidenziate sia mediante studi sugli animali, che in studi sull'uomo. Uno degli approcci che comincia ad essere sempre più utilizzato prevede l'uso di integratori come i probiotici mentre, anche la corretta assunzione di prebiotici ha può avere degli effetti benefici e può essere facilmente ottenuta con una dieta che includa un ampio consumo di verdure, anche se la loro supplementazione richiede ulteriori studi che definiscano quali tipi e dosaggi. I postbiotici, infine finora hanno mostrato più limitazioni che vantaggi terapeutici. Un ruolo molto importante sembra essere anche a carico di funghi e piante medicinali nella modulazione del microbiota intestinale, anche se al momento è stato testato ed analizzato solo per alcuni di essi e principalmente su modelli animali. La disbiosi del microbiota intestinale riflette cambiamenti nella resistenza, stabilità e diversità dei microrganismi intestinali, nonché una riduzione quantitativa e qualitativa dell'abbondanza degli acidi grassi a catena corta (SCFAs) prodotti dai batteri intestinali (Iebba et al., 2016). In aggiunta a questo squilibrio, c'è anche la fragilità della barriera intestinale associata a un minor numero di giunzioni strette aumenta la permeabilità e la traslocazione di fattori proinfiammatori come i lipopolisaccaridi e frammenti della parete batterica gram-negativa, che raggiungono il flusso sanguigno causando endotossiemia metabolica (Cani, 2018; Zhang et al., 2013).

In questo contesto, un prodotto nutraceutico come Antur Immuno 1, rappresenta un passo significativo verso un approccio olistico alla salute. Attraverso la sua formulazione unica e la ricerca di mercato mirata, offre una soluzione innovativa che risponde alla crescente domanda di prodotti che supportano la salute intestinale. Infatti. quando, le difese immunitarie risultano indebolite o addirittura compromesse in seguito a periodi di forte stress psicologico e fisico e durante i cambi di stagione. Oltre a tali condizioni, l'utilizzo di integratori come Antur Immun1 è particolarmente indicato anche in alcune condizioni patologiche, in caso di carenza di vitamina B12, per l'utilizzo di antibiotici e per un'alimentazione scorretta. I componenti di tale integratore, proprio per le loro diverse proprietà dei suoi componenti come i flavonoidi, antiossidanti, immunostimolanti, antinfiammatorie è possibile pertanto definire Antur-Immuno 1 come ottimo alleato per il ripristino di un alterato microbiota intestinale, ed apportare numerosi benefici allo stesso. Naturalmente la formulazione del prodotto è approvata seguendo le rispettive linee guida europee che lo indicano come prodotto sicuro per la salute ma, analogamente a tutti gli integratori alimentari, non utilizzabile come sostituto ad un corretto stile di vita e a sane abitudini alimentari.

***BIBLIOGRAFIA***


Akinbo S.R.A., Noronha C.C., Okanlawon A.O., Denesi M.A. Comparative study of the effect of Morinda citrifolia (Noni) with selected physiotherapy modalities in the management of patients with cervical spondylosis. Niger. J. Health Biomed. Sci, 6–11, 2006.

Alemany M, The problem of nitrogen disposal in the obese. Nutr Res Rev 25(1):18–28, 2017.

Arumugam M et al, Enterotypes of the human gut microbiome Nature 473(7346):174–180, 2011.

B. Denisow, M. Denisow-Pietrzyk, Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review,J. Sci. Food Agric., 4303–4309, 2016.

Baldus S, Müllerleile K, Chumley P, Steven D, Rudolph V, Lund GK, et al. Inhibition of xanthine oxidase improves myocardial contractility in patients with ischemic cardiomyopathy. Free Radic Biol Med., 1282–1288, 2006.

Bell DS, Changes seen in gut bacteria content and distribution with obesity: causation or association? Postgrad Med, 863–868, 2015.

Bhargava P, Smith MD, Mische L, Harrington E, Fitzgerald KC, Martin K, et al. Bile acid metabolismis altered in multiple sclerosis and supplementation ameliorates neuroinflammation. J Clin Invest, 42:1160-1200, 2020.

