



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE FARMACEUTICHE APPLICATE

TESI DI LAUREA

**Nuovi preparati vegetali per il trattamento della disbiosi
intestinale**

RELATORE: PROF.SSA ANTONELLA BERTAZZO

LAUREANDA: ILARIA RESENTE

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

Indice

Introduzione	1
Capitolo 1: Il microbiota intestinale	
1.1 Cos'è il microbiota intestinale	2
1.2 Formazione del microbiota intestinale	2
1.3 Composizione del microbiota intestinale	3
1.4 Fattori influenzanti la composizione del microbiota intestinale	4
Capitolo 2: La disbiosi intestinale	
2.1 Cos'è la disbiosi intestinale	7
2.2 Le forme di disbiosi intestinale	9
Capitolo 3: Probiotici, prebiotici e simbiotici in caso di disbiosi intestinale	
3.1 Ribilanciare l'ecosistema intestinale	11
3.2 I probiotici	11
3.2.1 Probiotici rivestiti con biofilm	17
3.3 I prebiotici e le formulazioni simbiotiche	18
Capitolo 4: Dieta come modulatore del microbiota intestinale	
4.1 Approccio dietetico per modulare il microbiota intestinale	21
4.2 Dieta mediterranea ed atlantica	21
Capitolo 5: Piante medicinali utili nel trattamento della disbiosi intestinale	
5.1 Piante medicinali tradizionalmente utilizzate nell'Unione Europea per i disturbi gastrointestinali	26
5.2 Olii essenziali puri	30
5.3 Droghe vegetali ricche in olii essenziali	32
5.3.1 Aspetti botanici di <i>Curcuma longa</i> L.	35
5.3.1.1 Effetto prebiotico-simile di <i>Curcuma longa</i> L.	37
5.4 Droghe vegetali contenenti tannini e antocianine.....	38
5.4.1 Aspetti botanici e proprietà di <i>Agrimonia eupatoria</i> L.	39
5.4.2 Aspetti botanici e proprietà di <i>Fragaria vesca</i> L.	40
5.4.3 Aspetti botanici e proprietà di <i>Vaccinium myrtillus</i> L.	41
5.5 Droghe vegetali contenenti inulina	45
5.5.1 Aspetti botanici di <i>Helianthus tuberosus</i> L.	46
5.5.1.1 <i>Helianthus tuberosus</i> L. come prebiotico	47
5.5.2 Aspetti botanici e proprietà di <i>Cynara scolymus</i> L.	48
5.5.3 Aspetti botanici e proprietà di <i>Taraxacum officinale</i> Web.	49
5.6 Aspetti botanici e proprietà di <i>Citrus paradisi</i> M.	50
5.7 Aspetti botanici e proprietà di <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	50
5.8 Aspetti botanici e proprietà di <i>Scutellaria baicalensis</i> Geor.	52
5.9 Aspetti botanici e proprietà di <i>Linum usitatissimum</i> L.	53

Capitolo 6: Il regno dei funghi nel trattamento della disbiosi intestinale

6.1 Funghi e microbiota: possibile interazione	55
6.2 Proprietà di <i>Ganoderma lucidum</i>	55
6.3 Proprietà di <i>Inonotus obliquus</i>	56
6.4 Funghi come prebiotici	57
Conclusioni	59
Bibliografia	66
Sitografia	72

Introduzione

Batteri, funghi e virus convivono in modo armonico ed in equilibrio dinamico nel nostro tratto intestinale. Questa comunità microbica inizia a colonizzare il nostro corpo prima della nostra nascita e vive in esso in una relazione mutualistica fino alla morte. Questa colonia intestinale contribuisce al metabolismo dei nutrienti, calibra le funzioni metaboliche, educa e stimola il sistema immunitario, mantiene l'integrità della comunità stessa e difende l'ospite da eventuali agenti patogeni. L'insieme dei genomi batterici che coesistono con l'ospite è chiamato microbioma.

Il premio Nobel Eli Metchnikoff ha dichiarato che “la maggior parte delle malattie iniziano nel tratto digestivo quando i batteri "buoni" non sono più in grado di controllare i batteri "cattivi"”, chiamando questa condizione disbiosi. Quando questa si manifesta, i batteri potenzialmente patogeni prendono il sopravvento a spese di microbi potenzialmente benefici. Conseguentemente, si può notare una perdita della diversità microbica complessiva, mentre parallelamente si verifica una crescita eccessiva di specie chiamate patobionti, che sono varianti genetiche del microbiota "patogeno". Molto spesso tale condizione viene trascurata sebbene comporti varie conseguenze che vanno ben oltre la semplice e comune diarrea; essa infatti può scatenare anche disfunzioni a fegato, vie biliari e pancreas, stitichezza, acne ed eczemi, anemia, depressione, ipovitaminosi, riduzione delle difese immunitarie fino ad arrivare alla predisposizione di infezioni ricorrenti.

Sono stati scoperti diversi tipi di disbiosi (da carenza, putrefattiva, della suscettibilità, fermentativa e fungina) così come diversi e nuovi approcci terapeutici utili per ripristinare il microbiota intestinale. L'approccio più conosciuto fino ad ora è sicuramente quello della somministrazione di preparati probiotici e prebiotici come i più comuni bifidobatteri e lattobacilli; è inoltre fondamentale un approccio basato su una dieta variata, equilibrata e ricca di fibre.

Specialmente nell'ultimo decennio, si stanno studiando le possibili interazioni che le piante medicinali possono avere col microbiota al fine di riportare l'organismo ad una situazione di eubiosi intestinale. Le piante medicinali sin dai tempi antichi sono state un'importante opzione terapeutica per il trattamento dei disturbi gastrointestinali. La ricerca di principi attivi presenti nelle piante che possano svolgere un'azione benefica in caso di disbiosi si sta intensificando parallelamente alla continua ricerca di piante che possano anche ridurre i disturbi funzionali gastrointestinali (FGID). Altro ambito di ricerca in forte sviluppo è quello dei funghi, i cui risultati confermano che possono essere utilizzati come agenti prebiotici per prevenire la disbiosi intestinale e l'obesità.

Questa trattazione è ora focalizzata sui nuovi preparati vegetali, o i principi attivi in essi contenuti, in grado di aumentare l'abbondanza di vari gruppi batterici benefici e ridurre le più comuni sintomatologie che la disbiosi intestinale fa sviluppare.

Capitolo 1: Il microbiota intestinale

1.1 - Cos'è il microbiota intestinale

Batteri, funghi e virus convivono in modo armonico ed in equilibrio dinamico nel nostro tratto intestinale. I virus svolgono un ruolo rilevante nell'ecosistema intestinale: il 90% dei virus intestinali è costituito da batteriofagi, mentre il restante 10% comprende diversi virus vegetali e animali che vengono costantemente introdotti con la nutrizione. Questa comunità microbica inizia a colonizzare il nostro corpo prima della nascita e vive in esso in una relazione mutualistica fino alla morte. Questa colonia intestinale contribuisce al metabolismo dei nutrienti, calibra le funzioni metaboliche, educa/stimola il sistema immunitario, mantiene l'integrità della comunità stessa e difende l'ospite da eventuali agenti patogeni. L'insieme dei genomi batterici che coesistono con l'ospite è chiamato microbioma. La sua capacità di codifica è 150 volte superiore al genoma umano e fornisce caratteristiche funzionali che gli esseri umani non hanno evoluto. La somma del genoma umano e il contributo del microbioma è chiamata ologenoma, che determina le caratteristiche metaboliche dell'organismo. (Gagliardi *et al.*,2018)

1.2 - Formazione del microbiota intestinale

La varietà e la disponibilità di siti di adesione permettono al genoma ospite di controllare la prima colonizzazione di batteri, modellando così un intestino-habitat che favorirà la colonizzazione di specie affini e non concorrenti. Fino a poco tempo fa, si credeva che lo sviluppo del feto avvenisse all'interno di un utero sterile. Questo era il dogma, e qualsiasi microrganismo nella cavità uterina era visto come dannoso e pericoloso per il feto. L'aumento delle prove e degli studi indica invece che il feto si sviluppa in un ambiente non completamente privo di germi: molte specie di microbi sono appunto state rilevate nel cordone ombelicale, nel liquido amniotico e nelle membrane fetali in gravidanze apparentemente normali senza alcuna indicazione di infiammazione o patologia.

Dopo la nascita, il neonato acquisisce i microbi dall'ambiente, dal cibo e dalle persone vicine. Nel primo mese di vita, il microbiota intestinale è meno stabile e la sua biodiversità aumenterà con il tempo. Parallelamente alla colonizzazione microbica, il sistema immunitario umano deve imparare a tollerare la grande quantità di antigeni presenti nell'ambiente. La colonizzazione, nelle fasi iniziali della vita, si verifica in concomitanza con lo sviluppo, l'espansione e

l'educazione del sistema immunitario. Ciò indica che durante le prime fasi, fattori con un impatto negativo sulla composizione del microbiota potrebbero essere anticipazioni di diverse malattie che potranno poi svilupparsi negli anni successivi. Il parto (naturale o cesareo), così come la nutrizione (seno o latte artificiale) sono fattori che incidono fortemente sulla composizione dei microbioti intestinali. Il microbiota si evolve rapidamente e si stabilizza a circa tre anni e i fattori che ne influenzano lo sviluppo, influenzano fortemente la crescita del bambino e la vita adulta.

In uno studio sullo sviluppo del microbiota intestinale nei neonati, ha rivelato che nei primi giorni-settimane di vita, il microbiota di questi è altamente variabile e soggetto a ondate di fluttuazioni temporali per poterlo assemblare in modo coordinato e stabile. I primi anni di vita sono anche un periodo di grande sviluppo post-natale del sistema immunitario. Dato che il microbiota ha marcate influenze sul sistema immunitario, deviazioni dal normale sviluppo di questo (attraverso strategie moderne quali un taglio cesareo, dieta particolare, igiene, vaccinazione e uso di antimicrobici nei neonati) possono modificare l'esito dello sviluppo immunitario e predisporre, potenzialmente, gli individui a varie malattie infiammatorie nel corso della vita. (Round JL *et al.*, 2009)

1.3 - Composizione del microbiota intestinale

A livello tassonomico dei phyla, un microbiota sano negli esseri umani adulti è composto principalmente da *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, che insieme rappresentano circa il 70% del totale; si possono trovare anche *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Cyanobacteria*, anche se in percentuali inferiori. Gli anaerobi obbligati dominano e superano di due volte quelli facoltativi e di tre gli aerobi. A livello tassonomico delle specie, la composizione dei microbioti intestinali cambia da individuo a individuo ed è paragonabile ad un'impronta digitale. La distribuzione e l'abbondanza di specie/gruppi nei microbioti differiscono notevolmente nei diversi distretti intestinali e dipendono dal sistema gastrico, dalla secrezione acida, dalla peristalsi gastrointestinale, dalla secrezione mucosa di IgA, dalle caratteristiche immunitarie dell'individuo e dalle influenze ambientali. Un aumento della biodiversità della specie e della densità microbica sono osservabili lungo il tratto gastrointestinale procedendo nella direzione del tratto caudale-cervicale. Si possono osservare differenze nella composizione dell'intestino anche tra il lume intestinale e la superficie della mucosa: *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*,

Clostridium, *Lactobacillus*, e *Ruminococcus* sono i generi predominanti nel lume intestinale, mentre *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, e *Akkermansia* sono predominanti nella superficie della mucosa.

Una volta formata, la composizione del microbiota intestinale rimane stabile per tutta la vita adulta. Sono osservabili alcune differenze tra il microbiota intestinale degli anziani e quello dei giovani adulti, principalmente per quanto riguarda la predominanza dei generi *Bacteroides* e *Clostridium* negli anziani e *Firmicutes* negli adulti.

Sono state proposte tre varianti del microbiota intestinale umano e classificate come enterotipi in base alla variazione dei livelli di uno dei tre generi: *Bacteroides* (enterotipo 1), *Prevotella* (enterotipo 2) e *Ruminococcus* (enterotipo 3). Queste tre varianti sembrano essere indipendenti dall'indice di massa corporea, dall'età, dal sesso o dalla nazionalità.

Il tratto distale dell'intestino umano è considerato un bioreattore anaerobico con attività metabolica paragonabile a quello del fegato, e per questo motivo il microbiota potrebbe essere considerato un vero e proprio organo con funzioni specifiche. Un organo che consuma, conserva e ridistribuisce energia, che va incontro a trasformazioni chimiche fisiologicamente importanti ed è in grado di mantenere e riparare se stesso attraverso l'autoreplicazione. Come tutti gli organi umani, il microbiota ha funzioni importanti sulla regolazione dei sistemi fisiologici correlati, e lo stato di salute dell'ospite è legato alla sua corretta funzionalità.

Il microbiota influenza fortemente vari processi fisiologici: percorsi endocrini e metabolici, espansione e regolazione del sistema immunitario, il cervello nelle sue funzioni cognitive, e cambiamenti epigenetici del genoma. Un microbiota "organo" ben funzionante è direttamente correlato all'equilibrio dello stesso; di conseguenza, la struttura e lo stato metabolico dei microbioti intestinali sono associati ad uno stato di salute: quando si verifica uno stato disbiotico intestinale, l'organo microbiota non funziona correttamente, e dovrebbero essere prontamente prescritte terapie appropriate per ripristinare l'eubiosi. (Gagliardi *et al.*,2018)

1.4 - Fattori influenzanti la composizione del microbiota intestinale

Come già citato, molti fattori influenzano la composizione dei microbioti intestinali. In primo luogo, il microbiota vaginale e intestinale della madre può influenzare il microbiota del feto e la composizione e lo sviluppo del bambino. Il microbiota intestinale sarà fortemente

influenzato dalla modalità di parto (vaginale o cesareo) e dall'alimentazione (latte materno o latte artificiale). Inoltre, i trattamenti terapeutici, i livelli di igiene, l'esposizione all'ambiente naturale e il background genetico di un individuo, possono anch'essi influenzare.

Nella vita adulta, diversi fattori possono ancora disturbare l'equilibrio dei microbioti intestinali: alimenti e costituenti alimentari minori (contaminanti e additivi alimentari), prebiotici, probiotici, simbiotici, antibiotici, l'assunzione di farmaci, e l'abuso di alcol. Tra i fattori non alimentari, età, sesso, stress, disturbi gastrointestinali, stile di vita ed eventi infettivi possono anch'essi giocare un ruolo importante nella composizione. (Tabella 1)

Tabella 1. Fattori influenzanti il microbiota intestinale. Tratto da Gagliardi et al., (2018)

Fattori che influenzano il microbiota intestinale
Tipo di parto
Allattamento
Stato di nutrizione
Età
Stile di vita (alimentazione, attività fisica, stress)
Farmaci

Le abitudini alimentari non equilibrate hanno un impatto negativo nella composizione microbiota e potrebbero agire come un fattore scatenante malattie con effetti sui percorsi metabolici: il rischio di malattie infiammatorie intestinali (IBD) potrebbe essere ridotto modulando la struttura della comunità dei microbioti intestinali e/o il suo metabolismo con una dieta vegetariana. Oltre all'infiammazione, la struttura del microbiota è anche associata al cancro coloretale, e questo sembra essere correlato alle diete ricche di carne rossa, promuovendo una crescita eccessiva di batteri che riducono i solfati (comuni abitanti del colon). I batteri che riducono il solfato sono in grado di produrre sostanze genotossiche come l'acido solfidrico.

Al contrario, una dieta ricca di fibre aumenta la produzione di acidi grassi a corta catena (short chain fatty acids, SCFAs), come il butirrato, che è benefico per le colonie nell'uomo ed ha proprietà antitumorali. Nel processo di metabolizzazione della fibra nel microbiota intestinale, i topi alimentati con una dieta ad alto contenuto di fibre sono protetti dall'infiammazione allergica polmonaria attraverso un meccanismo che comporta la produzione di propionato.

Studi condotti da Dermadi *et al.*, (2017) indicano che, i soggetti alimentati a base di diete occidentali, ospitano una proporzione maggiore di *Bacteroides* spp. nel loro microbiota intestinale, mentre le diete ricche di polisaccaridi vegetali sono associate a maggiori quantità di *Prevotella* spp.

L'elevato apporto dietetico di pasti a base di grassi ha un impatto sull'omeostasi degli acidi biliari e sulla tumorigenesi del colon. Il microbiota intestinale è in grado di metabolizzare questi composti e convertire gli acidi biliari primari (acido colico e acido chenodesossicolico) in acidi biliari secondari (acido desossicolico e acido litocolico) attraverso una deidrossilazione C-7. Questa trasformazione metabolica influenza la circolazione enteroepatica degli acidi biliari e l'assorbimento dei grassi a livello dell'intestino tenue. In presenza di disbiosi intestinale, questo processo è meno efficiente e il rapporto di acidi biliari secondari vs. quelli primari è significativamente ridotto, come diretta conseguenza di una significativa riduzione quantitativa, di quelle specie batteriche che sono in grado di convertire gli acidi biliari primari in secondari. Soggetti obesi con una dieta ad alto contenuto proteico e a basso contenuto di carboidrati hanno dimostrato avere una ridotta quantità di SCFAs intestinali e bifidobatteri. (Gagliardi *et al.*,2018)

Capitolo 2: La disbiosi intestinale

2.1 - Cos'è la disbiosi intestinale

Il premio Nobel Eli Metchnikoff (1845-1916) ha dichiarato che "la maggior parte delle malattie iniziano nel tratto digestivo quando i batteri "buoni" non sono più in grado di controllare i batteri "cattivi" ", chiamando questa condizione disbiosi.

La disbiosi intestinale è stata collegata a diverse patologie: malattie infiammatorie intestinali, celiachia, obesità, disturbi metabolici. La comunità scientifica ha riconosciuto l'importanza di mantenere un microbiota intestinale equilibrato per conservare un buon stato di salute. A questo scopo, si stanno studiando diverse terapie strategiche per il ripristino e/o il mantenimento dello stato eubiotico dell'ecosistema microbico intestinale. (Gagliardi *et al.*,2018).

In caso di disbiosi, i microbi potenzialmente patogeni prendono il sopravvento a spese di microbi potenzialmente benefici. Quando questo si verifica si può notare una perdita della diversità microbica complessiva, mentre parallelamente si verifica una crescita eccessiva di specie chiamate patobionti, che sono varianti genetiche del microbiota "patogeno". Anche se il 40% dei geni microbici possono essere condivisi, in metà della popolazione sono presenti variazioni sostanziali intra ed interindividuali nella composizione dei microbioti intestinali, il che complica la definizione di microbiota sano. Questo è anche il motivo per cui la disbiosi non è una singola condizione e può essere classificata in diverse forme. (Gagliardi *et al.*,2018)

Oltre a quanto scritto in tabella 2, la disbiosi intestinale può determinare: disturbo della produzione di pigmenti biliari, tendenza alla ipoglicemia, iperlipidemia, tendenza emorragica (per carenza di produzione di Vitamina K nell'intestino), dermatite (per carenza di produzione di Vitamina A). Viene a prodursi, in tal modo, un circolo vizioso nel quale i disturbi allergico-infiammatori e dismetabolici si influenzano a vicenda, favorendo fenomeni di tipo tossico.

Tabella 2. Le conseguenze della disbiosi intestinale. Tratto da: Gagliardi et al.,2018

Le conseguenze della disbiosi intestinale
Disfunzioni di fegato, vie biliari e pancreas
Diarrea e stitichezza
Acne, eczemi, malattie allergiche (asma, febbre da fieno, orticaria)
Anemia
Reumatismi
Cefalee, facile irritabilità e stanchezza eccessiva
Depressione
Ipovitaminosi
Infezioni da funghi (<i>Candida</i> in particolare)
Riduzione delle difese immunitarie e predisposizione ad infezioni ricorrenti

Nell'ambito del riequilibrio della flora intestinale, la modificazione della dieta è stata inserita al primo posto delle misure da adottare: questo è importante per sviluppare un rapporto più consapevole con il cibo; risulta ugualmente importante che le persone sviluppino un elemento di conoscenza e di coscienza nell'approccio al cibo e, quindi, che individuino la dieta più adatta a loro.