Bovee-Oudenhoven, I.M.J.; Termont, D.S.; Heidt, P.J.; van der Meer, R. Increasing the intestinal resistance of rats to the invasive pathogen Salmonella enteritidis: Additive effects of dietary lactulose and calcium, 497–504, 1997.

Brandsma E et al, The immunity-diet-microbiota axis in the development of metabolic syndrome. Curr Opin Lipidol, 73–81, 2015.

Brooks V.J., de Wolfe T.J., Paulus T.J., Xu J., Cai J., Keuler N.S., Godbee R.G., Peek S.F., McGuirk S.M., Darien B.J. Ethnoveterinary application of Morinda citrifolia fruit puree on a commercial heifer rearing facility with endemic salmonellosis. Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med., 1–8, 2013.

Brown AJ et al, The Orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. J Biol Chem,11312–11319, 2003.

Brown, Sadarangani e Finlay, The role of the immune system in governing host-microbe interactions in the intestine, 112:234, 2013.

Buffie, C. G. et al, Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to Clostridium difficile. Nature 517, 205–208, 2015.

Caesar R et al, Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling. Cell Metab :658–668, 2016.

Cani, P.D. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. Gut 67, 1716–1725, 2018.

Caricilli AM, Picardi PK, de Abreu LL, Ueno M, Prada PO, Ropelle ER, Hirabara SM, Castoldi Â, Vieira P, Camara NO, Curi R, Carvalheira JB, Saad MJ. Gut microbiota is a key modulator of insulin resistance in TLR 2 knockout mice. PLoS Biol, 1001:212, 2009.

Cencic A.; Chingwaru, W. The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. Nutrients, 611–625, 2010.

Cerf-Bensussan N, Gaboriau-Routhiau V : The immune system and the gut microbiota : friends or foes? Nat Rev Immunol 735-744, 2010.

Chantarudee, P. Phuwapraisirisan, K. Kimura, M. Okuyama, H. Mori, A. Kimura, C. Chanchao, Chemical constituents and free radical scavengingactivity of corn pollen collected from Apis mellifera hives compared to floral corn pollen at Nan, Thailand, BMC Complem. Altern. M.,1-12, 2012.

Cochet, F.; Peri, F. The Role of Carbohydrates in the Lipopolysaccharide (LPS)/Toll-Like Receptor 4 (TLR4) Signalling. Int. J. Mol. Sci., 18, 23-18, 2017.

Crittenden, R.; Playne, M.J. Nutrition News. Facts and functions of prebiotics, probiotics and synbiotics.In Handbook of Probiotics and Prebiotics; Lee, Y.K., Salminen, S., Eds.;

Crittenden, R.; Playne, M.J. Prebiotics. In Handbook of Probiotics and Prebiotics; Lee, Y.K., Salminen,

Cummings JH et al, Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood, 1221–1227, 1987.

David L Nelson Michael M Cox, I principi di biochimica di Lehninger, Settima edizione, A cura di Edon Melloni, 2018.

De Filippo C et al, Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children

Duncam SH, Louis P, Flint HJ : Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product. Appl Environ Microbiol 70 : 5810-5817, 2004.

EFSA Journal;79:1226, 2009.

European Commission Commission decision of 5 June 2003 authorising the placing on the market of "noni juice "(juice of the fruit of Morinda citrifolia L.) as a novel food ingredient under regulation (EC) No 258/97 of the European parliament and of the council, accessed on 11 December 2017.

F.L. L. Sun, Y. Guo, Y. Zhang, Y. Zhuang, Antioxidant and anti-tyrosinase activities of phenolic extracts from rape bee pollen and inhibitory melanogenesis by cAMP/MITF/TYR pathway in B16 mouse melanoma cells, Front. Pharmacol., 1-9, 2017.

Fabich AJ et al, Comparison of carbon nutrition for pathogenic and commensal Escherichia coli strains in the mouse intestine. Infect Immun, 1143–1152, 2006.

Flint, H.J.; Salminen, S.; et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol., 506–514, 2014.

Flint, H.J.;Salminen, S.; et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol., 506–514, 2014.

Food and Agriculture Organization (FAO). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food; Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food;FAO: London, ON, Canada, 30 April–1 May, 2002.