Un importante aiuto può essere anche fornito dalla idrocolonterapia o lavaggio intestinale: si tratta di un'infusione sicura e delicata di acqua a varia temperatura nel colon, è un trattamento del tutto naturale in quanto non vengono utilizzate sostanze chimiche, né farmaci. Esso è in grado di rimuovere dalle pareti del colon, in modo efficace, il materiale fecale stagnante, evitando l'accumulo di tossine nel sistema portale e linfatico. Così facendo, è

anche favorita la rimozione di muco, gas, parassiti e detriti cellulari, facilitando l'azione peristaltica e migliorando la funzione di assorbimento. Questa procedura naturale di depurazione elimina in modo efficace i sintomi connessi direttamente ed indirettamente con le disfunzioni dell'intestino crasso. (Gagliardi *et al.*,2018)

2.2 – Le forme di disbiosi intestinale

Esistono diversi tipi di disbiosi:

- La disbiosi da carenza è una condizione caratterizzata da una riduzione complessiva delle specie batteriche benefiche (come i lattobacilli e/o i bifidobatteri), che può verificarsi come conseguenza di diete non salutari o terapie antibiotiche, e può essere associata ad intolleranze alimentari conseguenti ad una carenza di enzimi digestivi (intolleranza al latte o alla carne);
- La disbiosi putrefattiva, è caratterizzata da un aumento dei batteri putrefattivi (principalmente Batteroidi), e generalmente deriva da una dieta ricca di grassi e carne e povera di fibre, la cui metabolizzazione può portare a prodotti come ammoniacca, ammine e fenoli. Questi potrebbero essere la causa di sintomi che non si limitano al tratto gastrointestinale, ma che possono interessare anche tutto il corpo. La disbiosi è caratterizzata da proliferazione batterica nell'intestino tenue dovuta alla ridotta produzione di acido gastrico con un eccesso di attività fermentativa batterica. Questi soggetti sono spesso affetti da intolleranza al glutine o carboidrati, e il loro stato di salute peggiora a seguito del consumo di carboidrati;
- La disbiosi fermentativa colpisce spesso i pazienti affetti da sindrome dell'intestino irritabile (IBS), pazienti che ricevono trattamenti antibiotici, e quelli che riducono il consumo di carboidrati: diete a base di oligosaccaridi a bassa fermentazione, disaccaridi, monosaccaridi e polioli detti FODMAPs (Fermentable Oligo-, Di- and Mono-saccharides And Polyols);
- La disbiosi della suscettibilità è associata ad una perdita di tolleranza del microbiota intestinale in cui le cause genetiche (che portano ad un'anormale immunizzazione delle risposte verso i componenti del microbiota intestinale) giocano un ruolo importante e sono legate a IBD (malattia infiammatoria idiopatica intestinale) e altre malattie simili. Le alterazioni dell'ecosistema intestinale sono caratterizzate da, una ridotta quantità di

batteri probiotici, un aumento di batteri potenzialmente patogeni (patobionti), alterata motilità dell'intestino e infiammazione intestinale;

- La disbiosi fungina, è caratterizzata dalla crescita eccessiva di *Candida* o di altre specie fungine nell'intestino, ed è promossa da una dieta ricca di zuccheri e povera di fibre. (Gagliardi *et al.*,2018)

Bisognerebbe prendere in considerazione il concetto di microbi benefici e nocivi, poiché non è possibile generalizzare sulle specie benefiche o nocive in quanto alcune specie potrebbero essere benefiche o nocive per una persona, ma non per le altre. Bisognerebbe sempre tenere in considerazione anche il contesto e l'habitat, perché i microbi potrebbero avere comportamenti diversi in contesti diversi. Il nostro "organo microbiota", la sua composizione e funzione sono influenzate dal genotipo dell'ospite, dall'ambiente, dalla dieta, dalle forti influenze dello sviluppo e del funzionamento del tratto intestinale, così come degli organi distanti, compreso il fegato, pancreas e cervello. Tenendo conto che ci sono limitazioni nella modifica a lungo termine del microbiota intestinale, l'evidenza scientifica indica chiaramente che, quando lo squilibrio del microbiota intestinale si verifica, l'eubiosi, una relazione mutualistica tra i membri dei microbioti, i prodotti metabolici e il sistema immunitario dell'ospite, dovrebbe essere prontamente ripristinata non solo per ridurre/eliminare i sintomi locali, ma anche per garantire uno stato di salute generale. (Gagliardi *et al.*,2018)

Capitolo 3: Probiotici, prebiotici e simbiotici in caso di disbiosi intestinale

3.1 - Ribilanciare l'ecosistema intestinale

Le terapie attualmente più conosciute e più adottate per ribilanciare l'ecosistema intestinale includono:

- Modifica della dieta, dando la preferenza a cibi freschi ed eliminando zucchero, farine raffinate e carni suine;
- Normalizzazione del terreno intestinale;
- Ricolonizzazione del tratto intestinale mediante fermenti lattici in grado di ripristinare una normale eubiosi, con l'ausilio di probiotici (es.: Lactobacilli, Bifidobatteri, Euterococchi, Streptococchi) e prebiotici (sostanze componenti di alimenti, non digeribili nel tratto intestinale superiore, in grado di stimolare i ceppi benefici già presenti, es: Oligofruttosidi derivati dell'Inulina, Lattulosio e Lattitolo);
- Somministrazione di combinazioni di probiotici e prebiotici, detti simbiotici.
- Terapia epatoprotettiva, in modo da sostenere la funzione del principale organo del metabolismo.

Sono stati proposti approcci terapeutici più recenti, tra cui la fagoterapia, il trapianto di feci, il BCT (Bacterial Consortia Transplantation), e un approccio ancora poco efficace basato su batteri predatori. Tutte queste strategie condividono lo stesso obiettivo di sostituire i microbi nocivi con altri più favorevoli per ripristinare l'eubiosi. (Gagliardi *et al.*, 2018)

3.2 – I probiotici

L'Associazione Scientifica Internazionale per i Probiotici e i Prebiotici ha ridefinito i probiotici come "microrganismi vivi che, se somministrati in quantità adeguate, conferiscono un beneficio all'ospite" dato che esercitano una vasta gamma di effetti. I probiotici possono essere usati sia per prevenire l'insorgenza di disbiosi, quando il paziente è esposto a condizioni predisponenti come terapie antibiotiche prolungate, intenso stress fisico o mentale, malattie croniche debilitanti, ecc.; o per riequilibrare una condizione di disbiosi in corso. I ceppi probiotici dovrebbero: appartenere a specie che formano componenti normali del nostro microbiota intestinale, appartenere al gruppo di microrganismi designati GRAS (Generally

Recognized as Safe), anche per i pazienti immunocompromessi; dimostrare di rimanere attivi e vitali (per un periodo di tempo ragionevole) nell'ambiente intestinale, resistere se esposti all'ambiente gastrico e biliare ed essere di origine umana. I ceppi indigeni umani possiedono certamente una capacità di adattamento caratteristica, che consente loro una colonizzazione stabile ed effetti benefici più efficaci e duraturi.

Gli effetti benefici dei ceppi probiotici possono essere classificati come immunologici e non immunologici: i benefici immunologici includono l'attivazione di macrofagi locali, un aumento della produzione di immunoglobulina, la modulazione dei profili delle citochine e l'induzione di ipo-risposta ad antigeni alimentari. I benefici non immunologici invece includono il processo di digestione, la concorrenza con potenziali patogeni per i nutrienti e i siti di adesione intestinale, alterazioni del pH e produzione di batteriocine. (Gagliardi *et al.*,2018)

I probiotici attualmente utilizzati includono:

- I lattobacilli, visibili in figura 1, sono noti per essere modulatori di infiammazione intestinale e di risposte immunitarie. La loro somministrazione è raccomandata nelle malattie gastroenteriche caratterizzate da alti livelli di infiammazione, nella prevenzione della diarrea, nel trattamento delle infezioni causate da agenti patogeni enterici e in pazienti pediatrici per prevenire/trattare le coliche infantili. Diversi studi indicano che il rapporto *Lactobacillus*/ospite umano dovrebbe essere riconsiderato: in particolare, solo una minoranza della specie di *Lactobacillus* conosciuti si è scoperto essere residente nel tratto intestinale umano, e la maggior parte sono membri alloctoni derivati da alimenti fermentati.

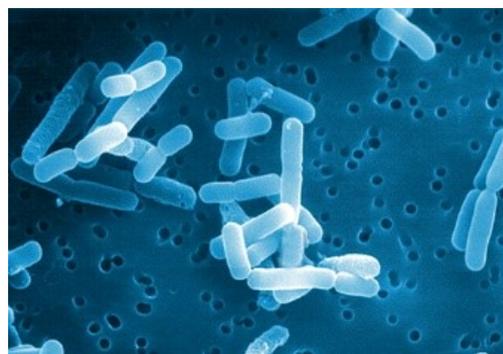


Figura 1. Lattobacilli al microscopio. Tratto da microbiologiaitalia.it

I lattobacilli sono in grado di contrastare la crescita della flora batterica negativa: *E.coli*, se assunto con *Lactobacillus*, non aderisce all'intestino. Liberano molecole

adibite all'inibizione che agiscono come la gentamicina. L'azione si esplica anche sull'internalizzazione del batterio invasivo: quando i lattobacilli producono battericidi fanno cambiare forma al batterio. I probiotici producono sostanze definite antibiotici peptidici come la lantionina che distrugge molti gram negativi ed è prodotta dai gram positivi o dai lattobacilli. Sono in grado di attraversare la parete del batterio bersaglio, arrivare alla membrana interna e formare dei pori su essa oppure aprire dei canali ionici e quindi creare lisi batterica. (Gagliardi *et al.*,2018)

- I bifidobatteri rappresentano l'8-10% del microbiota intestinale e sono in grado di produrre vitamine, enzimi, acidi acetico e lattico; inoltre abbassano il pH del colon, inibiscono gli agenti patogeni e hanno proprietà di attivazione del sistema immunitario. La somministrazione orale di *Bifidobacterium bifidum* G9-1 sembra sopprimere la produzione di specifiche immunoglobuline E per promuovere la risposta di IgA, che sono utile nel trattamento profilattico in risposte IgE allergiche. Sono predominanti nel microbiota dei neonati allattati al seno, e la loro presenza è correlata ad un buon stato di salute. Al contrario, il microbiota intestinale di neonati alimentati in modo misto (con cibi solidi o semisolidi) o tramite formule, è caratterizzato da una ridotta presenza di bifidobatteri e da un aumento delle specie di Batteroidi ed *Escherichia coli*. Tali differenze sono correlate con un aumento dell'incidenza di dolori colici e altri disturbi di origine intestinale. (Gagliardi *et al.*,2018)
- *Bacillus subtilis*, gram positivo sporigeno, è in grado di secernere molti enzimi extracellulari (α-amilasi, arabinasi, cellulasi β-glucanasi e DNasi), ed è una delle più efficaci terapie antidiarroiche. Produce vitamine del gruppo B e bacitracina ed è resistente agli antibiotici, inoltre è in grado di proteggere il microbiota durante un trattamento antibatterico che potrebbe quindi alterarne lo stato. Sebbene non sia di origine umana, ma lo si può trovare nei terreni e nei vegetali, può servire ugualmente come probiotico. È importante ricordare che viene inibito dai lattobacilli, quindi non vanno assunti contemporaneamente. (Gagliardi *et al.*,2018)
- *Escherichia coli* ceppo Nissle 1917 aumenta l'omeostasi intestinale e migliora la barriera intestinale, riducendo l'epitelio intestinale dall'invasione di cellule da parte di diversi agenti patogeni. (Gagliardi *et al.*,2018)

- *Lactococcus lactis* è altamente resistente all'acido gastrico artificiale e ai succhi biliari. È una specie indigena che produce batteriocine (attive su diversi agenti patogeni) e acido lattico. Collabora anche con l'idrolisi delle proteine del latte, facilitando così la digestione dello stesso.
- *Streptococcus thermophilus* ha proprietà antinfiammatorie e aiuta a combattere i batteri potenzialmente patogeni.
- *Saccharomyces cerevisiae*, più comunemente conosciuto come lievito di birra, può essere usato come probiotico perché può attecchire all'intestino se preso in concentrazioni pari a 300-500 mg per due volte al giorno. Apporta anche vitamine del gruppo B. Alcuni studi affermano che può essere poco adatto a pazienti con malattie immunodepressive e può dare gonfiore addominale. (Gagliardi *et al.*,2018)
- *Saccharomyces boulardii* è un lievito probiotico resistente all'acidità gastrica, alla proteolisi e naturalmente agli antibiotici. Anche se la somministrazione orale non è in grado di colonizzare stabilmente l'intestino, perché viene eliminato in pochi giorni, è comunque in grado di raggiungere e mantenere alte concentrazioni in breve tempo. Queste caratteristiche lo rendono adatto all'uso durante i trattamenti antibiotici. (Gagliardi *et al.*,2018) I dati disponibili indicano che promuove l'eubiosi facilitando la produzione di acido lattico e di vitamine del gruppo B e prevenendone la proliferazione da parte di lieviti nocivi. Uno studio ha dimostrato che la somministrazione di *Saccharomyces boulardii* per quattro settimane porta ad una significativa riduzione del numero giornaliero di evacuazioni e diarrea in pazienti con IBS. (Choi *et al.*, 2011)

Infine, ceppi di batteri appartenenti alla famiglia *Streptococcaceae*, in particolare i due generi *Streptococcus* e *Lactococcus*, nonché il ceppo *Enterococcus faecium* (ex *Streptococcus*, ora separato dal genere *Enterococcus*), sono stati utilizzati anche come probiotici in alimenti e mangimi. Sono stati valutati disturbi gastrointestinali trattati con probiotici *Enterococcus spp.* in diversi ospiti (topi, suinetti e umani).

È stato dimostrato che *Enterococcus faecium* influenza la struttura dei microbioti intestinali, regola la funzione immunitaria, mostra effetti inibitori contro gli agenti patogeni enterici, ed è produttore di acido lattico e butirrico. *E.faecium* non è generalmente considerato sicuro (GRAS), e il suo uso come probiotico è ancora messo in discussione. Diversi ceppi dei generi

Enterococcus sono associati a malattie infettive e potrebbero rappresentare un rischio per la resistenza antimicrobica. Pertanto, devono essere effettuati ulteriori valutazioni dei benefici e dei rischi di *E. faecium* usato come probiotico. (Gagliardi *et al.*,2018)

Negli ultimi anni, grazie alla loro sicurezza ed efficacia, i probiotici sono stati inclusi non solo nei prodotti lattiero-caseari, ma anche in alimenti non caseari come succhi di frutta e cereali. Diversi studi recenti si sono concentrati sull'utilizzo di probiotici per prevenire la diarrea associata agli antibiotici, per limitare l'uso di antibiotici e di conseguenza ridurre la diffusione dell'antibiotico-resistenza. I messaggi chiave di questi studi sono: una conferma che la somministrazione di probiotici aiuti a minimizzare la prevalenza e la gravità delle malattie infettive (come conseguenza dell'attuazione di risposte immunitarie antimicrobiche e della salute generale dell'individuo); la loro specifica capacità di riequilibrare il microbiota intestinale ne consente l'uso come unico trattamento in molti casi di disturbi intestinali, riducendo così significativamente la prescrizione di antibiotici; anche quando gli antibiotici sono necessari, la co-somministrazione di probiotici riduce la durata del trattamento; la prescrizione ridotta di antibiotici è certamente potenzialmente associata ad una ridotta diffusione della resistenza agli antibiotici, anche se non è facile da dimostrare. Tuttavia, i probiotici in uso mostrano dei limiti, indicando la necessità di migliorare la selezione e la formulazione di ceppi batterici. (Gagliardi *et al.*,2018)

Sono stati ottenuti risultati promettenti nella prevenzione e nel trattamento di malattie metaboliche o infiammatorie in studi preclinici condotti su ceppi batterici diversi dai classici ceppi di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. La prossima generazione di probiotici comprende *Akkermansia muciniphila*, membri dei gruppi di *Clostridium* IV, XIVa e XVIII, e *F. prausnitzii*. I probiotici di nuova generazione devono includere ceppi appartenenti ai principali gruppi di microbioti intestinali, e dovrebbero essere sicuri e possedere potenziali effetti benefici.

Akkermansia muciniphila è un anaerobio del phylum *Verrucomicrobia*. Diminuisce in modo significativo nelle persone obese, nei soggetti con disturbi del metabolismo dei grassi, nei soggetti diabetici e nei soggetti con altri disturbi metabolici. Alcuni studi evidenziano una diminuzione di *A. muciniphila* in casi di dieta ad alto contenuto di grassi in relazione a fattori metabolici e di struttura del microbiota intestinale nel tempo. È stato trovato che *A. muciniphila* ha la capacità di invertire le lesioni aterosclerotiche, migliorare il ripristino della barriera intestinale, e ridurre l'infiammazione metabolica indotta dall'endotossinemia.

Gli studi si sono recentemente concentrati sull'ingegneria dei batteri probiotici per creare probiotici di nuova generazione. Questi batteri ricombinanti sono progettati per svolgere funzioni specifiche nel tratto gastrointestinale: secernere molecole terapeutiche (per lo più peptidi e piccole proteine) e rilevare segnali specifici (comprese piccole molecole derivate da altri batteri, alimenti, o tessuti cancerogeni o infiammati). Dovrebbero essere compiuti maggiori sforzi per spiegare il meccanismo alla base degli effetti benefici dei batteri probiotici che sono stati rivelati durante i vari studi clinici. Ciò fornirebbe una base più forte per l'utilizzo di questi in diversi campi applicativi e potrebbe anche migliorare i risultati clinici consentendo un'applicazione più razionale di batteri dotati di specifiche attività legate alle esigenze cliniche. Inoltre, poiché la cooperazione dei microbiomi sembra essere una caratteristica essenziale del microbiota intestinale in salute e malato, gli studi dovrebbero sviluppare terapie basate su multi-probiotici che siano in grado di influenzare questa rete di organismi cooperanti e che possano garantire un effetto di riequilibrio più forte e duraturo. Gli studi condotti con approcci omici dovrebbero essere in grado di dimostrare un consorzio batterico sottorete che lavora insieme, ma in modi diversi, per influenzare importanti processi fisiologici umani.

O'Toole & Flemer (2017) hanno sviluppato un consorzio batterico artificiale che imita la struttura del microbiota intestinale sano. Partendo da campioni fecali di donatori sani, e sulla base della letteratura esistente, 100 diversi ceppi commensali sono stati selezionati con una gamma di valori di abbondanza nel microbiota. Questa associazione bio-terapeutica viva di microrganismi è stata utilizzata con successo per la modulazione del microbiota intestinale degli anziani. Una combinazione di 17 ceppi di *Clostridium* di origine umana ha dimostrato di ridurre la gravità della colite allergica indotta nei roditori; questi effetti sono stati mediati dall'attivazione delle cellule di Treg; tuttavia, l'identità dei prodotti batterici implicati in questa attivazione non è ancora chiaro. (Gagliardi *et al.*, 2018)

Ecologic®Tolerance/Syngut™ è una miscela contenente quattro ceppi probiotici (*Bifidobacterium lactis* W51, *L. acidophilus* W22, *L. plantarum* W21 e *Lactococcus lactis* W19). Questo consorzio sembra rafforzare la funzione di barriera intestinale, mostra un impatto benefico sullo stress post-immunologico provocato, e un'inibizione e stimolazione dei livelli di Th2 e IL-10, rispettivamente, offrendo quindi effetti utili nei pazienti affetti da intolleranza alimentare. I probiotici multi-specie, inoltre, hanno alleviato i sintomi della IBS (sindrome

dell'intestino irritabile) e hanno modulato la composizione dei microbioti. La dose necessaria per garantire l'efficacia clinica dei probiotici è variabile: in generale, i prodotti contenenti probiotici devono avere un numero minimo di cellule vitali tra 10^6 e 10^8 unità formanti colonie per grammo (CFU/g) del prodotto finale o 10^8 - 10^{10} CFU/giorno (considerando 100 g o 100 mL di cibo ingerito). (Gagliardi *et al.*, 2018)

Anche se l'uso prolungato di probiotici, così come i dati degli studi in vitro e in vivo, corroborano il concetto che i probiotici siano sicuri, alcuni rapporti di casi segnalano l'evidenza di alcuni rischi, tra cui le infezioni sistemiche, alterazione delle vie metaboliche, stimolazione immunitaria intensificata, trasferimento di geni e disturbi gastrointestinali. Sono necessari ulteriori studi per definire con precisione l'occorrenza e la gravità degli eventi sfavorevoli legati ai probiotici

3.2.1 - Probiotici rivestiti con biofilm

La somministrazione di probiotici può modulare la composizione del microbiota intestinale e prevenire/trattare numerosi disturbi gastroenterici. Tuttavia, diversi fattori, incluso l'ambiente gastrointestinale, possono impedire ai ceppi batterici di colonizzare l'intestino.

Di recente un gruppo di ricercatori ha sviluppato un approccio basato sull'utilizzo di biofilm per aumentare la capacità del microbiota intestinale di sopravvivere e proliferare nel tratto gastrointestinale. I risultati suggeriscono che i batteri (biomasse fecali o probiotici) rivestiti con biofilm potrebbero essere utilizzati per una vasta gamma di applicazioni biomediche. Le caratteristiche dei biofilm possono generare un effetto benefico a lungo termine per il trattamento delle infezioni del tratto gastrointestinale. (Wang *et al.*, 2020)

Per sopravvivere in ambienti sfavorevoli, i batteri producono naturalmente biofilm, che aiuta le colonie batteriche ad aderire alle mucose e a contrastare gli effetti dei trattamenti antibiotici e dell'azione del sistema immunitario dell'ospite.

Bu *et al.*, (2020) della Shanghai Jiao Tong University, in Cina, ha ipotizzato che i batteri intestinali rivestiti da un biofilm possano acquisire maggiore resistenza e aderenza al tratto gastrointestinale. Per testare le proprietà dei batteri rivestiti con biofilm, i ricercatori hanno utilizzato *Bacillus subtilis*, che collabora con altri microrganismi "buoni" per sostenere i processi digestivi e promuovere la salute del sistema immunitario e dell'apparato digerente. Per valutare il livello di resistenza di *Bacillus subtilis* rivestito da un biofilm nello stomaco,

quindi a bassi valori di pH, i ricercatori hanno testato i batteri assieme ad un fluido di composizione simile a quella dei succhi gastrici. Dopo quattro ore, i ricercatori hanno osservato che il biofilm ha protetto i microbi dall'ambiente acido e ha contribuito a mantenere il tasso di sopravvivenza di *Bacillus subtilis* a un livello di quasi il 30% dopo quattro ore di esposizione agli acidi biliari. In seguito, i ricercatori hanno valutato se il biofilm, nei topi, è in grado di migliorare l'adesione all'intestino. Rispetto ai batteri non ricoperti (o ricoperti solo parzialmente) da biofilm, i batteri che ne sono interamente rivestiti hanno mostrato un'adesione all'intestino crasso, e al cieco, maggiore rispettivamente di 69 e 191 volte. Inoltre, hanno rilevato maggiori livelli di batteri rivestiti con biofilm nell'intestino per 120 ore. I biofilm batterici hanno anche mostrato una maggiore resistenza e una migliore adesione all'intestino dei suini, che rappresentano un modello efficace per lo studio di questi fenomeni. Inoltre, i microbi hanno contribuito a eliminare le infezioni da *Staphylococcus aureus* dall'intestino dei topi. I risultati suggeriscono che i batteri rivestiti da biofilm potrebbero aiutare a trattare una grande varietà di disturbi. Grazie alla loro capacità di sopravvivere e proliferare in un ambiente "ostile", l'assunzione di probiotici rivestiti con biofilm potrebbe essere utile per il trattamento di alcune malattie, come le infezioni delle vie respiratorie e dell'apparato riproduttivo. (Wang *et al.*, 2020)

3.3 – I prebiotici e le formulazioni simbiotiche

Il concetto alla base dell'uso dei prebiotici è stato introdotto per la prima volta nel 1995. Secondo le Linee Guida Globali dell'Organizzazione Mondiale di Gastroenterologia, i prebiotici sono sostanze non digeribili dei cibi assunte dall'ospite umano che, in quantità adeguate, producono effetti fisiologici benefici sull'ospite stimolando, in modo selettivo, la crescita e l'attività metabolica di un numero limitato di batteri indigeni benefici (bifidobatteri e batteri acidi lattici). Sono considerati un carburante specifico che i batteri probiotici indigeni possono utilizzare per crescere quindi sono il cibo per il miglioramento stesso e per questo bisognerebbe somministrarli assieme. I prebiotici sono principalmente componenti dietetici degli alimenti (per lo più polisaccaridi non amilacei e oligosaccaridi) utilizzati come ingredienti di arricchimento. I prebiotici più comunemente conosciuti e caratterizzanti includono integrazione di fruttoligosaccaridi (FOS), galattoligosaccaridi, inulina (anche in grado di aumentare l'assorbimento del calcio), lattulosio (un disaccaride sintetico utilizzato come farmaco per il trattamento della stitichezza e dell'encefalopatia epatica), e oligosaccaridi del

latte materno. L'inulina fa aumentare i livelli dei bifidobatteri e fa ridurre i *Bacteroides* e i *Clostridium*, quindi serve come cibo. Inoltre, in un modello di colite sperimentale si è visto che somministrando inulina si hanno meno lesioni all'intestino. (Gagliardi *et al.*,2018)

Come detto in precedenza, queste sostanze sono spesso incluse nelle formulazioni simbiotiche, contenenti batteri probiotici, per promuovere la loro rapida crescita nell'ambiente intestinale. Una formulazione simbiotica deriva dall'unione di un prebiotico con un probiotico e servono a migliorare la colonizzazione del tratto digerente e a stimolare i bifidobatteri locali; sono dette anche "alimenti funzionali". Alcune industrie hanno ideato delle compresse con rivestimento di inulina al cui interno si ritrovano i batteri; queste risultano utili in quanto proteggono i batteri fino al loro arrivo nell'intestino. (Gagliardi *et al.*,2018)

I FOS (fruttooligosaccaridi) sono in grado di attraversare il lume intestinale, non digeriti e non assorbiti, per raggiungere il colon ascendente non modificati, dove saranno poi metabolizzati selettivamente dalla componente probiotica residente nel microbiota. La loro digestione provoca una significativa diminuzione del pH, creando un habitat sfavorevole per la crescita dei batteri putrefattivi (clostridi). I consumatori non hanno sufficienti conoscenze tecniche per scegliere il corretto FOS senza la supervisione medica. (Gagliardi *et al.*,2018)

I costituenti batterici strutturali possono essere candidati promettenti come induttori di effetti benefici nell'uomo. Questi sono promettenti anche perché possono essere parte di trattamenti che comprendono cellule batteriche non vitali. Poiché la struttura e la composizione dei microbioti è paragonabile a un'impronta digitale e ci sono diversi livelli e tipi di disbiosi, l'uso corretto di probiotici/prebiotici/simbiotici dovrebbe considerare la conoscenza preventiva del tipo di disbiosi per procedere con un trattamento mirato per il tipo di paziente. (Gagliardi *et al.*,2018)

L'effetto positivo del trattamento probiotico, prebiotico o simbiotico potrebbe dipendere dalla patologia dell'individuo. I risultati degli studi finora condotti su pro/prebiotici sono molto variabili e riflettono la diversità dei ceppi probiotici testati, così come la diversità delle popolazioni esaminate. I prebiotici sembrano essere opzioni terapeutiche promettenti per le malattie gastrointestinali; tuttavia, sono necessari ulteriori studi con popolazioni di studio più ampie per stabilire la loro efficacia, le modalità e la durata del trattamento. Studi su larga scala, in particolare studi ben progettati di tipo randomizzato-controllato, sono essenziali per dimostrare la sicurezza e l'efficacia di questi integratori. Inoltre, sono stati effettuati pochi

studi su disturbi gastrointestinali in seguito a trattamento con probiotici, prebiotici e simbiotici, come l'alta pressione osmotica, la flatulenza e il gonfiore. (Gagliardi *et al.*,2018)

Capitolo 4: Dieta come modulatore del microbiota intestinale

4.1 - Approccio dietetico per modulare il microbiota intestinale

Sin dai tempi antichi, la storia della medicina ha sottolineato l'importanza dell'alimentazione: dagli antichi maestri cinesi sino a Galeno, Paracelso, Hahnemann, tutti esortano alla "Dieta" intesa nel suo vero e profondo significato: DIAITA = igiene di vita (dal greco antico). L'indicazione di un *modus vivendi* più salutare, era sempre basata sulla scelta di un *modus alimentare* rispettoso dell'integrità olistica dell'uomo. È quindi fondamentale rivalutare il ruolo terapeutico dell'alimentazione come apportatrice di sostanze energetiche e nutritive e, soprattutto, come fattore di correzione e riequilibrio del terreno biologico: il cibo diviene, pertanto, "farmaco" insostituibile.

Inoltre, nell'ambito della medicina "non convenzionale" (definita anche integrativa, complementare, olistica) si dispone di buone strategie terapeutiche per contrastare il fenomeno della disbiosi intestinale. Si potranno poi affiancare alla dieta, ulteriori approcci, sia di tipo farmacologico che di tipo igienico comportamentale, l'assunzione di antiossidanti naturali di comprovata qualità, che intervengono direttamente sull'abbattimento dello stress ossidativo e di enzimi digestivi. (Iebba *et al.*, 2016)

4.2 – Dieta mediterranea ed atlantica

L'INRAN- Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione, è un ente pubblico di ricerca a vocazione esclusiva su alimenti e nutrizione. L'Istituto coniuga l'attività di ricerca nel campo degli alimenti e della nutrizione con l'attività di informazione ed educazione del consumatore.

La dieta mediterranea e quella atlantica, che vanno distinte da quella occidentale, sono entrambe considerate adeguate per preservare un buono stato di salute. Come da figura 2, la dieta mediterranea è un insieme di comportamenti alimentari abituali seguiti dalle persone nei paesi contigui al mar Mediterraneo. Osservando questa dieta, è stata fornita una protezione significativa dalle malattie degenerative croniche; mentre la dieta atlantica è stata associata alla salute metabolica e alla minore mortalità per malattie coronariche e alcuni tipi di cancro.

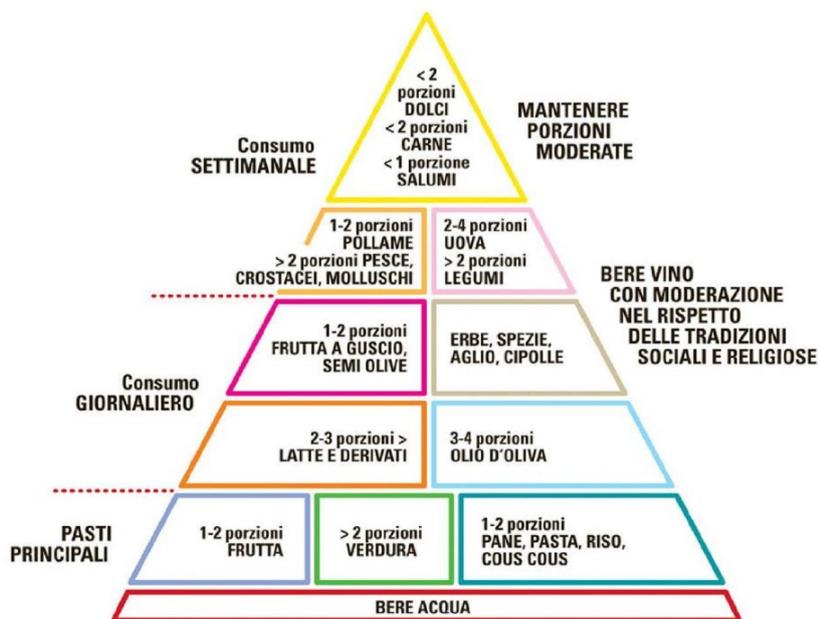


Figura 2. Piramide alimentare di INRAN: introduce i principi della dieta mediterranea e gli inviti ad uno stile di vita migliore. Tratto da: <https://gentechecoopera.cfltreviglio.it/la-nuova-piramide-della-dieta-mediterranea/>

La dieta Atlantica è il risultato di una combinazione tra la qualità e la diversità dei prodotti delle terre della Galizia (Spagna) e dei loro mari e una semplice e sana elaborazione dei cibi. L'alimentazione di questa dieta è caratterizzata da un'abbondanza di alimenti stagionali a base di piante (frutta, verdura, patate, pane e cereali, frutta secca, castagne, miele e legumi), un elevato consumo di pesce e crostacei, latte moderato, carne di vitello nutrita esclusivamente con latte materno e pascoli, olio d'oliva, uso di salse a basso valore energetico e grassi di alta qualità e dolci fatti in casa composti principalmente da farina, uova e noci. (Leis Trabazo *et al.*, 2019). I componenti principali nella dieta atlantica sono le vitamine del gruppo B, gli acidi grassi omega 3 e lo iodio, che possono portare benefici per la salute dei consumatori dell'area atlantica. Questi componenti hanno un immediato impatto sulla composizione dei microbioti: si noteranno aumenti o diminuzioni di specie batteriche, nonché una significativa modificazione dei metaboliti rilasciati nell'ambiente (e in parte assorbiti dall'ospite). I carboidrati non digeribili sono fermentati dal microbiota saccarolitico intestinale, producendo così SCFAs. I tipi e la quantità di carboidrati che consumiamo quantitativamente influenzano la singola specie batterica. Per aumentare la fermentazione batterica e la produzione di SCFAs, la regolazione della dieta è molto interessante ed è una strategia terapeutica sicura. Inoltre, quando si adotta un approccio dietetico, il contributo dei micronutrienti dovrebbe essere considerato un importante fattore che influenza la composizione dei microbioti intestinali; infatti una loro carenza (zinco, vitamine D e A, folato),

nella prima infanzia, può influenzare la maturazione del microbiota intestinale e la sua interazione con l'ospite, con effetti nell'adolescenza e nella vita adulta. (Gagliardi *et al.*,2018)

Al contrario, la dieta occidentale è fortemente associata all'obesità e alle malattie metaboliche correlate in quanto si basa su un elevato consumo di grassi saturi e zuccheri raffinati e un consumo molto ridotto di fibre. Si sostiene che questa dieta promuova l'infiammazione che deriva da cambiamenti sia strutturali che comportamentali nel microbioma intestinale residente. L'ambiente creato nell'intestino dagli alimenti ultra-processati, i quali sono tratto distintivo della dieta occidentale, è un terreno selettivo unico per i microbi che possono promuovere diverse forme di malattie infiammatorie.

Riconoscere l'importanza del microbiota nello sviluppo delle malattie legate alla dieta ha implicazioni per la ricerca futura, per la consulenza dietetica pubblica e per le pratiche di produzione alimentare. La ricerca suggerisce che gli alimenti integrali sono un denominatore comune delle diete associate a un basso livello di malattie legate alla dieta. Pertanto, studiando l'ultra-processazione degli alimenti, si possono elaborare linee guida dietetiche più utili. Le innovazioni nella produzione di alimenti dovrebbero essere focalizzate sul permettere la salute nell'organismo dell'uomo e del microbo in modo da garantire una più forte regolamentazione dei componenti potenzialmente pericolosi dei prodotti alimentari. (Zinöcker- Lindseth, 2018)

Sono necessari ulteriori informazioni sulla sintesi dei micronutrienti intestinali e sul loro impatto sulla composizione dei microbioti per migliorare l'attuale comprensione del loro ruolo. Studi che indagano sull'impatto del microbiota nell'obesità e in altre patologie dovrebbero tenere in considerazione l'impatto dei deficit di micronutrienti. Uno studio che utilizzava i polli come modello animale ha dimostrato che la carenza di zinco provoca cambiamenti nella composizione dell'ecosistema microbico e nei profili metabolici con una diminuzione degli SCFAs. I processi epigenetici influenzano le comunicazioni microbiota/ospite: il folato è un donatore essenziale del gruppo metilico nelle reazioni di metilazione associate ai cambiamenti epigenetici. (Gagliardi *et al.*,2018)

Un approccio basato sulla dieta, per modulare il microbiota, dovrebbe considerare l'effetto delle diete a lungo termine. Studi recenti hanno evidenziato importanti differenze nella capacità di modulare la composizione dei microbioti nelle diete a lungo e breve termine: in quelle a breve termine, i cambiamenti sono rapidi e significativi, ma l'entità dei

cambiamenti è modesta e insufficiente per trasferire gli individui da un enterotipo ad un altro; al contrario, le diete a lungo termine sono adeguate per riposizionare gli enterotipi: se si dimostrasse che un enterotipo è causalmente collegato a una malattia, gli interventi dietetici a lungo termine, potrebbero rappresentare una buona strategia per aiutare. Tra gli interventi dietetici, un regime alimentare a basso contenuto di oligosaccaridi fermentabili, disaccaridi, monosaccaridi e polioli (FODMAPs) ha dimostrato di ridurre i sintomi gastrointestinali nei pazienti con IBS in meno di 48 ore. (Gagliardi *et al.*,2018)

Nei pazienti affetti da IBS che hanno seguito una dieta a basso contenuto di FODMAPs, la fermentazione dei carboidrati è ridotta, e si osserva una diminuzione dell'osmolarità e della generazione di gas (ad es. idrogeno). Di conseguenza, i sintomi tipici della IBS di gas e gonfiore sono ridotti/eliminati. Si deve tenere presente che i FODMAPs, in particolare gli oligosaccaridi, svolgono un ruolo importante nello stimolare la crescita dei batteri benefici quindi l'assunzione a lungo termine di una dieta a basso contenuto di FODMAPs potrebbe avere effetti imprevedibili sulla composizione del microbiota intestinale. La dieta è un fattore facilmente modificabile e di conseguenza è un approccio terapeutico molto interessante per modulare il microbiota intestinale. Attualmente vengono proposti diversi alimenti funzionali, ma una dieta adatta a tutti i soggetti è impossibile; sono invece necessari alimenti funzionali personalizzati. Tecnologie di profilazione metabolica forniscono un valido supporto per il miglioramento degli alimenti funzionali. L'esistenza di un'elevata variabilità inter-individuale indica che un approccio più personalizzato, accompagnato da alimenti funzionali personalizzati, è la via da seguire. (Gagliardi *et al.*,2018)

Sono stati descritti interventi dietetici randomizzati e clinicamente controllati per modellare il microbiota intestinale degli esseri umani: i risultati indicano che gli alimenti a basso contenuto energetico, ricchi di fibre e verdure garantiscono cambiamenti microbici nell'intestino e presentano vantaggi per la salute. Trattamenti dietetici specifici, da soli o in aggiunta a combinazioni di specie probiotiche, potrebbe rappresentare un potenziale interessante strumento per migliorare la salute pubblica. Inoltre, andrebbero considerati i soggetti che non rispondono ai trattamenti dietetici: questo potrebbe dipendere da diversi fattori, come l'età del soggetto e la composizione del microbiota prima del trattamento dietetico. Inoltre, alcuni gruppi batterici persistono inalterati dalla modificazione alimentare, probabilmente perché sono in grado di consumare una vasta gamma di risorse alimentari e

sono in grado di adattare/cambiare il loro metabolismo in funzione del cambiamento ambientale/nutrizionale. Infine, in un approccio dietetico per ricostruire il microbiota intestinale, dobbiamo avere una conoscenza preliminare del tipo di disbiosi per stabilire trattamenti personalizzati e mirati. (Gagliardi *et al.*,2018)

Capitolo 5: Piante medicinali utili nel trattamento della disbiosi intestinale

5.1 - Piante medicinali tradizionalmente utilizzate nell'Unione Europea per i disturbi gastrointestinali.

Le piante medicinali sono state un'importante opzione terapeutica per il trattamento dei disturbi gastrointestinali fin dai tempi antichi. Il loro principale campo di applicazione sono i disturbi gastrointestinali cronici e funzionali, come la dispepsia funzionale e la sindrome dell'intestino irritabile (IBS). Inoltre, le droghe vegetali possono essere utilizzate per il trattamento, come supporto, delle ulcere gastriche o duodenali e delle malattie infiammatorie intestinali, e per l'attenuazione della stitichezza o della diarrea. Gli effetti tipici delle piante medicinali sono la stimolazione della secrezione gastrica dovuta ai costituenti amari, effetti spasmolitici e carminativi dovuti al contenuto di oli essenziali, effetti spasmolitici dovuti agli alcaloidi, effetti lenitivi sulla mucosa gastrointestinale, effetti lassativi dovuti al contenuto di mucillagini, effetti astringenti o antidiarroici dovuti al contenuto di tannini, o effetti antinfiammatori. Non è stata ancora chiarita finora la completa interazione di queste piante con il microbiota intestinale, ma a tal proposito stanno aumentando le ricerche.

Thumann *et al.*, (2019), hanno cercato di identificare e valutare gli studi pubblicati che indagano sulle interazioni delle piante medicinali con il microbioma intestinale. Poiché tutte le superfici del corpo che sono a contatto con l'ambiente, come la pelle, le vie gastrointestinali, urogeniche e respiratorie, sono colonizzate da microrganismi; gli esseri umani possono essere considerati "olobionti", non solo di cellule umane, ma anche di cellule microbiche. I batteri intestinali sono noti per svolgere funzioni importanti per il metabolismo, la fisiologia e l'omeostasi del loro ospite umano. Alterazioni nella composizione intestinale della comunità microbica, la cosiddetta disbiosi, sono stati trovati essere correlati a vari disturbi, che vanno dalle malattie cardio-metaboliche, il cancro, sino alle malattie neurodegenerative. Anche malattie gastrointestinali funzionali e infiammatorie, sono ovviamente associate a un microbiota intestinale alterato.

I disturbi gastrointestinali funzionali (Functional gastrointestinal disorders: FGID) sono le malattie più comunemente diagnosticate in gastroenterologia: sono anomalie morfologiche e fisiologiche che si verificano spesso in combinazione; come disturbi della motilità, ipersensibilità viscerale, alterata elaborazione del sistema nervoso centrale (interazione intestino-cervello), alterazioni delle funzioni delle mucose e del sistema immunitario, e anche

alterazioni riguardanti il microbiota. Tra i FGID, la sindrome dell'intestino irritabile (IBS) è molto probabilmente associata a cambiamenti nella composizione della comunità microbica intestinale: in primo luogo, in molti pazienti affetti da IBS, l'insorgenza della malattia si verifica dopo una gastroenterite batterica, che di solito è accompagnata da un massiccio impoverimento del microbiota commensale, con conseguente riduzione della produzione microbica intestinale di metaboliti antimicrobici e acidi grassi a catena corta (SCFAs). Secondo, la sindrome da crescita batterica eccessiva del piccolo intestino, ovvero la colonizzazione del piccolo intestino con un numero eccessivo di batteri del colon, si osserva in un sottogruppo di pazienti affetti da IBS. In terzo luogo, è stato dimostrato che la composizione della comunità del microbioma fecale dei pazienti affetti da IBS, è diversa da quella di individui sani e mostra una ridotta diversità dei microbioti, con conseguente possibile alterazione della produzione di citochine e di prodotti di fermentazione come gli SCFAs, e che alla fine porta ad un'interferenza con il cosiddetto asse cervello-intestino, cioè l'interazione tra l'intestino e il sistema nervoso centrale.

Anche la disbiosi microbica intestinale riveste un ruolo importante nelle malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD) come il morbo di Crohn e la colite ulcerosa. Come nella IBS, anche una ridotta diversità microbica intestinale è stata osservata in IBD. In tutte queste malattie, resta da chiarire se le alterazioni osservate nel microbiota intestinale siano fattori causali o conseguenze della patogenesi. (Thumann *et al.*, 2019)

Dai composti che rimangono non assorbiti nel tratto intestinale superiore, si può supporre che i costituenti vegetali ingeriti, tramite formulazioni diverse, entrino in contatto con i microrganismi del colon. Le interazioni con il microbiota intestinale possono, da un lato, portare alla metabolizzazione microbica intestinale di costituenti vegetali e alla formazione di metaboliti con alterati profili di bioattività. Dall'altro, i costituenti vegetali possono avviare cambiamenti nella composizione e nella funzione della comunità microbica, che possono a loro volta influenzare l'omeostasi della salute dell'ospite umano. Tenendo conto di questi aspetti, la valutazione delle interazioni con il microbiota intestinale può fornire ulteriori aspetti per comprendere la modalità d'azione dei preparati medicinali a base di erbe tradizionalmente utilizzati per i disturbi gastrointestinali.

Le interazioni microbiche tra erbe e intestino sono state studiate anche in studi di intervento clinico che coinvolgono volontari sani o malati: la questione più importante che

deve essere considerata in questo tipo di studi è l'alta variabilità interindividuale nella composizione della comunità microbica dell'intestino umano, che è causata in misura minore da fattori genetici, ma è fortemente influenzata da fattori come la dieta, la regione geografica, l'età, i farmaci e lo stato di salute. (Shreiner et al., 2015)

A causa della diversa presenza di specie microbiche, anche le funzioni microbiche variano tra individui, portando a variazioni nella metabolizzazione ed eventualmente negli effetti sistemici dei costituenti vegetali soggetti alla metabolizzazione microbica. Esempi di questo fenomeno sono elevate variazioni interindividuali nel metabolismo dei costituenti vegetali come i flavanoni, gli isoflavoni e gli ellagitannini che in alcuni casi possono anche essere correlate alla variazione degli effetti clinici. Pertanto, l'attenta diversità dei partecipanti alla sperimentazione clinica, in particolare per quanto riguarda le loro funzioni della comunità microbica, è della massima importanza per lo studio delle interazioni microbiota-piante negli studi sull'intervento umano.

Un altro aspetto da considerare è la sovrapposizione chimica di costituenti presenti in alimenti e bevande a base vegetale con costituenti di piante medicinali. Pertanto, se le interazioni di piante medicinali con il microbiota intestinale umano devono essere studiate negli studi di intervento clinico, un sofisticato progetto di studio, possibilmente con la restrizione dietetica di alcuni prodotti alimentari che possono interferire con la preparazione studiata, è necessario.

Il Comitato per i prodotti medicinali a base di erbe (Committee on Herbal Medicinal Products: HMPC) ha pubblicato ad oggi 194 monografie erboristiche comunitarie (<https://www.ema.europa.eu/it/medicine/download-medicine-data>). In tabella 3, sono riportate 51 piante medicinali che vengono utilizzate per il trattamento di disturbi gastrointestinali. Di queste, 45 riportano lo status di "valutazione finalizzata", e sono state quindi prese in considerazione per un'analisi più approfondita. Il *Fucus vesiculosus* L. tallo è stato escluso perché viene utilizzato per sostenere la perdita di peso negli adulti in sovrappeso, un'indicazione non direttamente correlata ai disturbi gastrointestinali. Pertanto, nell'ambito delle monografie erboristiche della comunità EMA (European Medicines Agency), sono state identificate 44 piante medicinali utilizzate nell'Unione Europea per trattare varie condizioni o sintomi legati a disturbi gastrointestinali (tabella 3). A parte i semi di Lino e l'olio di Ricino che possiedono lo stato di "uso consolidato" per il trattamento della stitichezza, tutte

le altre piante medicinali identificate hanno lo status di "uso tradizionale" in una varietà di condizioni relative a disturbi gastrointestinali, che indicano che il loro uso ha una lunga tradizione nell'Unione Europea, ma non ci sono sufficienti dati di efficacia clinica per giustificare lo stato di "uso consolidato".