Food and Agriculture Organization. FAO Technical Meeting on Prebiotics: Food Quality and Standards Service (AGNS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); FAO Technical Meeting Report; FAO: Rome, Italy, 15–16 September, 2007.

from Europe and rural Africa. Proc Natl Acad Sci USA 107, 14691–14696, 2010.

Fuller, R. Probiotics in man and animals. J. Appl. Microbiol., 365–378, 1989.

G. Conte, G. Benelli, A. Serra, F. Signorini, M. Bientinesi, C. Nicolella, M. Mele, A. Canale, Lipid characterization of chestnut and willow honeybeecollected pollen: Impact of freeze-drying and microwave-assisted drying, J. Food Compos. Anal., 12-19, 2017.

Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, et al. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn'sdisease. Cell Host Microbe , 46: 28-97, 2014.

Gibson, G.R.; Probert, H.M.; van Loo, J.; Rastall, R.A.; Roberfroid, M. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of the prebiotics. Nutr. Res. Rev., 259–275, 2004.

Gill, H.S.; Cross, M.L. Probiotics and immune function. In Nutrition and Immune Function; 2002.

Girardi C, Butaud JF, Ollier C, Ingert N, Weniger B, Raharivelomanana P, Moretti C.. Herbal medicine in the Marquesas Islands. J. Ethnopharm., 200–213, 2015.

Gordon, Sommer e Backhed, The gut microbiota—Masters of host development and physiology, 126:300, 2013.

Griendling KK, Minieri CA, Ollerenshaw JD, Alexander RW. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cells., 1141–1148, 1994.

Gröber, Uwe et al. “Magnesium in Prevention and Therapy.” Nutrients vol. 7,9 8199-226.2015.

Guarner F, Malagelada JR, Gut flora in health and disease. Lancet, 512–519, 2003.

Guberti, M.; Botti, S.; Capuzzo, M.T.; Nardozi, S.; Fusco, A.; Cera, A.; Dugo, L.; Piredda, M.; De Marinis, M.G. Bovine Colostrum Applications in Sick and Healthy People: A Systematic Review. Nutrients, 2021.

Hamilton-Miller, JM, Probiotics and prebiotics in the elderly. Postgrad Med J, 447–451, 2004.

Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2014;

Hotamisligil, G.S. Inflammation and metabolic disorders. Nature, 860–867, 2006.

I.L. Pereira de Melo, L.B. de Almeida-Muradian, Stability of antioxidant vitamins in bee pollen samples, Quim. Nova 33 (2010) 514-518

Iebba, V., Totino, V., Gagliardi, A., Santangelo, F., Cacciotti, F., Trancassini, M., Mancini,C., Cicerone, C., Corazziari, E., Pantanella, F., and Schippa, S. Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota. New Microbiologica 39, 1-12. 2016

J. Bernal, J.A. Mendiola, E. Ibáñez, A. Cifuentes, Advanced analysis of nutraceuticals, J. Pharm. Biomed. Anal., 758–774, 2011.

J. Tarini and T. M. S. Wolever, "The fermentable fiber inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects," Applied Physiology,

J.A.G. Sattler, A.A.M. de Melo, K.S. do Nascimento, I.L.P. de Melo, J. Mancini-Filho, A. Sattler, L.B. de Almeida-Muradian, Essential minerals and inorganic contaminants(barium, cadmium, lithium, lead and vanadium) in dried bee pollen produced in Rio Grande do Sul State, Brazil, Food Sci. Technol., 505-509, 2016.

K.C.L.S. Oliveira, M. Moriya, R.A.B. Azedo, L.B. de Almeida-Muradian, E.W. Teixeira, M.L.T.M.F. Alves, A.C.C.C. Moreti, Relationship between botanical origin and antioxidants vitamins of bee-collected pollen, Quim. Nova, 1099-1102, 2009.

Khurana S, Venkataraman K, Hollingsworth A, Piche M, Tai TC. Polyphenols: benefits to the cardiovascular system in health and in aging. Nutrients, 3779–3827, 2013.

Kigerl, K. A. et al. Gut dysbiosis impairs recovery after spinal cord injury. J. Exp. Med. 213, 2603–2620, 2016.

Klosterhoff RR, Bark JM, Glänzel NM, Iacomini M, Martinez GR, Winnischofer SMB, Cordeiro LMC Structure and intracellular antioxidant activity of pectic polysaccharide from acerola (Malpighia emarginata). Int J Biol Macromol, 473-480, 2018.