Tabella 3. Monografie HMPC che indicano le piante usate contro i disturbi gastrointestinali. Tutte le piante presenti nelle monografie presentano lo status di "valutazione finalizzata" secondo <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/download-medicine-data>.

Botanical name of herbal drug used in the respective EMA monograph	Accepted scientific plant name [https://mpns.science.kew.org/mpns-portal/ , accessed 23.05.2019 or http://www.plantsoftheworldonline.org/ , accessed 31.07.2019]	Accepted family (refer to accepted scientific plant name)	English name of plant (part)	Additional search terms (i.e. major constituents)
Absinthii herba	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Asteraceae	Wormwood	thujone, absinthin
Agrimoniae herba	<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	Rosaceae	Agrimony	agrimoniin
Althaeae radix	<i>Althaea officinalis</i> L.	Malvaceae	Marshmallow root	
Anisi aetheroleum	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Apiaceae	Anise oil	anethole
Anisi fructus	<i>Pimpinella anisum</i> L.	Apiaceae	Aniseed	
Boldi folium	<i>Peumus boldus</i> Molina	Monimiaceae	Boldo leaf	boldine
Carvi aetheroleum	<i>Carum carvi</i> L.	Apiaceae	Caraway oil	carvone, limonene
Carvi fructus	<i>Carum carvi</i> L.	Apiaceae	Caraway fruit	carvone, limonene
Centaurii herba	<i>Centaurium erythraea</i> Rafn	Gentianaceae	Centaury	swertiamarin
Chamomillae romanae flos	<i>Chamaemelum nobile</i> (L.) All.	Asteraceae	Roman Chamomile flower	nobilin
Cichorii intybi radix	<i>Cichorium intybus</i> L.	Asteraceae	Chicory root	lactucin; inulin
Cinnamomi cortex	<i>Cinnamomum verum</i> J.Presl	Lauraceae	Cinnamon	cinnamaldehyde
Cinnamomi corticis aetheroleum	<i>Cinnamomum verum</i> J.Presl	Lauraceae	Cinnamon bark oil	cinnamaldehyde
Curcumae longae rhizoma	<i>Curcuma longa</i> L.	Zingiberaceae	Turmeric	curcumin
Curcumae xanthorrhizae rhizoma	<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.	Zingiberaceae	Javanese turmeric	curcumin
Cynarae folium	<i>Cynara cardunculus</i> L.	Asteraceae	Artichoke leaf	cynaropicrin
Fragariae folium	<i>Fragaria vesca</i> L.	Rosaceae	Wild strawberry leaf	
Fucus vesiculosus, thallus	EXCLUDED (indication out of scope)	-	-	-
Fumariae herba	<i>Fumaria officinalis</i> L.	Papaveraceae	Fumitory	protopine
Gentianae radix	<i>Gentiana lutea</i> L.	Gentianaceae	Gentian root	gentiopicroside
Harpagophyti radix	<i>Harpagophytum procumbens</i> (Burch.) DC. ex Meisn; <i>Harpagophytum zeyheri</i> Decne.	Pedaliaceae	Devil's claw root	harpagoside
Helichrysi flos	<i>Helichrysum arenarium</i> (L.) Moench	Asteraceae	Sandy everlasting	
Juniperi aetheroleum	<i>Juniperus communis</i> L.	Cupressaceae	Juniper oil	pinene
Lini semen	<i>Linum usitatissimum</i> L.	Linaceae	Linseed	α -linolenic acid; secoisolaricresinol; secoisolaricresinol diglucoside
Liquiritiae radix	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. and/or <i>Glycyrrhiza inflata</i> Batalin and/or <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch. ex DC.	Fabaceae	Liquorice Root	liquiritin, isoliquiritin, liquiritigenin, isoliquiritigenin, glabridin, glycyrrhizic acid
Malvae folium	<i>Malva sylvestris</i> L.	Malvaceae	Mallow leaf	
Malvae sylvestris flos	<i>Malva sylvestris</i> L.	Malvaceae	Mallow flower	malonylmalvin; malvin
Marrubii herba	<i>Marrubium vulgare</i> L.	Lamiaceae	White horehound	marrubiin
Matricariae flos	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Asteraceae	Matricaria flower	apigenin-7-glucoside, matricin, matricarin
Melissae folium	<i>Melissa officinalis</i> L.	Lamiaceae	Melissa leaf	rosmarinic acid
Menthae piperitae folium	<i>Mentha x piperita</i> L.	Lamiaceae	Peppermint leaf	ericiotrin, luteolin-7-O-rutinoside, menthol
Millefolii flos	<i>Achillea millefolium</i> L.	Asteraceae	Yarrow flower	
Millefolii herba	<i>Achillea millefolium</i> L.	Asteraceae	Yarrow	
Myrtilli fructus siccus	<i>Vaccinium myrtillus</i> L.	Ericaceae	Dried bilberry fruit	malvidin-3-O-glucoside/galactoside; delphinidin-3-O-glucoside/galactoside
Origanii dictamnii herba	<i>Origanum dictamnus</i> L.	Lamiaceae	Dittany of Crete herb	p-coumaric acid
Origanii majoranae herba	<i>Origanum majorana</i> L.	Lamiaceae	Majoram	rosmarinic acid
Ricini oleum	<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	Castor oil	ricinolein, ricinoleic acid
Rosmarini aetheroleum	<i>Sabia rosmarinus</i> Spenn.	Lamiaceae	Rosemary Oil	1,8-cineole
Rosmarini folium	<i>Sabia rosmarinus</i> Spenn.	Lamiaceae	Rosemary leaf	rosmarinic acid, carnosol
Rubi idaei folium	<i>Rubus idaeus</i> L.	Rosaceae	Raspberry leaf	
Salviae officinalis folium	<i>Salvia officinalis</i> L.	Lamiaceae	Sage leaf	thujone, rosmarinic acid
Sideritis herba	<i>Sideritis scardica</i> Griseb.; <i>Sideritis clandestina</i> (Bory & Chaub.) Hayek; <i>Sideritis ranseri</i> Boiss. & Heldr.	Lamiaceae	Ironwort	
Silybi mariani fructus	<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertner	Asteraceae	Milk thistle fruit	silybin A/B; isosilybin A/B, silychristin
Taraxaci radix cum herba	<i>Taraxacum officinale</i> agg. F.H.Wigg.	Asteraceae	Dandelion root with herb	inulin
Zingiberis rhizoma	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae	Ginger	gingerol

Le principali classi di composti contenute in queste piante sono olii volatili, costituenti amari, polisaccaridi della mucillagine, composti fenolici come i flavonoidi e i derivati dell'acido rosmarinico, i tannini e gli alcaloidi. I loro campi di applicazione coprono condizioni come il disagio gastrointestinale mite, disturbi dispeptici e digestione lenta, gonfiore, flatulenza, lievi disturbi spasmodici, così come costipazione e diarrea.

5.2 - Olii essenziali puri

Secondo le monografie EMA sono cinque gli olii volatili usati tradizionalmente contro i disturbi gastrointestinali: anice, cumino, corteccia di cannella, ginepro e rosmarino. Per quanto riguarda l'impatto di questi sui microbioti intestinali, è presente uno studio su animali che valuta l'effetto di una combinazione di menta piperita e olio di cumino sulla composizione del microbioma fecale e sul microbioma di ratti con IBS in un modello sperimentale. (Botschuijver *et al.*, 2018)

Una vasta quantità di dati della letteratura, il più delle volte provenienti da esperimenti in vitro, ha dimostrato che le composizioni di olii essenziali, dei costituenti singoli di questi, o di estratti acquosi di droghe ad oli essenziali possiedono effetti antimicrobici su singoli patogeni o su ceppi di batterici benefici; e per alcuni oli volatili, l'attività antimicrobica è risultata essere più marcata contro i patogeni che contro ceppi commensali o probiotici (Ambrosio *et al.*, 2017). Sebbene il significato degli studi effettuati in singoli ceppi sia solo legato alle interazioni che si svolgono in comunità microbiche intestinali, ci si aspetterebbe che a causa dei loro pronunciati effetti antimicrobici, i componenti volatili degli olii avessero un forte impatto sulla composizione della comunità microbica intestinale, a condizione che questi raggiungano l'intestino distale in quantità sufficiente. Questo potrebbe non essere il caso per tutti i costituenti volatili dell'olio. Studi farmacocinetici eseguiti su un numero limitato di monoterpeni, principali costituenti degli olii essenziali, indicano che è probabile che vengano assorbiti nel tratto intestinale superiore dopo la somministrazione orale. (Thumann *et al.*, 2019)

Tuttavia, gli effetti antimicrobici descritti per alcuni oli volatili, come l'olio di menta piperita, sono considerati come un'opzione nella gestione della SIBO (sindrome da contaminazione batterica dell'intestino tenue), che è caratterizzata da un aumento della carica batterica nell'intestino tenue. L'olio di menta piperita, somministrato come capsula a rilascio prolungato, facilitando così la presenza di notevoli concentrazioni di olio volatile nell'intestino superiore, ha ridotto i sintomi complessivi della SIBO meglio del placebo in uno studio clinico di 4 settimane, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, che ha coinvolto pazienti affetti da SIB mista e diarrea predominante. Dati preliminari clinici e in vitro indicano possibili effetti dell'olio di menta piperita su SIBO in generale e sui microrganismi associati a SIBO. (Cash *et al.*, 2016)

Tutto sommato, l'impatto degli oli essenziali sul microbiota intestinale non è stato ampiamente studiato né in vitro, né in vivo su animali da esperimento o sull'uomo. Va detto che esistono dati più significativi su questo argomento nel campo della ricerca sul bestiame, dove gli oli volatili sono considerati come potenziali sostituti degli antibiotici promotori della crescita. In questo campo di ricerca, sono stati effettuati numerosi studi in diversi animali da allevamento che indicano un'influenza dei costituenti volatili dell'olio sulla composizione della loro comunità microbica intestinale. (Thumann *et al.*, 2019)

Per quanto riguarda l'impatto dei microbioti intestinali sul destino metabolico degli oli volatili di cui sopra, non è stato possibile identificare alcuno studio che trattasse la loro metabolizzazione microbica intestinale. Tuttavia, la fermentazione in vitro dei monoterpeni Timolo (figura 3) e Carvacrolo (figura 4) da feci umane derivanti da tre diversi donatori sani, ha mostrato che questi due composti sono piuttosto stabili verso la degradazione microbica intestinale, fornendo un'indicazione che i monoterpeni presenti negli oli essenziali possono difficilmente essere metabolizzati dal microbiota intestinale umano. (Mosele *et al.*, 2014)

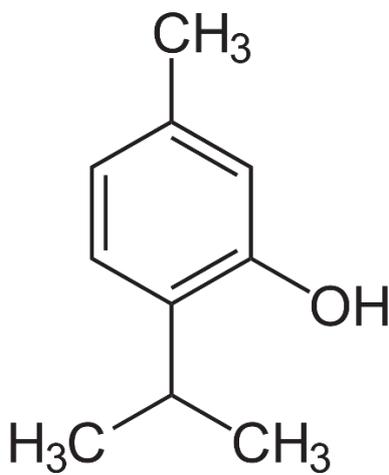


Figura 3. La struttura chimica del Timolo.

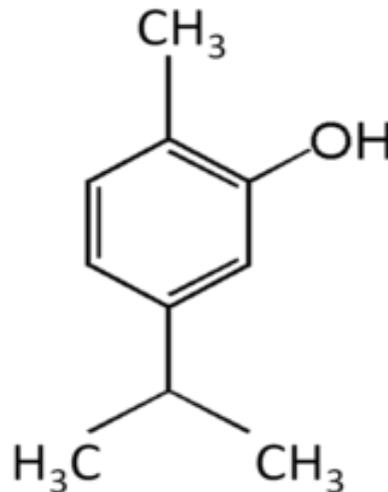


Figura 4. La struttura chimica del Carvacrolo.

Tratte da wikipedia.it

5.3 - Droghe vegetali ricche in oli essenziali

Oltre agli oli essenziali puri, numerose piante medicinali contenenti quantità considerevoli di olio volatile sono tradizionalmente utilizzate nell'Unione Europea per il trattamento di patologie gastrointestinali come lieve dispepsia o disturbi gastrointestinali spasmodici, gonfiore e flatulenza.

Tabella 4. Campi di applicazione e classi di composti dominanti nelle droghe elencati nelle monografie EMA da utilizzare per i disturbi gastrointestinali. Tratto da T.A. Thumann et al., (2019)

Condition	Herbal drugs	Dominant compound classes
mild dyspeptic disorders	Absinthii herba; Centaurii herba; Gentianae radix; Marrubii herba; Salviae folium	volatile oil, bitter constituents
mild gastrointestinal disorders/discomfort	Absinthii herba; Centaurii herba; Gentianae radix; Matricariae flos; Melissa folium; Origan dictamnii herba; Sideritis herba	volatile oil, bitter constituents, flavonoids
(mild) digestive disorders	Carvi aetheroleum; Carvi fructus; Cichorii intybi radix; Curcumae longae rhizoma; Curcumae xanthorrhizae rhizoma; Cynarae folium; Harpagophyti radix; Helichrysi flos; Juniperi aetheroleum; Liquiritiae radix; Menthae piperitae folium; Menthae piperitae aetheroleum; Silybi mariani fructus; Taraxaci radix cum herba	volatile oil, diarylheptanoids, inulin, bitter constituents, triterpenes, flavonoids, flavonolignans
burning sensation, heartburn	Liquiritiae radix, Salviae folium	triterpenes, flavonoids, volatile oil, rosmarinic acid derivatives
demulcent for mild gastrointestinal discomfort	Altheae radix; Lini semen; Malvae folium; Malvae sylvestris flos	mucilage polysaccharides, fatty oil, dietary fibre, lignans, anthocyanins
feelings of fullness	Cichorii intybi radix; Curcumae longae rhizoma; Curcumae xanthorrhizae rhizoma; Fumariae herba; Helichrysi flos; Silybi mariani fructus	inulin, curcuminoids, alkaloids, flavonolignans
slow digestion/indigestion	Cichorii intybi radix; Curcumae longae rhizoma; Curcumae xanthorrhizae rhizoma; Fumariae herba; Silybi mariani fructus	inulin, curcuminoids, alkaloids, flavonolignans
mild, spasmodic gastro-intestinal complaints	Anisi aetheroleum; Anisi fructus; Boldi folium; Chamomillae romanae flos; Cinnamomi cortex; Cinnamomi corticis aetheroleum; Matricariae flos; Millefolii flos; Millefolii herba; Origan majoranae herba; Rosmarini aetheroleum; Rosmarini folium; Zingiberis rhizoma	volatile oil
mild diarrhea	Agrimoniae herba; Fragariae folium; Myrtilli fructus siccus; Rubi idaei folium	proanthocyanidins, anthocyanins, flavan-3-ols, ellagitannins
bloating	Anisi aetheroleum; Anisi fructus; Carvi aetheroleum; Carvi fructus; Chamomillae romanae flos; Cinnamomi cortex; Cinnamomi corticis aetheroleum; Cynarae folium; Harpagophyti radix; Helichrysi flos; Marrubii herba; Matricariae flos; Melissa folium; Millefolii flos; Millefolii herba; Salviae folium; Zingiberis rhizoma	volatile oil, bitter constituents, rosmarinic acid derivatives
flatulence	Anisi aetheroleum; Anisi fructus; Carvi aetheroleum; Carvi fructus; Chamomillae romanae flos; Cichorii intybi radix; Cinnamomi cortex; Cinnamomi corticis aetheroleum; Curcumae longae rhizoma; Curcumae xanthorrhizae rhizoma; Cynarae folium; Fumariae herba; Harpagophyti radix; Juniperi aetheroleum; Marrubii herba; Melissa folium; Menthae piperitae folium; Menthae piperitae aetheroleum; Millefolii flos; Millefolii herba; Zingiberis rhizoma	volatile oil, bitter constituents, rosmarinic acid derivatives
dyspepsia	Boldi folium; Cynarae folium; Juniperi aetheroleum; Lini semen; Liquiritiae radix Menthae piperitae folium; Menthae piperitae aetheroleum; Rosmarini aetheroleum; Rosmarini folium; Salviae folium	alkaloids, bitter constituents, volatile oil, dietary fibre, lignans, mucilage polysaccharides, fatty oil, triterpenes, flavonoids, rosmarinic acid derivatives
treatment of habitual constipation or in conditions in which easy defaecation with soft stool is desirable	Lini semen	mucilage polysaccharides, fatty oil, dietary fibre, lignans
laxative for short term use in cases of occasional constipation	Ricini oleum	ricinolein
increase bile flow	Fumariae herba	alkaloids

Come risulta da tabella 4, tra le erbe medicinali usate per queste indicazioni ci sono ad esempio anice, cumino, melissa, menta piperita, salvia, origano, maggiorana, assenzio, camomilla, cannella corteccia, radice di zenzero e radice di curcuma. Per solo alcune di queste, potrebbero essere identificati studi che indagano la loro interazione con il microbiota intestinale umano, in particolare per la corteccia di cannella, foglie di rosmarino, salvia, curcuma e rizoma di zenzero.

L'unico studio in vivo recuperato sulla corteccia di cannella non ha preso di mira l'olio volatile contenuto in questa droga, ma ha indagato l'impatto del microbiota intestinale sulle procianidine oligomeriche e polimeriche contenute: dopo una singola dose di cannella in polvere, gli autori hanno utilizzato un metodo mirato LC-MS/MS (cromatografia liquida con spettrometro di massa) per rilevare numerosi metaboliti microbici intestinali procianidinici nelle feci di ratto. Inoltre, i coniugati in fase II dei metaboliti microbici della procianidina sono stati rilevati nelle urine, indicando che questi vengono assorbiti dal colon, coniugati nel fegato, trasferiti nel flusso sanguigno e infine escreti tramite le urine.

Le foglie di rosmarino, oltre all'olio essenziale, sono ricche di diterpeni fenolici, acido carnosico (figura 5) e carnosolo, nonché di acido rosmarinico (estere tra l'acido caffeico e il gruppo alcolico in posizione α dell'acido 3,4-diidrossifenillattico). Uno studio in vivo effettuato da Romo-Vaquero *et al.*, (2014) su ratti magri e obesi è stato eseguito con un estratto di foglie di rosmarino ricche di acido carnosico abietano diterpene. L'integrazione con l'estratto di rosmarino ha portato a modifiche nella composizione del microbiota a livello del cieco del gruppo magro, ha aumentato la produzione di SCFAs nei ratti obesi, ma ha diminuito la produzione di SCFAs nei ratti magri. La produzione di acidi grassi a catena ramificata (BCFA) è stata ridotta in entrambi i tipi di animali, con una riduzione più significativa nei soggetti magri. (Thumann *et al.*,2019)

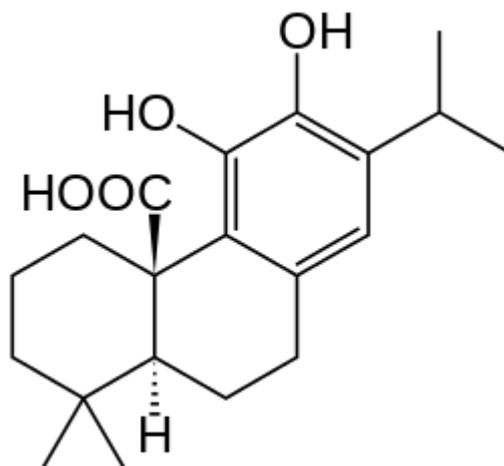


Figura 5. La struttura chimica dell'acido carnosico. Tratto da wikipedia.it

Utilizzando un estratto simile, un estratto di foglie di rosmarino contenente il 60% di acido carnosico, Guo *et al.* (2018) hanno trovato che questa integrazione attenua comportamenti come la depressione, la disbiosi intestinale, le reazioni infiammatorie

nell'ippocampo e il siero di topi con stress cronico da contenzione (CRS). Il profilo genetico 16S rRNA indica che il microbioma dei topi con CRS è stato ripristinato verso quello del gruppo di controllo, aumentando l'abbondanza di Firmicutes e *Lactobacillus* sp., e diminuendo l'abbondanza di Bacteroidetes e *Proteobacteria*. Al contrario, in un modello animale che valuta l'effetto dell'acido carnosico puro e dell'acido rosmarinico in topi diabetici indotti da streptozotocina (STZ), ha mostrato che l'acido carnosico ha diminuito il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes* che era stato aumentato dal trattamento con STZ, ed ha aumentato l'abbondanza di *Proteobacteria* che era diminuito nel gruppo trattato con STZ.

In uno studio che indaga la biodisponibilità di diterpenoidi da un estratto di foglie di rosmarino arricchito di acido carnosico nei ratti Zucker per mezzo di HPLC-qTOF-MS (high-performance liquid chromatography–quadrupole-time of flight mass spectrometry), il glucuronide dell'acido carnosico è stato trovato essere il metabolita predominante presente nei campioni di cieco e colon in punti temporali successivi; indicando che la glucuronidazione epatica e l'escrezione biliare estesa possono essere fattori importanti per il metabolismo in vivo dei diterpeni del rosmarino. (Guo *et al.*,2018)

Al contrario, l'acido rosmarinico, ha dimostrato essere facilmente degradato dal microbiota intestinale in vitro, così come dopo l'assunzione per via orale in animali da esperimento e nell'uomo. Come principali metaboliti, l'acido caffeico, l'acido 3-(3,4-diidrossifenil) propionico, l'acido idrossifenil-propionico, l'acido 3-fenilpropionico e l'acido 2-(4'-idrossifenil) acetico sono stati rilevati in seguito alla fermentazione in vitro di acido rosmarinico puro, così come nell'uomo che aveva ingerito un olio d'oliva arricchito di timo fenolico contenente notevoli quantità di acido rosmarinico. In uno studio in vitro, Bel-Rhliid *et al.*(2009) hanno dimostrato che il *Lactobacillus johnsonii*, un ceppo probiotico isolato dal microbiota intestinale umano, era in grado di metabolizzare l'acido rosmarinico, ovviamente perché questo ceppo possiede un'attività simile alla cinnamil-esterasi. (Thumann *et al.*,2019)

Le foglie di salvia presentano una composizione fitochimica simile a quella delle foglie di rosmarino: oltre all'olio essenziale, sono ricche di derivati dell'acido idrossicinnamico con l'acido rosmarinico come principale costituente, diterpeni fenolici come l'acido carnosico e il carnosolo, triterpeni e flavonoidi. È stato identificato uno studio che si è concentrato sulla fermentazione in vitro di nanoparticelle lipidiche solide riempite o con acido rosmarinico puro o con estratto acquoso liofilizzato di foglie di salvia, così come l'estratto non incapsulato e

acido rosmarinico, da campioni fecali umani di un donatore. L'estratto di salvia libera e l'acido rosmarinico hanno influenzato la composizione microbica.

5.3.1 Aspetti botanici e proprietà di *Curcuma longa* L.

Due ulteriori droghe vegetali ricche di olio volatile e usate per trattare malattie gastrointestinali secondo le monografie EMA sono i rizomi delle due specie di curcuma: *Curcuma longa* L. (curcuma) e *Curcuma zanthorrhiza* Roxb. (Curcuma giavanese). I rizomi di entrambe le specie contengono principalmente olio volatile ricco di sesquiterpeni, polisaccaridi, così come i composti gialli con una struttura del dicinnamoilmetano chiamati curcuminoidi. È stato condotto un piccolo studio su soggetti umani sani, in doppio cieco, controllato con placebo, per valutare l'impatto delle compresse, contenenti sia l'estratto di *Curcuma longa* che la curcumina pura, entrambe in combinazione con una piccola quantità di piperina, sulla composizione del microbiota intestinale umano. Gli effetti del trattamento con curcuma e curcumina sono stati personalizzati, indicando che la composizione microbica dell'intestino di ogni soggetto è estremamente diversa, e la curcumina è stata suggerita come la principale forza trainante delle alterazioni della composizione del microbiota. Ciò è in linea con gli effetti marcati della curcumina pura sul microbiota intestinale osservato in vitro e negli animali da esperimento.

Negli animali da esperimento, il trattamento con curcumina (figura 6) ha portato alla diminuzione delle Prevotellaceae e all'aumento delle Bacteroidaceae e delle Rikenellaceae. Nei topi affetti da cancro associato a colite (CAC), la curcumina ha aumentato la ricchezza batterica, ha impedito una diminuzione legata all'età della diversità alfa, ha aumentato dell'abbondanza relativa di Lactobacillales e ha diminuito dell'abbondanza relativa di Coriobacterales. Il profilo tassonomico dei topi CAC che ricevono curcumina è risultato essere più simile a quello dei topi selvatici rispetto a quello dei topi CAC alimentati con dieta di controllo. (Thumann *et al.*, 2019)

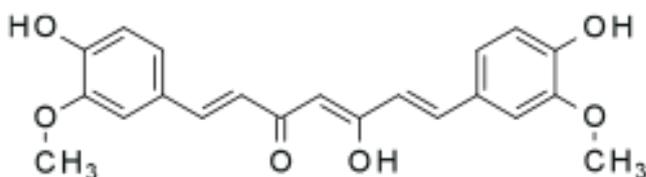


Figura 6. Struttura chimica della Curcumina. Tratto da wikipedia.org

Le nano particelle di curcumina hanno migliorato vari sintomi di malattia nei topi BALB/c (è un ceppo albino, allevato in laboratorio, del topo domestico da cui derivano un numero di sottostrutture comuni) con colite indotta da destrano sodio solfato (DSS). Per quanto riguarda la composizione della comunità microbica intestinale che è stata valutata mediante analisi rt-PCR di feci di topo, il trattamento con curcumina ha ridotto l'abbondanza del gruppo Lactobacillales ma ha aumentato l'abbondanza di butirrato che produce batteri *Clostridium* così come livelli di butirrato fecale determinati da HPLC. D'altra parte, i microbi intestinali sono anche in grado di degradare i principali curcuminoidi della curcuma (curcumina, dimetossi-curcumina, bisdimetossi-curcumina). Sino ad oggi sono stati identificati i seguenti ceppi batterici intestinali umani in grado di degradare la curcumina: *Blautia* sp. MRG-PMF1, *Escherichia fergusonii* ATCC 35469, ceppi di *Escherichia coli* ATCC 8739 e H10B, *Bifidobacterium longum* BB536, *Bifidobacterium pseudocatenulatum* G4, *Escherichia coli* K-12, *Enterococcus faecalis* JCM 5803, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei*. (Thumann *et al.*, 2019)

Un recente studio clinico randomizzato e controllato in doppio cieco di C.T. Peterson *et al.*, (2018), suggerisce che i curcuminoidi presenti nella curcuma modulano la composizione e la popolazione dei batteri intestinali, offrendo potenziali benefici per la salute dell'ospite. Vi hanno partecipato 30 soggetti sani assegnati con randomizzazione come segue: 10 al gruppo placebo, 10 al gruppo curcuma e 10 al gruppo curcumina; 14 hanno completato il trial. I partecipanti allo studio hanno ricevuto compresse di curcuma con estratto di piperina, compresse contenenti curcumina oppure compresse di placebo; le successive modificazioni del microbiota intestinale sono state determinate mediante sequenziamento dell'rRNA 16S. Il numero di specie batteriche rilevate variava da 172 a 325. Il gruppo placebo ha mostrato una riduzione complessiva delle specie del 15%, mentre i soggetti trattati con la curcuma hanno mostrato un modesto aumento del 7% nel post trattamento della specie osservata. I soggetti che hanno assunto curcumina hanno mostrato un aumento medio del 69% nelle specie rilevate. La risposta del microbiota intestinale al trattamento è risultata altamente personalizzata. Il microbiota di tutti i partecipanti a questo studio ha evidenziato una variazione significativa nel tempo e una risposta individualizzata al trattamento. Tra i partecipanti che hanno risposto al trattamento, sia la curcuma sia la curcumina hanno modificato il microbiota intestinale in modo molto simile, suggerendo che la curcumina possa determinare la maggior parte dei cambiamenti osservati.

5.3.1.1 – Effetto prebiotico- simile di *Curcuma longa L.*

Peterson *et al.*, (2018) hanno descritto gli effetti della curcuma sulla composizione del microbiota intestinale come un effetto 'prebiotico-simile'. Questo studio pilota aggiunge nuove informazioni alle evidenze scientifiche che documentano in che modo i batteri nell'intestino umano interagiscono con i composti chimici ingeriti. Sono necessari studi futuri, con un campione più ampio, per comprendere appieno gli effetti di curcuma e curcumina sul microbiota intestinale e come questi effetti contribuiscano ai benefici per la salute.

Saranno necessarie ulteriori ricerche anche per indagare in che misura queste interazioni con i microbioti intestinali contribuiscano agli effetti anticancro, antinfiammatori, anti-aterogenici, anti-ipercolesterolemici, anti-diabetici, anti-aterosclerotici descritti per la curcumina, e all'uso tradizionale di rizomi di curcuma contro i disturbi gastrointestinali.

Come i rizomi di curcuma, i rizomi di zenzero contengono olio volatile che è ricco di sesquiterpeni. Inoltre, contengono una serie di composti dal sapore pungente con lo scheletro arilalcanico: i gingeroli e gli shogaoli. L'integrazione con lo zenzero è stata in grado di modificare il microbiota fecale dei topi, andando di pari passo con l'aumento della produzione di SCFAs a causa della maggiore abbondanza di specie produttrici di SCFAs. In uno studio di fermentazione in vitro di 6-shogaolo puro con fanghi fecali umani di sei diversi volontari, si è potuto osservare che tutti i campioni sono stati in grado di metabolizzare [6]-shogaolo in 1-(4-idrossi-3-metossifenile)-decan-3-uno per riduzione del doppio legame. In quattro dei campioni del donatore, è stato rilevato 1-(4-idrossimetossifenile)-decan-3-olo come secondo metabolita, ovviamente risultato della riduzione di entrambi i doppi legami e del gruppo keto presente in [6]-shogaol. Questo indica che alcuni dei microbiomi fecali sono in grado di eseguire un'ulteriore riduzione del primo metabolita. Questi dati mostrano che il microbiota intestinale umano è in grado di metabolizzare un singolo costituente, attraverso diversi percorsi metabolici, in diversi prodotti; ovviamente a seconda della composizione individuale della comunità microbica. (Wang *et al.*, 2017).

Per quanto riguarda i singoli costituenti che interagiscono con i microbioti intestinali, gli studi che abbiamo identificato, nella maggior parte dei casi, non hanno indagato i costituenti degli olii volatili, ma altri importanti costituenti delle rispettive piante, come i derivati dell'acido idrossicinnamico, i diterpeni fenolici, i curcuminoidi e [6]-shogaolo.

5.4 – Droghe vegetali contenenti tannini e antocianine

Tra le droghe vegetali tradizionalmente utilizzate per il trattamento di malattie gastrointestinali, tre sono ricche di tannini: in particolare l'erba agrimonia, le foglie di fragola, e le foglie di lampone. Nei frutti di mirtillo essiccati, accanto ai tannini, sono presenti consistenti quantità di antociani. Tutte queste droghe sono principalmente utilizzate per il trattamento della diarrea lieve (Tabella 3). I tannini sono ben noti per i loro effetti astringenti, ma negli ultimi anni sono anche stati ampiamente studiati per quanto riguarda le loro interazioni con il microbiota intestinale degli esseri umani. (Thumann *et al.*, 2019)

I tannini sono composti polifenolici ad alto peso molecolare (da 500 fino a 20.000) e con parecchi gruppi ossidrilici o di altra natura (per esempio, carbossilici) che permettono loro di formare complessi stabili e forti con le proteine e/o con altre macromolecole (amido, cellulosa, minerali) (Morelli *et al.*, 2005). Non vengono assorbiti nell'intestino superiore e quindi raggiungono virtualmente il colon invariati. Le interazioni con i microbioti intestinali sono state mostrate per tannini condensati (procianidine) e per i tannini idrolizzabili come gli ellagitannini.

Le procianidine sono oligomeri o polimeri (da 2 a 50 unità) di unità flavanoidiche, costituite da catechine (flavan-3-oli) o flavan-3,4-dioli (leucoantocianidine) tra loro legate con un legame C-C, non suscettibile alla rottura mediante idrolisi (Morelli *et al.*, 2005). Sono soggetti a metabolizzazione da parte del microbiota intestinale negli animali da esperimento e negli esseri umani.

Anche se in realtà possiedono effetti inibitori della crescita batterica, il microbiota intestinale contiene gruppi di batteri che, non solo sono in grado di resistere a questi effetti inibitori della crescita, ma anche di metabolizzare le procianidine attraverso varie reazioni metaboliche come la scissione dell'interflavano, l'apertura dell'anello C, la lattonizzazione, la decarbossilazione, la deidrossilazione e l'ossidazione. Queste reazioni sono la maggior parte effettuate in sequenza da diversi taxa batterici con attività cataboliche specifiche e portano alla formazione di metaboliti quali: idrossifenil- γ -valerolattoni, acidi idrossifenilvalerici, acidi idrossifenilpropionici e acidi idrossibenzoici. (Thumann *et al.*, 2019)

Questi prodotti possono essere assorbiti e hanno mostrato una varietà di attività farmacologiche in vitro e in animali da esperimento. Inoltre, i tannini idrolizzabili, come gli

ellagitannini, sono stati trovati metabolizzati da alcune specie batteriche del microbiota intestinale umano. Alcuni generi batterici intestinali come *Lactobacillus*, *Roseburia*, *Streptococcus*, *Fusobacteria* e *Slackia* sono in grado di produrre l'enzima tannasi, che trasforma gli ellagitannini in acidi esaidrossidifenici. Dopo la lattonizzazione di questo metabolita in acido ellagico, *Gordonibacter sp.* lo trasforma in urolitine. (Thumann *et al.*,2019)

La capacità di produrre urolitine è ovviamente correlata ad una forte variabilità interindividuale che sembra essere determinata dalla composizione individuale della comunità microbica intestinale (anche chiamato "metabotipo") ed è fortemente correlato con l'età. Tannini condensati e idrolizzabili e cibi ricchi di questi composti sono stati trovati anche in possesso di effetti simili ai prebiotici nei microbioti intestinali, cioè, hanno migliorato la crescita di bifidobatteri e lattobacilli *in vitro*, in animali da esperimento e in studi clinici. Sono in grado di modellare il microbiota intestinale aumentando il rapporto *Firmicutes/Bacteroides* e influenzando positivamente l'abbondanza di alcune specie microbiche che possono conferire effetti benefici per la salute all'ospite umano, come *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, e *Roseburia sp.* (Thumann *et al.*,2019)

5.4.1 – Aspetti botanici e proprietà di *Agrimonia eupatoria* L.

L'*Agrimonia* (figura 7) è una pianta erbacea perenne, eretta, con foglie imparipennate e fusto ramificato solo nella parte finale ricoperto da peluria e foglie. In Italia è abbastanza diffusa in pianura e collina, lungo il ciglio di strade e sentieri, ai margini dei boschi. Si utilizzano le foglie e le sommità fiorite, colte non appena inizia la fioritura, e poi fatte essiccare in luogo ventilato e all'ombra.



Figura 7. I fiori gialli di *Agrimonia eupatoria* L. Tratto da wikipedia.it

Contiene tannini condensati insieme a minori quantità di ellagitannini ed oltre a questi, di cui è molto ricca (e che ne fanno un ottimo rimedio contro la diarrea), contiene glicosidi, flavonoidi, vitamine B e K, ferro ed olio essenziale. Ad oggi non sono disponibili dati relativi all'interazione dei preparati di agrimonia con l'intestino microbico ma in uno studio in vitro l'ellagitannino agrimoniina, ottenuta da *Agrimonia eupatoria L.*, è stata incubata con campioni fecali umani. Il composto è stato in parte trasformato in urolitine e i metaboliti principali formati sono stati urolitina C, iso-urolitina A o urolitina A, a seconda del microbiota intestinale del donatore. (Piwowarski *et al.*, 2016)

5.4.2 – Aspetti botanici e proprietà di *Fragaria vesca L.*

Fragaria vesca L. (Figura 8), conosciuta più comunemente come fragola, appartiene a un genere di poche specie di piante perenni. Può raggiungere un'altezza di 20-25 cm con stoloni pelosi aventi foglie trifogliate. I fiori hanno il centro giallo e petali bianchi attorno. Il falso frutto, la fragola, è cosparso di semi gialli sulla superficie, i quali sono i veri frutti. (Mancini, 2014) Le foglie di fragola sono ricche di ellagitannini, procianidine oligomeriche, flavonoidi e acidi fenolici. Tra gli ellagitannini, sono stati identificati l'agrimoniina dimerica, ma anche gli ellagitannini monomerici e oligomerici.



Figura 8. Illustrazione di *Fragaria vesca L.* Tratto da wikipedia.org

Non è stato identificato alcun studio che metta in correlazione il microbiota con le foglie di fragola ma, in uno studio in vivo, i ratti sono stati alimentati con diverse frazioni di fragola ricche in ellagitannini, vale a dire l'acido ellagico, ellagitannini monomerici, e una frazione di

ellagitannini dimerici (principalmente agrimoniina). Gli autori hanno scoperto che l'acido ellagico e gli ellagitannini monomerici erano più rapidamente convertiti in urolitine rispetto agli ellagitannini dimerici. I principali metaboliti nell'intestino e nel cieco dei ratti erano urolitina A e nasutina A ed erano rilevabili anche nel plasma e nelle urine di ratto già un giorno dopo l'inizio della supplementazione. (Milala *et al.*, 2017)

5.4.3 – Aspetti botanici e proprietà di *Vaccinium myrtillus L.*

Il mirtillo è un arbusto alto, con fusti ramificati e foglie alterne, ovali, con corto picciolo e dentate ai margini. Ha proprietà capillarotrope, antidiarroiche nei bambini e la droga è costituita da frutti rugosi (pseudobacche). Oltre ai tannini condensati e idrolizzabili, i frutti di mirtillo essiccato contengono quantità sostanziali di antociani che ne determinano la colorazione. A livello chimico si ha la presenza di: Delfinidina 3-O glicoside, cianidina 3-O glicoside, Petunidina 3-O glicoside, Peonidina 3-O glicoside, Malvidina 3-O glicoside e tannini catechici.

I risultati degli studi appaiono alquanto eterogenei per quanto riguarda gli effetti della supplementazione di mirtillo sulla diversità microbica intestinale nei topi e nei ratti. Nel primo studio, i topi C57BL/6 J ApcMin sono stati alimentati con una dieta ad alto contenuto di grassi integrata con il 10% di mirtilli liofilizzati, portando ad una diversità microbica significativamente migliorata nel contenuto cecale. In un secondo studio eseguito con un estratto di mirtillo ricco di antociani nei ratti che invecchiano, ad una concentrazione di 20 mg/kg, sono stati osservati risultati migliori per quanto riguarda la modulazione del microbiota intestinale verso gruppi batterici potenzialmente benefici, e per quanto riguarda la produzione di SCFAs; mentre ad una dose più elevata, l'abbondanza di alcuni gruppi batterici potenzialmente benefici è stata influenzata negativamente. (Li *et al.*, 2019) (Päivärinta *et al.*, 2016)

Oltre a questi studi sui preparati di mirtilli, sono disponibili molti dati sull'interazione degli antociani nei confronti dei microbioti intestinali. Dopo l'ingestione orale, una parte sostanziale di antociani passa il tratto intestinale superiore e raggiunge il colon dove i glicosidi vengono scissi e le antocianidine suddivise per fissione dell'anello C e ulteriore conversione metabolica dei frammenti dell'anello A e B. In uno studio di fermentazione in vitro condotto da Flores *et al.*, (2015), cianidina-3-glucoside incapsulata in ciclodestrina, delfinidina-3-glucoside, e malvidina-3-glucoside sono state incubate per 24 ore in una sospensione fecale

umana proveniente da tre donatori. Nelle prime 5 ore di incubazione, ogni 30 minuti è stato prelevato un campione. Non sono stati rilevati agliconi in nessun momento. Il metabolita principale della cianidina-3-glucoside era l'acido ferulico, della delphinidina-3-glucoside l'acido gallico, e della malvidina-3-glucoside acido siringico (figura 8) e acido gallico.

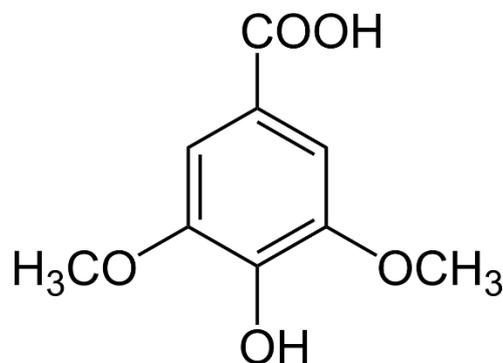


Figura 8. Struttura chimica dell'acido siringico. Tratto da wikipedia.org

È stata anche determinata e confrontata la quantità di SCFAs, prodotta durante il processo di fermentazione, con i livelli SCFAs prodotti in un gruppo di controllo prebiotico positivo (Raftilose P95) e un gruppo di controllo negativo (nessuna sostanza aggiunta). Solo dopo 24 ore, i livelli di SCFAs si differenziavano in modo significativo nei due rispettivi gruppi. Inoltre, i cambiamenti in alcuni gruppi batterici nel corso del tempo sono stati valutati con il FISH (Fluorescent in situ hybridization) e si è notata una riduzione del gruppo *Clostridium histolyticum* causato dall'incubazione con cianidina-3-glucoside e delphinidina-3-glucoside. La fermentazione in vitro di malvidina-3-glucoside con colture pure di bifidobatteri e lattobacilli ha portato alla formazione di acido gallico, acido omogentisico, acido siringico, acido p-cumarico e acido sinapico. Anche in questo caso, non sono stati rilevati agliconi.

Bifidobacterium spp. e *Lactobacillus* sono significativamente aumentati in uno studio di fermentazione fecale umana in vitro con malvidina-3-glucoside puro e con una miscela di antociani in un liquame fecale umano. Di nuovo, l'acido siringico è stato rilevato come un metabolita di malvidina-3-glucoside, insieme ad acido gallico e pirogallolo. In questo studio, l'acido gallico ha mostrato effetti inibitori contro il *Clostridium histolyticum* e *Bacteroides* spp. (Thumann *et al.*, 2019)

Per quanto riguarda gli effetti modulatori degli antociani sui microbioti intestinali in modo più generale, una recente revisione sistematica della letteratura (Igwe *et al.*, 2019) ha

identificato sei studi (tre in vitro, due in animali da esperimento e uno in volontari umani) che indicano che gli antociani inducono un significativo effetto proliferativo sui Bifidobatteri, potenzialmente benefici per la salute, e un'inibizione del patogeno *Clostridium histolyticum*. Tuttavia, la base di dati a supporto di questa potenziale attività prebiotica è ancora limitata ad oggi ma una maggiore ricerca potrebbe portare a risultati ottimi confermando l'effetto prebiotico-simile.

In un recente articolo di Rodríguez-Daza *et al.*, (2020) si mettono in luce come le proantocianidine del mirtillo possano influenzare il profilo di un buon microbiota. È risaputo che mirtilli sono una ricca fonte di polifenoli, tuttavia, il loro contributo alla salute e i meccanismi d'azione dipendono dal tipo e dalla struttura. Si sono valutati gli effetti di un estratto polifenolico di mirtillo selvatico (wild blueberry polyphenolic extract: WBE), quindi di *Vaccinium angustifolium Aiton*, oltre che su parametri cardio-metabolici, anche sulla composizione del microbiota intestinale e l'istologia dell'epitelio dell'intestino di topi obesi ad alto contenuto di grasso e di saccarosio (high-fat high-sucrose: HFHS) indotto dalla dieta e determinato quali frazioni polifenoliche costitutive (polyphenolic fractions: BPF) siano responsabili degli effetti osservati. L'estratto intero è stato separato in tre frazioni e fornite alla loro rispettiva concentrazione:

- F1) Antociani e acidi fenolici
- F2) Proantocianidine (PAC), acidi fenolici e flavonoli (grado di polimerizzazione < 4)
- F3) PAC (grado di polimerizzazione > 4)

Dopo 8 settimane, l'estratto polifenolico di mirtillo selvatico (WBE), ha ridotto il test orale di tolleranza al glucosio (OGTT) AUC del 18,3% rispetto ai roditori trattati con alto contenuto di grasso e saccarosio: la frazione 3 ha contribuito maggiormente mentre la frazione 1, ricca di antociani, non ha riprodotto questa risposta. WBE e BPF hanno ripristinato lo strato di muco del colon; in particolare le PACs della frazione 3 hanno aumentato il numero di cellule del calice che secernono la mucina. WBE ha causato un significativo aumento di 2 volte, in proporzione, di *Adlercreutzia equolifaciens* (genere nel phylum *Actinobacteria*) mentre la frazione F2 oligomerica dei PAC ha causato un incremento di 2,5 volte di *Akkermansia muciniphila*.