Koenig, J. E. et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. Proc. Natl Acad. Sci. USA 108 (Suppl. 1), 4578–4585, 2011.

Korem, T. et al. Growth, dynamics of gut microbiota in health and disease inferred from single metagenomic samples. Science 349, 1101–1106, 2015.

Kostic AD, Gevers D, Siljander H, et al. The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. Cell Host Microbe, 44: 120-132, 2015.

Le Chatelier E et al, Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. Nature 500(7464):541–546, 2013.

Lee, Y.K., Salminen, S., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 177–187, 2009.

Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaiss CA, et al. Dysbiosis and the immune system. Nat Rev Immunol, 32:170-180, 2017.

Leyer et al. 2009; Vouloumanou et al. 2009; Ciorba 2012; Borges, Silva e Teixeira 2014.

Li, J., Xu, YW., Jiang, JJ. et al. Bovine colostrum and product intervention associated with relief of childhood infectious diarrhea. Sci Rep 9, 3093, 2019.

Lilly, D.M.; Stillwell, R.H. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms, 747–748, 1965.

M. B. Roberfroid, "Prebiotics: preferential substrates for specific germs?" American Journal of Clinical Nutrition, vol. 73, no. 2, supplement, pp. 406S–409S, 2001.

M.; Hammes, W.P.; Hertel, C. Characterization of Lactobacillus coryniformis DSM 20001T surface protein CPF mediating coaggregation with and aggregation among pathogens. Appl. Environ. Microbiol., 7078–7085, 2004.

Magee EA et al, Contribution of dietary protein to sulfide production in the large intestine: an in vitro and a controlled feeding study in humans. Am J Clin Nutr 72(6):1488–1494, 2000.

Mitsuoka T, Sega T, Yamamoto S : Improved methodology of qualitative and quantitative analysis of the intestinal flora of man and animals. Zentralbl Bakteriol Orig 195 : 455-469, 1965

Newburg, DS, Ruiz-Palacios, GML, Altaye, M et al., Innate protection conferred by fucosylated oligosaccharides of human milk against diarrhea in breastfed infants. Glycobiology, 253–263, 2004.

Ng SC, Shi HY, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: A systematic review of population-based studies. Lancet, 52: 160-182, 2018.

Nishikawa J, Kudo T, Sakata S, Benno Y, Sugiyama T : Diversity of mucosa-associated microbiota in active and inactive ulcerative colitis. Scand J Gastroenterol 44 : 180-186, 2009.

Obihara, CC, Marais, BJ, Gie, RP et al., The association of prolonged breastfeeding and allergic disease in poor urban children. Eur Respir J, 970–977, 2005.

Oelschlaeger, T.A. Mechanisms of probiotic actions—A review. Int. J. Med. Microbiol. 57–62, 2010.

Ouwehand, A.C.; Kirjavainen, P.V.; Shortt, C.; Salminen, S. Probiotics: Mechanisms and established effects. Int. Dairy J, 43–52, 1999.

Ouwerkerk, J.P.; de Vos, W.M.; Belzer, C. Glycobiome: Bacteria and mucus at the epithelial interface.Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol., 27, 25–38, 2013.

P.C., Field, C.J., Gill, H.S., Eds.; CABI Publishing: Wallingford, UK, 251–272, 2002.

P.J. Ebenezer, C.B. Wilson, L.D. Wilson, A.R. Nair, J. Francis The anti-inflammatory effects of blueberries in an animal model of post-traumatic stress disorder (PTSD) PLoS One, 2016.

Pagano PJ, Chanock SJ, Siwik DA, Colucci WS, Clark JK. Angiotensin II induces p67phox mRNA expression and NADPH oxidase superoxide generation in rabbit aortic adventitial fibroblasts. Hypertension;331–337, 1998.

Paixao J, Dinis TCP, Almeida LM. Malvidin-3-glucoside protects endothelial cells up-regulating endothelial NO synthase and inhibiting peroxynitrite-induced NF-κB activation. Chem Biol Interact., 192–200, 2012.