Questo studio rivela quindi il ruolo chiave di WBE e delle PACs (proantocianidine) nella modulazione del microbiota intestinale e nel ripristino dello strato di muco epiteliale del colon, fornendo così una nicchia ecologica adatta per batteri simbiotici associati alla mucosa, che possono essere cruciali nello scatenare gli effetti dei polifenoli del mirtillo sulla salute.

Oltre agli antociani il mirtillo selvatico ha un profilo complesso di polifenoli bioattivi, contiene anche acido clorogenico, oligomeri e polimeri del flavan-3-olo, come le proantocianidine (PACs). È interessante notare che vi sono maggiori prove che dimostrano che le PACs possano attenuare la progressione della sindrome metabolica, compreso il diabete di tipo 2 e l'obesità. Poiché i PAC ad alto peso molecolare sono scarsamente assorbiti nell'intestino tenue, raggiungono il grande intestino dove interagiscono con il microbiota intestinale ed esercitano effetti prebiotici.

Un'omeostasi intestinale alterata e alterazioni della diversità e della composizione tassonomica del microbiota intestinale, come ad esempio in situazioni di disbiosi, sono coinvolti nell'influenzare la risposta immunitaria intestinale e contribuire alla patogenesi dell'obesità e diabete di tipo 2; possono quindi rappresentare nuovi fattori di rischio per questi disturbi metabolici. Allo stesso modo, l'infiammazione dell'epitelio intestinale e lo strato di muco alterato portano ad una maggiore permeabilità epiteliale e sono specificamente associati ad un microbiota intestinale alterato. Sempre nel medesimo studio (Rodríguez-Daza *et al.*, 2020), nei ratti alimentati con una dieta ad alto contenuto di grassi, l'integrazione di polvere di mirtillo per 8 settimane ha migliorato la sensibilità all'insulina e l'infiammazione sistemica in associazione a importanti cambiamenti nella composizione dei microbioti intestinali.

Nell'uomo, uno studio di intervento dietetico cross-over ha rivelato effetti prebiotici simili del mirtillo selvatico sull'abbondanza relativa di *Bifidobacterium*. Lo strato di muco intestinale può essere influenzato da una disbiosi indotta dalla dieta ad alto contenuto di grasso e di saccarosio (HFHS), aumentando così il rischio di esposizione della mucosa del colon al commensale microbiota. (Vendrame *et al.*, 2011)

In sintesi, sia i tannini che gli antociani raggiungono il colon a livelli sostanziali dopo l'ingestione orale, a causa del limitato assorbimento nell'intestino superiore, e ovviamente interagiscono fortemente con i microbioti intestinali dai quali vengono metabolizzati, portando alla formazione di nuovi metaboliti biodisponibili, alcuni dei quali con effetti

farmacologici come mostrato negli studi preclinici. Inoltre, l'interazione con tannini e antociani può portare alla modulazione prebiotica dei microbioti intestinali e in alcuni casi anche alla promozione selettiva della crescita di alcuni ceppi batterici, alcuni dei quali sono suggeriti come benefici per la salute dell'ospite umano. Questi effetti possono anche giocare un ruolo fondamentale per poter usare droghe vegetali ricche di tannini e antociani nel campo delle malattie gastrointestinali.

5.5 – Droghe vegetali contenenti inulina

La radice di cicoria, la foglia di carciofo, la radice e le foglie di tarassaco sono caratterizzate da un elevato contenuto di inulina, la quale è un prebiotico.

Come riportato precedentemente, i prebiotici sono definiti come substrati utilizzati selettivamente dai microrganismi ospiti, conferendo così un beneficio per la salute. I più descritti sono le fibre alimentari come i fruttani, come inulina, e i galatto-oligosaccaridi. Le fibre non possono essere digerite dagli enzimi nell'intestino superiore dell'uomo, quindi raggiungono il colon dove vengono fermentate dai microbioti intestinali, dai fruttani e dai galattani (metabolizzate preferibilmente dai ceppi di *Bifidobacteria*). I principali prodotti di fermentazione microbica intestinale di questi carboidrati sono gli SCFAs (acido acetico, acido propionico e acido butirrico). Gli SCFAs non solo rappresentano un importante flusso di carbonio dalla dieta, attraverso il microbioma intestinale, all'ospite; ma si pensa che modulino il pH luminale dell'intestino e la composizione della comunità microbica, e che svolgano un ruolo nel segnalare i percorsi tra il microbiota intestinale e l'ospite in processi come l'omeostasi del glucosio, il metabolismo dei lipidi, la regolazione dell'appetito, e la funzione immunitaria.

Per quanto riguarda i suoi effetti sulla composizione della comunità microbica intestinale umana, l'inulina è nota per aumentare l'abbondanza di bifidobatteri nell'intestino. È una sostanza di immagazzinamento nelle piante superiori e, al contrario dell'amido, è limitata ad alcune specie o famiglie di piante. Ad esempio, è il polisaccaride di stoccaggio caratteristico della famiglia delle Asteraceae.

A causa del loro notevole contenuto di inulina, le radici di cicoria, le radici di tarassaco e le foglie di carciofo possono influenzare il microbioma intestinale in modo simile all'inulina purificata. La radice di cicoria è una fonte importante per l'estrazione industriale a caldo di

inulina, infatti, già più di vent'anni fa, i primi studi in vitro e gli studi sull'intervento umano hanno dimostrato che questa viene rapidamente metabolizzata dai batteri fecali umani e promuove selettivamente la crescita dei bifidobatteri nell'intestino umano. (Thumann *et al.*,2019)

5.5.1 – Aspetti botanici di *Helianthus tuberosus* L.

Il topinambur, *Helianthus tuberosus* L., appartiene alla famiglia delle *Asteraceae*, può arrivare ai 2-3 metri di altezza ed ha larghe foglie verdi e fiori gialli (figura 9). Il tubero, la porzione sotterranea del fusto modificata per accumulare le varie sostanze di riserva, ha un aspetto irregolare con una scorza sottile e un colore che va dal marrone, al bianco, sino al rosso porpora a seconda della varietà e dei terreni di coltura. È una pianta molto facile da coltivare, che garantisce ottime rese, adatta anche a suoli poveri e in grado di sopravvivere a temperature molto ridotte che uccidono la pianta ma non danneggiano il tubero, che tornerà a crescere durante la stagione calda successiva. È potenzialmente infestante e va ben controllata per impedire che si propaghi senza controllo; la crescita molto rapida fa sì che non risultino necessari pesticidi e trattamenti per garantirne un buon raccolto. Predilige luoghi incolti ed umidi fino a 800 metri. Soltanto una piccola parte del raccolto mondiale è utilizzata per l'alimentazione umana: una buona parte è destinata alla produzione di inulina, fibra largamente utilizzata nell'industria alimentare, mentre una parte è destinata alla produzione di bio-combustibile e mangimi per l'allevamento animale. (L. Yang *et al.*,2015)



Figura 9. Il tubero e i fiori di *Helianthus tuberosus*. Tratto <https://www.mauriziotommasini.it/topinambur-inulina-proprietà-nutritive/>.

5.5.1.1 - *Helianthus tuberosus* L. come prebiotico

Centro grammi di topinambur crudo forniscono circa 73 kcal, il contenuto di grassi è praticamente trascurabile, le proteine sono pari a 2 grammi, i carboidrati arrivano attorno ai 18 grammi: di questi, circa 9 sono zuccheri; mentre le fibre sono circa 1,6 grammi. È buono il contenuto di vitamina B1, Niacina e vitamina C. Tra i minerali è rilevante l'apporto di ferro, potassio e fosforo.

Il topinambur è uno dei pochi vegetali in cui è presente un'abbondante quantità di inulina, che può andare dal 50 al 75% del peso secco a seconda della varietà e del periodo di coltura. L'inulina è un polimero del fruttosio, una catena costituita da molecole di D-fruttosio, unite da legami β (2,1) glicosidici (Puangbut *et al.*, 2012), la cui lunghezza è variabile e può andare da una ventina sino a qualche migliaio di unità di fruttosio. L'inulina non può essere digerita dagli enzimi umani, quindi attraversa stomaco e intestino tenue senza essere degradata; sono i batteri presenti nel microbiota intestinale ad utilizzare l'inulina come substrato per processi fermentativi che portano alla produzione di acido lattico e acidi grassi a catena corta (SCFAs). Ha quindi un apporto calorico molto inferiore a quello dell'amido, dovuto esclusivamente al metabolismo dell'acido lattico e degli acidi grassi che si formano durante la fermentazione. Per questo motivo viene utilizzata nella produzione di cibi funzionali per il trattamento dell'obesità, del diabete di tipo 2 e di altre patologie, con interessanti studi che mostrano riduzione del peso corporeo e del grasso addominale in soggetti che consumano integratori a base di inulina. È una fibra solubile, che forma una massa di consistenza gelatinosa in ambiente acquoso, ed è considerata un importante prebiotico, una sostanza in grado di modulare crescita e sviluppo dei batteri intestinale.

In particolar modo, l'inulina pare favorire la crescita di ceppi appartenenti ai generi *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, batteri considerati svolgere un ruolo positivo nel colon. Stimola inoltre la motilità intestinale, riduce il colesterolo, aumenta il volume delle feci e può aiutare l'evacuazione in soggetti affetti da stitichezza. (Bach Knudsen & Hesso, 1995) (Flamm *et al.*, 2010) (Mancini, 2014)

Altri effetti positivi dell'inulina sembrano essere legati ad un aumento dell'assorbimento di calcio e magnesio a livello intestinale: l'aumento dell'assorbimento di calcio è particolarmente significativo in quei soggetti che utilizzano farmaci antiacido, i quali possono ridurre in maniera importante l'efficienza del processo. (Hess *et al.*, 2015)

Come si è visto, l'inulina e i cibi che la contengono (come il topinambur) hanno molte qualità ma possono creare problemi all'apparato digerente di soggetti sensibili. Infatti, come tutti i polisaccaridi contenenti fruttosio, l'inulina è osmoticamente attiva e può richiamare liquidi nel lume intestinale causando gonfiori che possono dar luogo ad un'eccessiva produzione di gas, dovuta ai processi fermentativi operati dal microbiota intestinale, con produzione di eccessive quantità di idrogeno e metano e feci acquose e maleodoranti. Il problema non è irrimediabile, infatti occorre riportare ordine nel microbiota intestinale che va abituato al consumo di questi cibi: i soggetti che hanno avuto problemi con alimenti ad elevato contenuto di FODMAPs (mono- di- oligo- saccaridi e polioli fermentabili) dovrebbero esser molto cauti nel consumo di topinambur, partendo con piccole quantità, non molto di frequente, per aumentare progressivamente, se non si hanno problemi.

5.5.2 – Aspetti botanici e proprietà di *Cynara scolymus* L.

Il Carciofo (figura 10), *Cynara scolymus* L., tradizionalmente conosciuto come coleretico, epatoprotettore, diuretico e ipolipemizzante, è anche presente in *Farmacopea Italiana*. È una pianta ricca di acidi organici e polifenoli rappresentati dall'acido 3-caffeoilchinico, detto anche acido clorogenico (2,5%), dall'acido caffeico (1%), e dall'acido 1,5-dicaffeil-chinico. Contiene anche dei lattoni sesquiterpenici, la cinaropicrina e i suoi derivati, che le conferiscono il caratteristico sapore amaro, e dei flavonoidi, in particolare eterosidi del luteololo e dell'apigenolo (Lietti, 1977); inoltre le foglie di carciofo contengono anche notevoli quantità di inulina.



Figura 10. Illustrazione di *Cynara scolymus* L. Tratto da <https://www.midlandbio.it/cynara-scolymus--.html>

Uno studio ha confrontato la struttura chimica dell'inulina ottenuta dal carciofo con quella dell'inulina derivata dalla cicoria. A parte le differenze per quanto riguarda il grado di polimerizzazione (cicoria=12; carciofo=46) e solubilità in acqua (cicoria=120 g/l; carciofo=5 g/l), le proprietà fisico-chimiche dei due carboidrati sono ovviamente simili.

In uno studio di intervento umano con 32 volontari effettuato da Costabile *et al.*, (2010) sono stati indagati gli effetti prebiotici dell'inulina a catena molto lunga ottenuta da *Cynara scolymus*. I Livelli di SCFAs nel microbioma fecale sono stati valutati prima dell'integrazione, dopo tre settimane di supplementazione di inulina del carciofo, e dopo tre settimane di fase inattiva. Le quantità di SCFAs non sono state influenzate, ma il numero di bifidobatteri e di lattobacilli è aumentato in modo significativo grazie all'integrazione di inulina (rispetto alla maltodestrina).

Oltre a questo studio incentrato sull'inulina del carciofo, un esperimento di fermentazione in vitro ha valutato la degradazione dei costituenti fenolici dei gambi di carciofo attraverso il microbiota fecale. Gli acidi caffeoilchinici e i flavonoidi, contenuti anche nelle foglie di carciofo, hanno interagito fortemente con i microbioti presenti nei campioni fecali umani, con conseguente produzione di acido 3-(3-idrossifenil)propionico come metabolita principale, insieme a piccole quantità di acido protocatechico, acido diidrocaffeico, e acido diidrocaffeoilchinico. Generalmente, i glicosidi flavonoidici sono degradati dai microbi grazie a reazioni come la deglicosilazione, la scissione dell'anello-C e la riduzione, con conseguente metaboliti come la floretina calcone, gli acidi diidrossifenilpropionici e gli acidi idrossifenilpropionici. Gli acidi caffeoilchinici sono soggetti a scissione dell'estere, deidrossilazione e reazioni di idrogenazione, portando anche a metaboliti come l'acido 3-(3-idrossifenil)propionico, il che è conforme con i risultati. D'altra parte, le interazioni con questi composti fenolici portano anche ad una modulazione del microbiota intestinale. Pertanto, anche se non ancora studiato in dettaglio, diverse classi di composti presenti nella foglia di carciofo possono interagire con il microbiota intestinale umano. (Thumann *et al.*,2019)

5.5.3 – Aspetti botanici e proprietà di *Taraxacum officinale* Web.

Il tarassaco è un'erbacea alta fino a 50 centimetri, con radice fittonante e foglie incise, dentate e lobate. I fiori sono grandi capolini solitari di colore giallo-oro, sostenuti da peduncoli e i frutti, chiamati soffioni, sono composti da piccoli semi sorretti dal pappo. La composizione fitochimica della radice e delle foglie di tarassaco è molto simile a quella della foglia di

carciofo: le radici del tarassaco contengono quantità variabili di inulina (2-40%, a seconda della stagione), così come flavonoidi e acidi caffeoilchinici, e le parti superiori sono ricche di acidi caffeoilchinici e flavonoidi. (Mancini, 2014)

Presi nel loro insieme, radice di cicoria, foglie di carciofo e radici\foglie di tarassaco, presentano dei costituenti i quali interagiscono intensamente con i microbioti intestinali; principalmente l'inulina la quale ha anche dimostrato di possedere una varietà di effetti benefici sulla salute umana e sulle malattie gastrointestinali, per i suoi effetti prebiotici sui microbioti intestinali.

5.6 – Aspetti botanici e proprietà di *Citrus paradisi* L.

GSE è la sigla con la quale negli Stati Uniti si identifica l'estratto di semi di pompelmo (Grapefruit Seed Extract). È conosciuto per le sue eccellenti proprietà antibatteriche selettive ad ampio spettro, antimicotiche, antivirali, antiparassitarie, e riparatrici delle mucose. Ha un elevato effetto di inibizione della crescita per batteri gram negativi come *Pseudomonas aeruginosa* ed *Escherichia coli* e per batteri gram positivi, come *Staphylococcus spp.* ed *Enterococcus spp.* A causa del suo elevato effetto battericida, si sta considerando l'applicazione di GSE a verdure fresche, imballaggi alimentari, gel ipromellosa (idrossipropilmetilcellulosa). (Komura *et al.*, 2019) (Liu *et al.*, 2017) Messo in comparazione con altre sostanze antimicrobiche nei confronti di alcuni microrganismi patogeni, è da dieci a cento volte più efficace. Rappresenta una valida alternativa di trattamento verso molteplici affezioni batteriche per le quali non sia indispensabile l'assunzione di un antibiotico: ciò non solo per l'efficacia ma anche per la selettività. Un'altra caratteristica importante è la sua innocuità: la sua DL₅₀ (dose che causa morte nel 50% degli animali trattati) è uguale a 5000 mg per kg di peso corporeo. Ciò significa che bisognerebbe arrivare ad ingerire 4.000 volte la dose consigliata per un adulto, ogni giorno per due settimane consecutive, per avere il 50% di rischio di intossicazione. Oltre a ciò, l'estratto di semi di pompelmo non interagisce con i farmaci e non intacca la flora batterica intestinale.

5.7 –Aspetti botanici e proprietà di *Glycyrrhiza glabra* L.

La Liquirizia, *Glycyrrhiza glabra* L., è una leguminosa perenne spontanea nelle zone litoranee dell'Italia centro-meridionale e insulare. La droga, come si vede dalla figura 11, è costituita dalla radice, raccolta in autunno, e contiene: glicirrizina, una saponina triterpenica costituita

da sali di calcio e di ammonio dell'acido glicirrizico, altre saponine (glabranina, glicirretolo ecc.), flavonoidi (liquiritigenina e i suoi glicosidi), cumarine e fitosteroli. La radice di liquirizia è usata principalmente per trattare il bruciore di stomaco e la dispepsia. I principali metaboliti, trovati su metabolizzazione microbica di estratti di liquirizia acquosa in vitro e in vivo, sono liquiritigenina, isoliquiritigenina, glicirretina, acido glicirretinico e i suoi prodotti di ossidazione. (Firenzuoli, 2009)



Figura 11. Taglio tisana di *Glycyrrhiza glabra* L. Tratto da: officinaliserboristeria.it

L'interazione del microbiota intestinale con la radice di liquirizia sembra avere un effetto anche sulla composizione della comunità microbica. L'incubazione di feci umane con polvere di radice di liquirizia ha portato ad un aumento dell'abbondanza di vari gruppi batterici, tra cui specie di *Bacteroides* produttori di propionati, cinque ceppi batterici a riduzione di solfati appartenenti a *Desulfovibrio* spp e specie di *Roseburia*. Sono stati osservati aumenti di *Roseburia* sp. anche in uno studio in vivo in topi integrati con estratto acquoso di radice di liquirizia. L'integrazione di acido glicirrizico aumenta significativamente l'abbondanza di *Desulfovibrio*, come osservato anche nello studio in vitro eseguito da Peterson *et al.* (2018). Presi insieme, la radice di liquirizia e alcuni dei suoi costituenti, hanno mostrato interazioni con i microbioti intestinali che portano da un lato alla metabolizzazione di alcuni costituenti e, dall'altro, alla formazione di metaboliti come l'acido 18- β -glicirretico (o acido glicirretico). Questo metabolita è meglio assorbito nella circolazione sistemica rispetto all'acido glicirrizico, ed è noto per possedere una grande varietà di effetti farmacologici. D'altra parte, una quantità limitata di studi, suggerisce che anche la composizione della comunità microbica intestinale sembra essere influenzata dalla liquirizia e da alcuni dei suoi costituenti. Le saponine sono generalmente note per raggiungere il colon ad alti livelli, poiché molte di esse non possono essere scisse dagli enzimi umani nell'intestino superiore: ne sono state trovate alcune ad

esercitare effetti prebiotici simili verso la composizione della comunità microbica intestinale in modo simile ai polifenoli. (Navarro del Hierro *et al.*, 2018). Tuttavia, gli studi che indagano sulle saponine della liquirizia (e su altre classi di composti come i polisaccaridi), per quanto riguarda questi aspetti, devono ancora essere ampliati e si spera, in un futuro prossimo, che questo possa accadere.

5.8 – Aspetti e proprietà di *Scutellaria baicalensis* Geor.

La scutellaria, *Scutellaria baicalensis* Geor., è una pianta erbacea perenne che si sviluppa principalmente in Asia, in Siberia e nel continente americano, dove i nativi la utilizzavano per le proprietà antinfiammatorie dell'apparato respiratorio e del tratto gastrointestinale. La droga è costituita dalle radici, che contengono flavonoidi come la baicalina, iridoidi come lo scutellarioside, e fitosteroli. La molecola Baicalina (Figura 12) agisce quale agente antivirale e contiene la proliferazione dei virus dell'influenza A, H1N1, N3N2, HBV, con effetto protettivo: scutellaria la si ritrova in molti integratori alimentari utili al sostegno delle difese immunitarie.

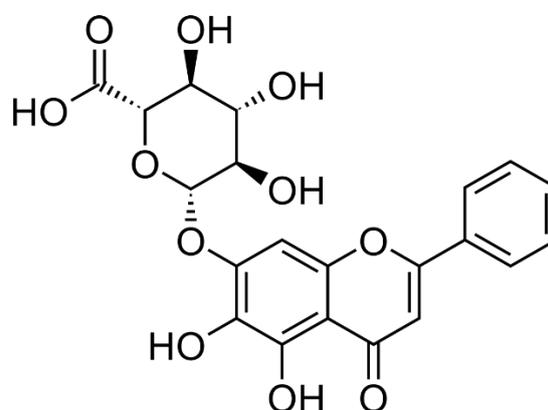


Figura 12. Struttura chimica della Baicalina. Tratto da: wikipedia.org

La sua somministrazione in modelli in vitro di infezione da virus respiratorio sinciziale ha evidenziato una minore infiltrazione tissutale da parte dei macrofagi e dei linfociti T citotossici, con un ridotto grado di infiammazione ed un conseguente minor danno delle mucose respiratorie. Possiede attività antiossidante, neuroprotettiva ed epatoprotettiva dimostrate.