Panahi, Yunes; Falahi, Gholamhossein; Falahpour, Morteza; Moharamzad, Yashar; Khorasgani, Mohammad Rabbani; Beiraghdar, Fatemeh; Naghizadeh, Mohammad Mehdi|| Bovine Colostrum in the

Management of Nonorganic Failure to Thrive: A Randomized Clinical Trial, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition: May 2010.

Panesar, P.S.; Kaur, G.; Panesar, R.; Bera, M.B. Synbiotics: Potential Dietary Supplements in Functional Foods; IFIS: Berkshire, UK, 2009.

Pascoal A, Rodrigues S, Teixeira A, Feás X, Estevinho LM., Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory, Food Chem. Toxicol, 233-239, 2014.

Petard P. Quelques Plantes Utiles de Polynesie Francaise et Raau Tahiti. Haere Po No Tahiti; Papeete, French Polynesia, pp. 280–286, 1986.

Png CW, Linde´n SK, Gilshenan KS, et al. Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in-vitro utilization of mucin by other bacteria. Am J Gastroenterol, 27: 123-142,2010

Prakash, Anand, and Revathy Baskaran. "Acerola, an untapped functional superfruit: a review on latest frontiers." Journal of food science and technology vol.55, 3373-3384, 2018.

Prietl, Barbara et al. "Vitamin D and immune function." Nutrients vol. 5,7 2502-21. 5 Jul. 2013,

Rajili´c-Stojanovi´c M, de Vos WM : The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota. FEMS Microbiol Rev 38 : 996-1047, 2014.

Rathe M, Müller K, Sangild PT, Husby S. Clinical applications of bovine colostrum therapy: a systematic review. Nutr Rev., 237-54, 2014.

Reis, Jordano Ferreira et al. "Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: a systematic review of animal and human studies." Journal of translational medicine vol. 14,1 315. 15 Nov. 2016.

Ridker, P. M., Cushman, M., Stampfer, M. J., Tracy, R. P. & Hennekens, C. H. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. N. Engl. J. Med. 336, 973–979,1997.

Ridker, P. M., Hennekens, C. H., Buring, J. E. & Rifai, N.C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women.N. Engl. J. Med. 342, 836– 843, 2000.

Rizzatti, G.; Lopetuso, L.R.; Gibiino, G.; Binda, C.; Gasbarrini, A. Proteobacteria: A Common Factor in Human Diseases. BioMed Res. Int., 23-59, 2017.

Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. Nat Rev Immunol 43: 900-923, 2009.

Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillere R, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. Science , 50: 330-341, 2018.

S. Kolida and G. R. Gibson, "Prebiotic capacity of inulin-type fructans," Journal of Nutrition, vol. 137, no. 11, supplement, pp. 2503S–2506S, 2007.

Satokari, R. Contentious host-microbiota relationship in inflammatory bowel disease—Can foes become friends again? Scand. J. Gastroenterol., 50, 34–42, 2015.

Schafer M., Sharp P., Brooks V.J., Xu J., Cai J., Keuler N.S., Peek S.F., Godbee R.G., Schultz R.D., Darien B.J. Enhanced bactericidal activity against Escherichia coli in calves fed Morinda citrifolia (Noni) puree. J. Vet. Intern. Med., 499–502, 2008.

Schroeder, B.O.; Backhed, F. Signals from the gut microbiota to distant organs in physiology and disease.Nat. Med., 22, 1079–1089, 2016.

Seeram NP, Zhang Y, Nair MG. Inhibition of proliferation of human cancer cells and cyclooxygenase enzymes by anthocyanidins and catechins. Nutr Cancer., 101–106, 2003.

Shankar V et al, Differences in gut metabolites and microbial composition and functions between Egyptian and U.S. children are consistent with their diets. mSystems, 366:125, 2017.

Simon, O. Micro-organisms as feed additives—Probiotics. Adv. Pork Prod., 161–167,2005.

Smith K, McCoy KD, Macpherson AJ : Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals totheir commensal intestinal microbiota. Semin Immunol 19: 59-69, 2007.

Sonnenburg, E. D. et al. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. Nature 529, 212–215, 2016.

Stecher B, Maier L and Hardt W-D. 'Blooming' in the gut: How dysbiosis might contribute to pathogen evolution, Nat Rev Microbiol, 32: 77-123, 2013.