Un recente studio realizzato in Corea realizzato da Shin *et al.*, (2020) ha valutato gli effetti della scutellaria, in associazione con il farmaco antidiabetico metformina, su un gruppo di persone con diabete di tipo 2 valutando nel contempo i cambiamenti avvenuti nella

composizione del microbiota intestinale. Il microbiota intestinale, coinvolto nella patofisiologia di più malattie metaboliche incluso il diabete di tipo 2, potrebbe essere infatti uno dei target terapeutici per questo problema. I partecipanti al trial sono stati randomizzati in due gruppi: un gruppo trattamento e un gruppo di controllo. I soggetti ai quali era già stata prescritta la metformina hanno ricevuto 3,52 g di scutellaria al giorno. La sessione iniziale di trattamento è durata 8 settimane e, dopo un periodo di washout di 4 settimane, i partecipanti allo studio sono passati all'altro trattamento per altre 8 settimane. È stata analizzata l'azione della scutellaria e del placebo sul microbiota intestinale e si è osservato che la tolleranza al glucosio era inferiore nel gruppo scutellaria rispetto a quello placebo. Il trattamento con questa pianta medicinale ha influito sul microbiota intestinale con un aumento in particolare di *Lactobacillus* e *Akkermansia*. In alcuni partecipanti è stato riscontrato un livello elevato di enzimi epatici dopo il trattamento con la scutellaria e la composizione del loro microbiota al basale era diversa dai soggetti i cui enzimi epatici non erano stati interessati. Questi risultati suggeriscono che l'assunzione di scutellaria, associata con metformina, può migliorare la tolleranza al glucosio, lo stato infiammatorio e influire sul microbiota intestinale nel diabete di tipo 2.

5.9 – Aspetti botanici e proprietà di *Linum usitatissimum* L.

Il lino è una pianta annuale appartenente alla famiglia delle Linaceae. Le foglie sono strette, lanceolate, alterne di color grigio-verde. In estate compaiono piccoli fiori a 5 petali di color azzurro cielo, seguiti da capsule contenenti lucidi semi ovali di color giallo-bruno (figura 13). (Mancini, 2014).



Figura 13. Semi di Linum usitatissimum L. Fotografati al microscopio.

Secondo la monografia EMA, i semi di lino sono utilizzati per il trattamento della stitichezza abituale (uso consolidato) e tradizionalmente per alleviare i lievi disturbi gastrointestinali: è un lassativo di massa e va somministrato mettendo circa 5g di droga in 100 ml di acqua, in questo modo i semi si gonfiano e lo si può assumere. I semi sono ricchi di fibre alimentari, mucillagini, proteine, oli grassi e precursori dei lignani.

La metabolizzazione microbica dell'intestino è stata dimostrata per la fibra alimentare, per i lignani e per gli oli grassi: in tre studi in vivo, in cui i topi sono stati alimentati con semi di lino, è stata osservata una maggiore produzione di acido acetico, acido propionico e acido butirrico. In uno studio umano in vivo con soggetti maschi, è stato osservato solo un aumento dei livelli di acido propionico. La diminuzione dei livelli di acido propionico dopo la fase di lavaggio sottolinea che questo effetto è stato causato dal trattamento con semi di lino. (Thumann *et al.*,2019)

Capitolo 6: Il regno dei funghi nel trattamento della disbiosi intestinale

6.1 - Funghi e microbiota: possibile interazione

I funghi sono utilizzati sin dai tempi degli egizi per scopi non solo alimentari ma anche medicinali per promuovere lo stato di salute generale e di longevità. Comprendono una vasta, e ancora in gran parte non sfruttata, fonte di nuove potenti sostanze farmaceutiche. I funghi sono stati utilizzati nella sanità per trattare malattie semplici e comuni, come le malattie della pelle, e malattie pandemiche come l'AIDS.

Questa review di Jayachandran *et al.* (2017) è finalizzata ad accumulare i benefici per la salute, dei funghi commestibili, attraverso i microbioti intestinali. A tal proposito i funghi hanno dimostrato di possedere proprietà/attività antiallergiche, anti-colesterolemiche ed anti-tumorali. Sono ricchi di carboidrati come la chitina, l'emicellulosa, gli α - e β - glucani, i mannani, gli xilani e i galattani, che li rendono la scelta giusta per fungere da prebiotici stimolando la crescita dei microbioti intestinali e conferendo benefici per la salute dell'ospite. Attualmente il numero di funghi identificati rappresenta solo il 10% del totale dei funghi che si suppone esistano. I funghi ricchi di polisaccaridi, in particolare di glucani, rispetto agli altri possono stimolare il sistema immunitario e fornire proprietà benefiche per la medicina. Presentano proteine (fino al 44,93%), vitamine, fibre, minerali, oligoelementi a basso contenuto calorico e mancano di colesterolo. Come discusso in precedenza, i prebiotici sono ingredienti alimentari, come i funghi, che possono stimolare la crescita di buoni microbioti e di cui ne fanno parte specialmente li oligosaccaridi e le fibre.

6.2 – Proprietà di *Ganoderma lucidum*

I costituenti del *Ganoderma lucidum* ne fanno uno dei più importanti prebiotici utilizzati per aumentare la flora batterica; è ricco di terpenoidi, fenoli totali e polisaccaridi (alti ed intermedi): quest'ultimi sono i responsabili dell'azione prebiotica. Il tipo specifico di polisaccaride presente è il β -D-glucano (figura 14) e i principali zuccheri trovati nei polisaccaridi sono il ramnosio, il D-galattosio, il glucosio e il galattosio.

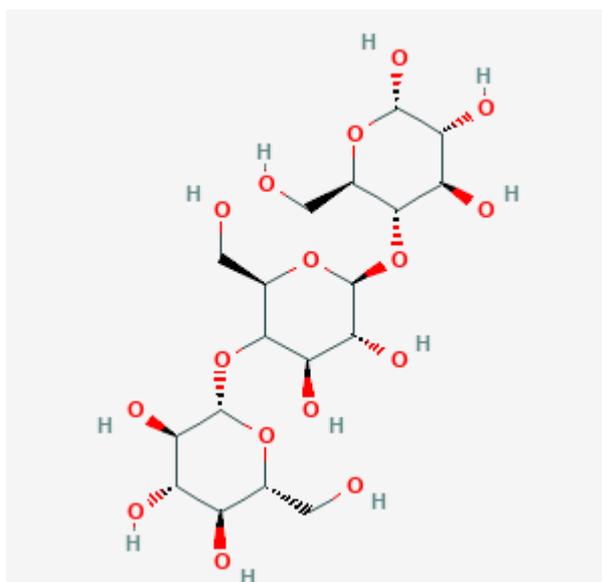


Figura 14. Struttura chimica del β -D-glucano. Tratto: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-DGlucan>

Uno studio di Shuhaimi *et al.*, (2012) ha scoperto che, la fermentazione degli estratti di *Ganoderma lucidum*, ha dimostrato capacità prebiotica nell'aumentare il numero di bifidobatteri. Il potenziale effetto prebiotico dell'estratto di *G. lucidum*, nella fermentazione in batch-cultura, è basato su incrementi nella crescita dei batteri utilizzati (0,4-1,5 log₁₀ CFU/mL) dopo 18 h di fermentazione. L' integrazione del polisaccaride di *G. lucidum* ceppo S3 (GLPS3) ha aumentato l'abbondanza relativa dei batteri benefici come lactobacillus, roseburia e lachnospiraceae.

6.3 – Proprietà di *Inonotus obliquus*

Il fungo Chaga, *Inonotus obliquus*, è un altro candidato promettente nel campo dei funghi medicinali e i suoi principali costituenti sono i derivati dell'acido betulinico e i complessi melano-glucani. Uno studio di Hu *et al.*, (2017) rivela che *Inonotus obliquus* polisaccaride (IOP) ha un contenuto di polisaccaridi del 98,6% e Mannosio, Ramnosio, Glucosio, Galattosio, Xilosio e Arabinosio, in un rapporto di 9.8:13.6:29.1:20.5:21.6:5.4, come monosaccaridi. Rivela anche che il polisaccaride di *Inonotus obliquus* (IOP) induce cambiamenti nel microbiota intestinale e ha aumentato i Bacteroidetes a livello del phylum portando cambiamenti verso un profilo batterico sano. L'esperimento è stato effettuato con tre diverse dosi di polisaccaride: IOP 0,1, 0,2 e 0,4 g/kg/giorno. Il risultato afferma che il phylum predominante era Bacteroidetes: nel gruppo normale di controllo (NC) il 65,05% e il 47,47% nel gruppo di controllo del modello (MC). La composizione dei Bacteroidetes è aumentata rispettivamente di circa il 4,55% nella prima dose, 9,56% nella seconda e 17,48% nella terza.

6.4 – Funghi come prebiotici

I prebiotici sono sostanze che inducono la crescita o l'azione di microrganismi (ad es. batteri e funghi) che contribuiscono al benessere del loro ospite e sono identificati sulla base della composizione delle fibre in essi contenute. Alcuni dei cibi prebiotici comunemente conosciuti sono: radicchio crudo di cicoria (64,6%), topinambur crudo (31,5%), tarassaco crudo (24,3%), aglio (17,5%), e cipolla (8,6%). Oltre a questi, anche i funghi sono considerati una potenziale fonte di prebiotici in quanto, come già visto, contengono diversi polisaccaridi (Tabella 5).

Tabella 5. Lista dei più importanti funghi medicinali e i loro effetti farmacologici. Tratta da Jayachandran et al., (2017)

Medicinal Mushroom	Active Immunomodulators	Health Benefits	Gut Microbiota Regulation
<i>Grifola frondosa</i>	MD-fraction Grifolan	The <i>Agaricus blazei</i> -based mushroom extract, andosan, protects against intestinal tumorigenesis in A/J Min/+ mice [62].	Andosan may also have influenced the composition and activity of microbiota in the A/J Min/+ mice.
<i>Pleurotus tuberregium</i>	Polysaccharides	<i>Pleurotus tuberregium</i> possesses antihyperglycemic properties and attenuated oxidative stress in diabetic rats on a high-fat diet [63].	There are possible roles of gut microbiota in the polysaccharide-induced attenuation of obesity and hyperglycemia.
<i>Ganoderma lucidum</i>	GLP(AI), Ganopoly, Ganoderans	<i>Ganoderma lucidum</i> reduces obesity in mice by modulating the composition of the gut microbiota [64].	GL has decreased Firmicutes-to-Bacteroidetes ratios. Reduced endotoxin-bearing Proteobacteria levels. It also maintains intestinal barrier integrity and reduces metabolic endotoxemia.
<i>Polyporus umbellatus</i>	Polysaccharides	Integrative fungal solutions for protecting bees [65].	Increases the intestinal microbiome to regulate host health.
<i>Phellinus linteus</i>	Polysaccharides	Anti-diabetic potential [66].	<i>Phellinus linteus</i> induces changes in the composition and activity of the gastrointestinal tract microbiota that confer nutritional and health benefits to the host.
<i>Trametes versicolor</i>	Krestin (PSK), PSP	Prevents host from diarrhea, <i>Clostridium difficile</i> infection, and inflammatory bowel disease [32].	Polysaccharopeptide from <i>Trametes versicolor</i> regulates the gut microbiota to maintain the host health.
<i>Hericum erinaceus</i>	Galactoxyloglucan-protein complex	<i>Hericum erinaceus</i> possesses anti-cancer, immuno-modulating, hypolipidemic, antioxidant and neuro-protective activities [67].	<i>Hericum erinaceus</i> renders changes in the composition and activity of the gastrointestinal tract microbiota that confer nutritional and health benefits to the host.
<i>Agaricus bisporus</i>	Polysaccharides	Anti-bacterial property [53].	White button mushrooms increase microbial diversity and accelerate the resolution of <i>Citrobacter rodentium</i> infection in mice.
<i>Fomitopsis officinalis</i>	Polysaccharides	<i>Fomitopsis officinalis</i> acts as an insulin sensitizer in glucose tolerance tests and regulates hyperglycemia in mice with non-insulin-dependent diabetes [68].	Exact action on gut microbiota is yet to be discovered.
<i>Lentinula edodes</i>	Lentinan, KS-2	<i>Lentinula edodes</i> -derived polysaccharide rejuvenates mice in terms of immune responses and gut microbiota [69].	L2 reverses the gut microbiota structure, such as the reduced ratio Firmicutes/Bacteroidetes, the increased Bacteroidia, the decreased Bacilli and Betaproteobacteria, the increased Bacteroidaceae, the decreased Lactobacillaceae, and Alcaligenaceae.
<i>Fomes fomentarius</i>	Polysaccharides	<i>Fomes fomentarius</i> is used to cure various ailments such as dysmenorrhoea, hemorrhoids, bladder disorders, pyretic diseases, treatment of coughs, cancer, and rheumatism [70].	The exact role in regulating gut microbiota is not yet elucidated well.
<i>Schizophyllum commune</i>	Schizophyllan, Sonifilan, SPG	Used as an immune modulator [71].	The exact role in regulating gut microbiota is not yet elucidated well.

In uno studio di Varshney et al., (2013) i ricercatori hanno scoperto che i funghi a bottone bianco (funghi WB) aumentano la diversità microbica e accelerano la risoluzione dell'infezione da *Citrobacter rodentium* nei topi. In particolare, sono stati segnalati per stimolare una risposta infiammatoria locale, producendo catecolamine (e i loro metaboliti), e cambiare la composizione della flora intestinale. I risultati forniscono informazioni sui cambiamenti biologici che si verificano al momento dell'ingestione di funghi a bottone bianco e ciò include la stimolazione diretta del sistema immunitario innato che produce l'infiammazione e colpisce la composizione della flora intestinale, limitando i danni che si

verificano a seguito di una lesione o di un'infezione. Un altro studio interessante (Meneses *et al.*, 2016) fornisce la prova dell'ipocolesterolemia e degli effetti prebiotici del *Ganoderma lucidum* messicano nei topi C57BL/6 (comune ceppo innato del topo da laboratorio). In breve, *Ganoderma lucidum* non solo inverte la condizione di disbiosi, come indicato dai ridotti rapporti *Firmicutes/Bacteroidetes*, ma altera anche la barriera intestinale. I risultati confermano che può essere utilizzato come agente prebiotico per prevenire la disbiosi intestinale e l'obesità.

Recentemente, alcuni ricercatori hanno valutato le proprietà prebiotiche dei funghi commestibili, ne sono stati selezionati alcuni: *Pleurotus ostreatus*, *P. sajor-caju*, e *P. abalonus* i quali rappresentano l'effetto bifidogeno che può stimolare la crescita di *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129, *B. breve* TISTR 2130, *B. animalis* TISTR 2195, e *B. longum* TISTR 2194. Questo studio riconosce che questi funghi dovrebbero essere studiati in futuro per la loro assistenza nel migliorare la salute degli ospiti attraverso le loro proprietà prebiotiche. È evidente quindi che il fungo possa agire come potenziale prebiotico per migliorare il microbiota a favore della salute dell'ospite. (Saman *et al.*, 2016)

Il ruolo esatto dei costituenti attivi di alcuni funghi non è ancora documentato e, in futuro, una ricerca dettagliata su questi, aggiungerebbe più conoscenza all'idea esistente per quanto riguarda il ruolo dei funghi nella regolazione dei microbioti intestinali e l'apporto di benefici per la salute.

Conclusioni

Alla luce dei dati ottenuti si può concludere che:

Il microbiota intestinale influenza i percorsi endocrini e metabolici, l'espansione e la regolazione del sistema immunitario, il cervello nelle sue funzioni cognitive e i cambiamenti epigenetici del genoma; quindi un microbiota ben funzionante è direttamente correlato all'equilibrio dello stesso e di conseguenza la sua struttura e il suo stato metabolico sono associati ad uno stato di salute: quando si verifica uno stato di disbiosi, l'organo microbiota, non funziona correttamente e dovrebbero essere prontamente prescritte terapie appropriate per ripristinare l'eubiosi. La sua struttura subisce notevoli cambiamenti nel corso di una vita e questi sono spesso associati o accompagnati da effetti indesiderati sulla salute umana. A livello tassonomico dei phyla, un microbiota sano negli esseri umani adulti è composto principalmente da *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, che insieme rappresentano circa il 70% del totale; si possono trovare in quantità minori anche *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Cyanobacteria*. Mentre a livello tassonomico delle specie la composizione dei microbioti intestinali cambia da individuo a individuo (come un'impronta digitale). Per quanto riguarda la predominanza di certi batteri si nota una concentrazione maggiore dei generi *Bacteroides* e *Clostridium* negli anziani, mentre negli adulti di *Firmicutes*. Il microbiota è spesso chiamato come "organo dimenticato" in quanto non viene preso in considerazione come possibile causa di patologie, invece si è visto come possa causare svariate condizioni come la diarrea, la stitichezza, problemi alla pelle ecc.

Abitudini alimentari non equilibrate hanno un impatto negativo nella composizione del microbiota e possono agire come un fattore scatenante malattie con effetti sui percorsi metabolici: per esempio una dieta ricca di carne rossa è associata all'insorgenza del cancro coloretale in quanto promuove una crescita eccessiva di batteri che riducono i solfati, i quali sono comuni abitanti del colon. Questi batteri sono in grado di produrre sostanze genotossiche come l'acido solfidrico. Al contrario, una dieta ricca di fibre aumenta la produzione di acidi grassi a corta catena, come il butirrato, che è benefico per le colonie nell'uomo ed ha proprietà antitumorali. Non a caso, per riequilibrare la flora batterica intestinale, la modificazione della dieta è stata inserita al primo posto delle misure da adottare. (Gagliardi *et al.*,2018)

Tra le terapie più adottate per contrastare la disbiosi intestinale si conferma sicuramente la somministrazione di probiotici, prebiotici e simbiotici. Per quanto concerne i probiotici, i più conosciuti e studiati sono i lattobacilli e i bifidobatteri. I lattobacilli contrastano la crescita della flora batterica negativa e liberano molecole adibite all'inibizione che agiscono come la gentamicina (antibiotico aminoglicosidico); i bifidobatteri invece sono predominanti nel microbiota dei neonati allattati al seno, e la loro presenza è correlata ad un buon stato di salute. Al contrario, il microbiota intestinale di neonati alimentati in modo misto (con cibi solidi o semisolidi), o tramite formule, è caratterizzato da una ridotta presenza di bifidobatteri e da un aumento delle specie di Batteroidi ed *Escherichia coli*. Tali differenze sono correlate ad un aumento dell'incidenza di dolori colici e altri disturbi di origine intestinale ed è quindi auspicabile preferire l'alimentazione del neonato tramite seno in modo da avere una maggior concentrazione di bifidobatteri benefici e una minor incidenza di disturbi gastrointestinali.

Attualmente sono in corso molti studi per determinare come prescrivere terapie personalizzate per riequilibrare l'ecosistema microbico intestinale. Il grande interesse in questo campo dimostra l'importanza del mantenimento di un equilibrio e mostra anche che attualmente non vi siano cure universali adatte a tutti. Le strategie terapeutiche in uso hanno mostrato alcuni limiti, mentre nuovi candidati probiotici mostrano dei risultati promettenti; gli studi dovrebbero concentrarsi principalmente sul miglioramento dei multi-probiotici quindi sulla somministrazione di più probiotici assieme. Inoltre, la prescrizione di trattamenti personalizzati che tengono conto dei vari tipi di disbiosi e dell'individualità della struttura del microbiota intestinale, deve considerare con cautela il microbiota di ogni paziente valutando tutte le informazioni provenienti da piattaforme "omiche" integrate (tecnologie di analisi che consentono la produzione di informazioni/dati in numero molto elevato e nello stesso intervallo di tempo). I nuovi candidati probiotici devono essere ulteriormente studiati prima di essere sottoposti alla routine; appaiono tuttavia affascinanti e potenzialmente presentano una grande efficacia.

Per quanto concerne l'interazione tra il microbiota intestinale e le droghe vegetali tradizionalmente usate per il trattamento delle malattie gastrointestinali, secondo le monografie dell'EMA, esistono dati solo per una piccola parte di queste droghe. Ciò significa che questa interazione non è ancora stata completamente studiata: nel caso in cui esistano dati a riguardo è molto difficile trarre conclusioni chiare su potenziali effetti benefici osservati

nei microbioti intestinali, essendo in uso un vasto numero di diversi approcci metodologici e protocolli sperimentali i quali generano risultati spesso difficili da confrontare e riprodurre. Pertanto, sarebbe altamente auspicabile lo sviluppo di protocolli standardizzati al fine di migliorare la comparabilità dei risultati sperimentali. (Thumann *et al.*,2019) La stragrande maggioranza di studi che trattano queste interazioni impiegano approcci di sequenziamento, molto stabili, basati sul gene 16S rRNA per determinare gli effetti sui microbioti. Tuttavia, si deve considerare che i risultati generati riguardano principalmente la tassonomia ma non forniscono informazioni significative a livello funzionale. Poiché si presume che molte funzioni all'interno della comunità microbica intestinale possano essere esercitate da diversi taxa microbici, metodi che forniscono informazioni funzionali (metagenomica o metatranscriptomica) possono fornire un quadro più significativo per quanto riguarda gli effetti modulatori dei principi attivi delle droghe vegetali, a condizione che le banche dati che coprono le funzionalità dei geni microbici diventino più complete in futuro.