Stecher, B., Maier, L. & Hardt, W. D. 'Blooming' in the gut: how dysbiosis might contribute to pathogen

Strauss J, Kaplan GG, Beck PL, et al. Invasive potential of gut mucosa-derived Fusobacterium nucleatum positively correlates with IBD status of the host. Inflamm Bowel Dis, 37: 126-135, 2011.

Suzuki, T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. Cell. Mol. Life Sci.,631–659, 2013.

Travica N, D'Cunha NM, Naumovski N, Kent K, Mellor DD, Firth J, Georgousopoulou EN, Dean OM,Loughman A, Jacka F, Marx W. The effect of blueberry interventions on cognitive performance and mood: A systematic review of randomized controlled trials. Brain Behav Immun., 96-105, 2020.

Treuting, Valasek e Dintzis, Comparative Anatomy, Physiology, and Mechanisms of Disease Production of the Esophagus, Stomach, and Small Intestine 20: 10-17, 2011

Tsai CC, Lin CR, Tsai HY, Chen CJ, Li WT, Yu HM, Ke YY, Hsieh WY, Chang CY, Wu YT, Chen ST, Wong CH. The immunologically active oligosaccharides isolated from wheatgrass modulate monocytes via toll-like receptor-2 signaling. The Journal of Biological Chemistry, vol. 288, no. 24, pp. 17689–17697, 2013.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest, 23: 1000-1055, 2006.

Uchida E, Kondo Y, Amano A, Aizawa S, Hanamura T, Aoki H, Nagamine K, Koizumi T, Maruyama N, Ishigami A. Absorption and excretion of ascorbic acid alone and in acerola (Malpighia emarginata) juice: comparison in healthy Japanese subjects. Biol Pharm Bull, 1744-7, 2011.

Uchitomi, Ran et al. "Vitamin D and Sarcopenia: Potential of Vitamin D Supplementation in arcopenia Prevention and Treatment." Nutrients vol. 12,19 Oct. 2020.

Van Loo, J, Coussement, P, de, LL, Hoebregs, H & Smits, On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. Crit Rev Food Sci Nutr, 525–552, 1995.

Vavricka SR, Schoepfer A, Scharl M, et al. Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis, 34: 141-155, 2015.

Vergin, F. Anti-und Probiotica. Hipokrates, 116–119, 1954.

Vitamin C and contribution to the normal function of the immune system: evaluation of a health claim pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies.

Walker AW et al, High-throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease. BMC Microbiol 11:7, 2011.

Wang M.Y., Peng L., Weidenbacher-Hoper V., Deng S., Anderson G., West B.J. Noni juice improves serum lipid profiles and other risk markers in cigarette smokers. Sci. World J, 2012.

Wang MY, Lutfiyya MN, Weidenbacher-Hoper V., Anderson G., Su CX, West BJ Attività antiossidante del succo di noni nei forti fumatori. Chimica. cent. J., 2009.

Wang, Y. Prebiotics: Present and future in food science and technology. Food Res. Int., 8–12, 2009.

West B.J., Jensen C.J., Westendorf J. A new vegetable oil from noni (Morinda citrifolia) seeds. Int. J. Food Sci. Technol;1988–1992, 2008.

Wiley-Interscience, Kansas State University: Hoboken, NJ, USA; Manhattan, KS, USA, 535–582, 2008.

Xiong Y et al, Short-chain fatty acids stimulate leptin production in adipocytes through the G protein-coupled receptor GPR41. Proc Natl Acad Sci USA, 1045–1050, 2004.

Y.K. Selection and maintenance of probiotic microorganisms. In Handbook of Probiotics and Prebiotics;

Zhang C et al, Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations. ISME J:1848–1857, 2012.

Zhang, D., Li, Y. H., Mi, M., Jiang, F. L., Yue, Z. G., Sun, Y., Fan, L., Meng, J., Zhang, X., Liu, L., & Mei, Q. B. Modified apple polysaccharides suppress the migration and invasion of colorectal cancer cells induced by lipopolysaccharide. Nutrition research (New York, N.Y.), 33(10), 839–848. 2013.

Zitvogel L et al, Cancer and the gut microbiota: an unexpected link. Sci Transl Med 271:271, 2015.