Alcuni studi (Ambrosio *et al.*, 2017), il più delle volte provenienti da esperimenti in vitro, hanno dimostrato che le composizioni di olii essenziali, dei costituenti singoli di questi, o di estratti acquosi di droghe ad oli essenziali possiedono effetti antimicrobici su singoli patogeni o su ceppi di batterici benefici; per alcuni oli volatili l'attività antimicrobica è risultata essere più marcata contro i patogeni che contro ceppi commensali o probiotici ed è proprio quello a cui si ambisce. Gli effetti dell'olio di menta piperita sono considerati come un'opzione nella gestione della SIBO (sindrome da contaminazione batterica dell'intestino tenue) la quale è caratterizzata da un aumento della carica batterica nell'intestino tenue. Se questo viene somministrato come capsula a rilascio prolungato riduce i sintomi complessivi della SIBO meglio del placebo. Va detto che esistono dati più significativi su questo argomento nel campo della ricerca sul bestiame, dove gli oli volatili sono considerati potenziali sostituti degli antibiotici promotori della crescita. In questo campo sono stati effettuati numerosi studi, in diversi animali da allevamento, i quali indicano un'influenza dei costituenti volatili dell'olio essenziale sulla composizione della loro comunità microbica intestinale. Per quanto riguarda l'impatto dei microbioti intestinali sul destino metabolico degli oli volatili, non è stato possibile identificare studi specifici che trattassero la loro metabolizzazione microbica intestinale. Tuttavia, la fermentazione in vitro dei monoterpeni Timolo e Carvacrolo ha mostrato che questi due composti sono piuttosto stabili verso la degradazione microbica intestinale

fornendo un'indicazione per la quale i monoterpeni presenti negli oli essenziali possono difficilmente essere metabolizzati dal microbiota intestinale umano. (Mosele *et al.*, 2014)

Le foglie di rosmarino, oltre all'olio essenziale, sono ricche di diterpeni fenolici, acido carnosico e carnosolo, nonché di acido rosmarinico (estere tra l'acido caffeico e il gruppo alcolico in posizione α dell'acido 3,4-diidrossifenillattico). È stato eseguito uno studio in vivo (Romo-Vaquero *et al.*, 2014) su ratti magri e obesi, con un estratto di foglie di rosmarino ricche di acido carnosico abietano diterpene. L'integrazione con questo ha portato a modifiche nella composizione del microbiota intestinale a livello del cieco nel gruppo dei ratti magri, ha aumentato la produzione di SCFAs nei ratti obesi, ma ha diminuito la produzione di SCFAs nei ratti magri. La produzione di acidi grassi a catena ramificata (BCFA) è stata ridotta in entrambi i tipi di animali, con una riduzione più significativa nei soggetti magri. Inoltre Guo *et al.*, (2018) hanno dimostrato come un'integrazione di un estratto di foglie di rosmarino contenente il 60% di acido carnosico attenuasse comportamenti come la depressione, la disbiosi intestinale e le reazioni infiammatorie nell'ippocampo. *Lactobacillus johnsonii*, un ceppo probiotico isolato dal microbiota intestinale umano, è in grado di metabolizzare l'acido rosmarinico; ovviamente perché questo ceppo possiede un'attività simile alla cinnamil-esterasi. Inoltre, l'estratto di salvia e l'acido rosmarinico hanno influenzato la composizione microbica.

Gli effetti del trattamento con curcuma e curcumina sono stati personalizzati indicando, come ci si aspettava, che la composizione microbica dell'intestino di ogni soggetto sia estremamente diversa come un'impronta digitale e la curcumina è stata suggerita come la principale forza trainante delle alterazioni della composizione del microbiota: ciò è in linea con gli effetti marcati della curcumina pura sul microbiota intestinale osservati in vitro e negli animali da esperimento. Gli effetti che la curcuma ha sulla composizione del microbiota intestinale possono essere visti come un effetto 'prebiotico-simile' ma sono necessari altri studi futuri con un campione più ampio per comprendere appieno gli effetti di curcuma e curcumina sul microbiota intestinale e come questi contribuiscano ai benefici per la salute. Saranno necessarie anche ulteriori ricerche per indagare in che misura queste interazioni con i microbioti intestinali contribuiscano agli effetti antinfiammatori, anti-aterogenici (svolge una azione positiva prevenendo o rallentando la formazione delle placche aterosclerotiche all'interno dei vasi arteriosi), anti-ipercolesterolemici, anti-diabetici, anti-aterosclerotici

descritti per questa; così come anche altri studi relativi all'uso tradizionale di rizomi di curcuma contro i disturbi gastrointestinali. (Thumann *et al.*, 2019)

Tannini condensati, idrolizzabili e droghe ricche di questi composti, oltre ad avere un effetto astringente e quindi utili in caso di diarrea, sono anche in possesso di effetti simili ai prebiotici nei microbioti intestinali migliorando la crescita di bifidobatteri e lattobacilli *in vitro*, in animali da esperimento e in studi clinici. Sono in grado di modellare il microbiota intestinale aumentando il rapporto *Firmicutes/Bacteroides* e influenzare positivamente l'abbondanza di alcune specie microbiche che possono conferire effetti benefici per la salute all'ospite umano come *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, e *Roseburia sp.*

Gli antociani inducono un significativo effetto proliferativo sui Bifidobatteri potenzialmente benefici per la salute e un'inibizione del patogeno *Clostridium histolyticum* (agente della gangrena gassosa). Sebbene la base di dati a supporto di questa potenziale attività prebiotica sia ad oggi limitata, quindi andrebbe approfondito lo studio in merito, allo stesso tempo questi studi rivelano il ruolo chiave di WBE (estratto polifenolico di mirtillo selvatico) e delle PACs (proantocianidine) nella modulazione del microbiota intestinale e il ripristino dello strato di muco epiteliale del colon, fornendo in questo modo una nicchia ecologica adatta per batteri simbiotici associati alla mucosa che possono essere cruciali nello scatenare gli effetti dei polifenoli del mirtillo sulla salute. (Rodríguez-Daza *et al.*, 2020)

L'inulina è una fibra solubile, che forma una massa di consistenza gelatinosa in ambiente acquoso, ed è considerata un importante prebiotico quindi una sostanza in grado di modulare crescita e sviluppo dei batteri intestinali. Favorisce la crescita di ceppi appartenenti ai generi *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, batteri considerati utili nello svolgere un ruolo positivo nel colon (Thumann *et al.*, 2019) (Mancini, 2014). Stimola la motilità intestinale, aumenta il volume delle feci, aiuta l'evacuazione in soggetti affetti da stitichezza e riduce il colesterolo. Le radici di cicoria, le radici di tarassaco e le foglie di carciofo che ne sono ricche possono influenzare il microbiota intestinale in modo simile all'inulina purificata. In uno studio con 32 volontari, sono stati indagati gli effetti prebiotici dell'inulina a catena molto lunga ottenuta da *Cynara scolymus*. I Livelli di SCFAs nel microbioma fecale sono stati valutati prima dell'integrazione, dopo tre settimane di supplementazione di inulina del carciofo, e dopo tre settimane di fase inattiva. Si è dimostrato che le quantità di SCFAs non sono state influenzate ma il numero di bifidobatteri e lattobacilli è aumentato in modo significativo, grazie

all'integrazione di inulina, in confronto all'integrazione di maltodestrina. Questo ci fa dedurre e capire che alimenti ricchi in inulina, come il carciofo o il topinambur, sono degli ottimi alleati per il nostro intestino in quanto riescono ad aumentare la concentrazione di batteri benefici e ad equilibrare quindi il nostro ecosistema intestinale. (Costabile *et al.*, 2010)

I semi di pompelmo (GSE) hanno un elevato effetto di inibizione della crescita contro batteri gram negativi come *Pseudomonas aeruginosa* ed *Escherichia coli*, così come contro batteri gram positivi, come *Staphylococcus spp.* ed *Enterococcus spp.* e sono molto utili nel riequilibrio della flora batterica intestinale (Komura *et al.*, 2019) (Liu *et al.*, 2017).

Altra pianta utile si è dimostrata essere la liquirizia la cui polvere è stata integrata a feci umane incubate ed ha portato ad un aumento dell'abbondanza di vari gruppi batterici, tra cui specie di *Bacteroides* produttori di propionati, cinque ceppi batterici a riduzione di solfati appartenenti a *Desulfovibrio spp* e specie di *Roseburia*: quest'ultimo ceppo è risultato aumentato anche in uno studio in vivo in topi integrati con estratto acquoso di radice di liquirizia. (Peterson *et al.*, 2018)

In commercio la *Scutellaria baicalensis Geor.* è molto comune negli integratori alimentari, infatti si è visto come questa sostenga le normali difese dell'organismo agendo anche a livello infiammatorio nel tratto gastrointestinale. Inoltre, analizzando l'azione della scutellaria e del placebo sul microbiota intestinale, si è osservato che la tolleranza al glucosio (intolleranza) era inferiore nel gruppo scutellaria rispetto a quello del placebo. Il trattamento con questa pianta medicinale ha influito sul microbiota intestinale, con un aumento in particolare di *Lactobacillus* e *Akkermansia* che si sono visti essere degli ottimi prebiotici.

Si è notato come esistano diversi funghi commestibili i quali hanno metaboliti medicinali significativi e possono fare meglio dei prebiotici per stimolare il microbiota intestinale. Ci sono diverse fonti di vari prebiotici, come le alghe marine, ma i funghi hanno il vantaggio di essere facilmente reperibili e di essere stati studiati a fondo, rispetto ad altri prebiotici. Contengono chitina, emicellulosa, α - e β - glucani, mannani, xilani, e galattani che li rendono biologicamente preziosi. Possono agire come agenti immunomodulatori per attivare il microbiota intestinale. Il ruolo esatto dei costituenti attivi di alcuni funghi non è ancora documentato appieno e, in futuro, una ricerca dettagliata aggiungerebbe più conoscenza all'idea esistente riguardo il loro ruolo nella regolazione dei microbioti intestinali e nell'impartire benefici per la salute. (Jayachandran *et al.*, 2017)

In linea generale, dalla somministrazione di alcune droghe vegetali o componenti di esse, si sono riscontrati i seguenti effetti: aumento della produzione di SCFAs; aumento di *Firmicutes*, *Lactobacillus sp.*, *Rikenellaceae*, *Akkermansia muciniphila* e *Bacteroidaceae*; diminuzione di *Proteobacteria*, *Prevotellaceae* e *Clostridium histolyticum*; effetto prebiotico-simile; maggiore produzione di acido acetico, acido propionico e acido butirrico e miglioramento della diversità microbica. Si spera quindi che gli studi futuri sui probiotici intestinali possano includere l'analisi della composizione funzionale del microbiota intestinale benefico, l'analisi genomica e i cambiamenti avvenuti a livello genetico, il meccanismo esatto di come il cambiamento della popolazione microbica influisca poi sulle possibili condizioni patologiche, uno studio dettagliato sull'interazione immunitaria dell'ospite con il microbiota e come le diverse diete possano influenzare la comunità microbica. Inoltre, sebbene sia fondamentale arricchire e proseguire la ricerca inerente l'interazione tra droghe vegetali e microbiota intestinale, si è già riscontrato come alcune piante, ed alcuni funghi, risultino interessanti e utili dal punto di vista dei risultati ottenuti.

Bibliografia

1. Ambrosio CMS, de Alencar SM, de Sousa RLM, Moreno AM, Da Gloria EM. Antimicrobial activity of several essential oils on pathogenic and beneficial bacteria. *Industrial Crops and Products* 97: 128–136. (2017)
2. An X, Bao Q, Di S, Zhao Y, Zhao S, Zhang H, Lian F, & Tong X. The interaction between the gut Microbiota and herbal medicines. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 118: 109252. (2019)
3. Bach Knudsen KE & Hesso I. Recovery of inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) in the small intestine of man. *The British journal of nutrition*, 74(1); 101–113. (1995)
4. Bäuml AJ, Sperandio V. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature*, 535: 85–93. (2016).
5. Bel-Rhliid R, Crespy V, Page-Zoerkler N, Nagy K, Raab T, Hansen C.E. Hydrolysis of rosmarinic acid from rosemary extract with esterases and *Lactobacillus johnsonii* in vitro and in a gastrointestinal model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 7700–7705. (2009)
6. Botschuijver S, Welting O, Levin E, Maria-Ferreira D, Koch E, Montijn RC, Seppen J, Hakvoort TBM, Schuren FHJ, de Jonge WJ, van den Wijngaard RM. Reversal of visceral hypersensitivity in rat by Menthacarin®, a proprietary combination of essential oils from peppermint and caraway, coincides with mycobiome modulation. *Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*. 30: 1–14. (2018)
7. Bu S, Jiang G, Jiang G, Liu J, Lin X, Shen J, Xiong Y, Duan X, Wang J, Liao X. Antibacterial activity of ruthenium polypyridyl complexes against *Staphylococcus aureus* and biofilms. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 25:747–757. (2020)
8. Capurso L., *Nutrizione, Microbiota intestinale e Benessere. Attività di probiotici e prebiotici. L'Integratore Nutrizionale*, 18(2): 8-20. (2015)
9. Cash BD, Epstein MS, Shah SM. A Novel Delivery System of Peppermint Oil Is an Effective Therapy for Irritable Bowel Syndrome Symptoms. *Digestive diseases and sciences*, 61(2): 560–571. (2016)
10. Choi CH, Jo SY, Park HJ, Chang SK, Byeon JS, Myung SJ. A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial of *saccharomyces boulardii* in irritable bowel

- syndrome: effect on quality of life. *Journal of clinical gastroenterology*, 45(8): 679–683. (2011)
11. Costabile A, Kolida S, Klinder A, et al. A double-blind, placebo-controlled, cross-over study to establish the bifidogenic effect of a very-long-chain inulin extracted from globe artichoke (*Cynara scolymus*) in healthy human subjects. *The British journal of nutrition*, 104(7): 1007–1017. (2010)
 12. Coudray C, Demigné C, & Rayssiguier Y. Effects of dietary fibers on magnesium absorption in animals and humans. *The Journal of nutrition*, 133(1): 1–43. (2003)
 13. Dermadi D, Valo S, Ollila S, Soliymani R, Sipari N, Pussila M, Sarantaus L, Linden J, Baumann M, Nyström M. Western diet deregulates bile acid homeostasis, cell proliferation, and tumorigenesis in colon. *Cancer Res.* 77: 3352–3363. (2017)
 14. Firenzuoli F. *Fitoterapia, guida all'uso clinico delle piante medicinali*. Quarta edizione, edra, Milano. (2009)
 15. Flamm G, Glinsmann W, Kritchevsky D, Prosky L, & Roberfroid M. Inulin and oligofructose as dietary fiber: a review of the evidence. *Critical reviews in food science and nutrition*, 41(5): 353–362. (2001)
 16. Flores G, Ruiz del Castillo ML, Costabile A, Klee A, Bigetti Guergoletto K, Gibson GR. In vitro fermentation of anthocyanins encapsulated with cyclodextrins: release, metabolism and influence on gut microbiota growth. *Journal of Functional Foods*, 16: 50–57. (2015)
 17. Gagliardi A, Totino V, Cacciotti F, Iebba V, Neroni B, Bonfiglio G, Trancassini M, Passariello C, Pantanella F, & Schippa S. Rebuilding the Gut Microbiota Ecosystem. *International journal of environmental research and public health*, 15(8):1679. (2018)
 18. Guo Y, Xie J, Li X, Yuan Y, Zhang L, Hu W, Luo H, Yu H, Zhang R.. Antidepressant Effects of Rosemary Extracts Associate With Anti-inflammatory Effect and Rebalance of Gut Microbiota. *Frontiers in pharmacology*, 9: 1126. (2018)
 19. Hess MW, de Baaij JH, Gommers LM., Hoenderop JG, & Bindels RJ. Dietary Inulin Fibers Prevent Proton-Pump Inhibitor (PPI)-Induced Hypocalcemia in Mice. *PloS one*, 10(9): e0138881. (2015).

20. Hu Y, Teng C, Yu S, Wang X, Liang J, Bai X, Dong L, Song T, Yu M, Qu J. Inonotus obliquus polysaccharide regulates gut microbiota of chronic pancreatitis in mice. *AMB Express*, 7: 39. (2017)
21. Iebba V, Totino V, Gagliardi A, Santangelo F, Cacciotti F, Trancassini M, Mancini C, Cicerone C, Corazziari E, Pantanella F, & Schippa, S. Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota. *The new microbiologica*, 39(1): 1–12. (2016)
22. Igwe EO, Charlton KE, Probst YC, Kent K, Netzel ME. A systematic literature review of the effect of anthocyanins on gut microbiota populations. *Journal of human nutrition and dietetics : the official journal of the British Dietetic Association*, 32(1): 53–62. (2019)
23. Jayachandran M, Xiao J, & Xu B. A Critical Review on Health Promoting Benefits of Edible Mushrooms through Gut Microbiota. *International journal of molecular sciences*, 18(9): 1934. (2017)
24. Komura M, Suzuki M, Sangsriratanakul N, Ito M, Takahashi S, Alam MS, Ono M, Daio C, Shoham D, & Takehara K. Inhibitory effect of grapefruit seed extract (GSE) on avian pathogens. *The Journal of veterinary medical science*, 81(3): 466–472. (2019)
25. Leis Trabazo R, de Lamas Pérez C, Castro Pérez X, Solla P. Dieta atlántica. *Nutrición y gastronomía en Galicia [Atlantic diet. Nutrition and gastronomy in Galicia]*. *Nutricion hospitalaria*, 36:7-13. (2019)
26. Li J, Wu T, Li N, Wang X, Chen G, Lyu X. Bilberry anthocyanin extract promotes intestinal barrier function and inhibits digestive enzyme activity by regulating the gut microbiota in aging rats. *Food Funct*, 10: 333–343. (2019)
27. Liu W, Zhao S, Wang J, et al. Grape seed proanthocyanidin extract ameliorates inflammation and adiposity by modulating gut microbiota in high-fat diet mice. *Molecular nutrition & food research*, 61(9): 10.1002/mnfr.201601082. (2017)
28. Mancini P. *Nuova enciclopedia delle erbe: riconoscimento e uso medicinale, alimentare, aromatico, cosmetico*. Edizioni del Baldo. (2014)
29. Meneses ME, Carrera MD, Torres N. Hypocholesterolemic properties and prebiotic effects of Mexican *Ganoderma lucidum* in C57BL/6 Mice. *PLoS ONE*, 11:e0159631. (2016)
30. Milala J, Kosmala M, Karlińska E, Juśkiewicz J, Zduńczyk Z, Fotschki B. Ellagitannins from Strawberries with Different Degrees of Polymerization Showed Different Metabolism

- through Gastrointestinal Tract of Rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(49): 10738–10748. (2017)
31. Morelli I, Flamini G, Pistelli L. *Manuale dell'erborista: biosintesi, estrazione e identificazione delle sostanze di origine vegetale. Tecniche nuove.* (2005)
 32. Mosele JI, Martin-Pelaez S, Macia A, Farras M, Valls RM, Catalan U, Motilva MJ. Study of the catabolism of thyme phenols combining in vitro fermentation and human intervention. *Journal of agricultural and food chemistry*. 62: 10954–10961. (2014)
 33. Navarro del Hierro J, Herrera T, Fornari T, Reglero G, Martin D. The gastrointestinal behavior of saponins and its significance for their bioavailability and bioactivities. *Journal of Functional Foods* 40, 484–497. (2018)
 34. O'Toole PW & Flemer B. From Culture to High-Throughput Sequencing and Beyond: A Layperson's Guide to the "Omics" and Diagnostic Potential of the Microbiome. *Gastroenterology clinics of North America*, 46(1): 9–17. (2017)
 35. Päivärinta E, Niku M, Maukonen J, et al. Changes in intestinal immunity, gut microbiota, and expression of energy metabolism-related genes explain adenoma growth in bilberry and cloudberry-fed *Apc^{Min}* mice. *Nutrition research (New York, N.Y.)*, 36(11): 1285–1297. (2016)
 36. Peterson C.T, Sharma V, Uchitel S, Denniston K, Chopra D, Mills PJ, & Peterson SN. Prebiotic Potential of Herbal Medicines Used in Digestive Health and Disease. *Journal of alternative and complementary medicine (New York, N.Y.)*, 24(7): 656–665. (2018)
 37. Peterson, CT, Vaughn AR, Sharma V, Chopra D, Mills PJ, Peterson SN, & Sivamani RK. Effects of Turmeric and Curcumin Dietary Supplementation on Human Gut Microbiota: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Pilot Study. *Journal of evidence-based integrative medicine*, 23: 2515690-18790725. (2018)
 38. Piwowarski JP, Granica S, Stefańska J, Kiss AK. Differences in Metabolism of Ellagitannins by Human Gut Microbiota ex Vivo Cultures. *Journal of natural products*, 79(12): 3022–3030. (2016)
 39. Puangbut D, Jogloy S, Vorasoot N, Srijaranai S, Kesmala T, Holbrook C, & Patanothai A. Influence of planting date and temperature on inulin content in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 6: 1159-1165. (2012).
 40. Rodríguez-Daza MC, Daoust L, Boutkrabt L, Pilon G, Varin T, Dudonné S, Levy É, Marette A, Roy D, & Desjardins Y. Wild blueberry proanthocyanidins shape distinct gut

- microbiota profile and influence glucose homeostasis and intestinal phenotypes in high-fat high-sucrose fed mice. *Scientific reports*, 10(1): 2217. (2020)
41. Romo-Vaquero M, Selma MV, Larrosa M, et al. A rosemary extract rich in carnosic acid selectively modulates caecum microbiota and inhibits β -glucosidase activity, altering fiber and short chain fatty acids fecal excretion in lean and obese female rats. *PLoS One*, 9(4): e94687. (2014)
 42. Round JL and Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature Reviews Immunology* ,9: 313–323. (2009)
 43. Saman P, Chaionkarn A, Moonmangmee S, Sukcharoen J, Kuancha C, Fungsin B. Evaluation of prebiotic property in edible mushrooms. *Biological and Chemical Research*, 3: 75–85. (2016)
 44. Shin NR, Gu N, Choi HS, & Kim H. Combined effects of *Scutellaria baicalensis* with metformin on glucose tolerance of patients with type 2 diabetes via gut microbiota modulation. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 318(1): E52–E61. (2020)
 45. Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease. *Current Opinion in gastroenterology*. 31: 69-75. (2015)
 46. Shuhaimi YS, Arbakariya M, Fatimah A, Khalilah AB, Anas AK, Yazid AM. Effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on the growth of *Bifidobacterium* spp. as assessed using Real-time PCR. *Internaciol Food Research Journal*, 19: 1199–1205. (2012)
 47. Thumann TA, Pferschy-Wenzig EM, Moissl-Eichinger C, Bauer R. The role of gut microbiota for the activity of medicinal plants traditionally used in the European Union for gastrointestinal disorders. *J Ethnopharmacol*. 245:112153. (2019)
 48. Varshney J, Ooi JH, Jayarao BM. White button mushrooms increase microbial diversity and accelerate the resolution of *Citrobacter rodentium* infection in mice. *The journal of nutrition*, 143: 526–532. (2013)
 49. Vendrame S, Guglielmetti S, Riso P, Arioli S, Klimis-Zacas D, Porrini M. Six-week consumption of a wild blueberry powder drink increases bifidobacteria in the human gut. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(24): 12815–12820. (2011)
 50. Wang P, Wang R, Zhu Y, Sang S. Interindividual Variability in Metabolism of [6]-Shogaol by Gut Microbiota. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(44): 9618–9625. (2017)

51. Wang X, Cao Z, Zhang M, Meng L, Ming Z & Liu J. Bioinspired oral delivery of gut microbiota by self-coating with biofilms. *ScienceAdvances*. 6: 1952. (2020)
52. Yang L, He QS, Corscadden SK, Udenigwe CC. The prospects of Jerusalem artichoke in functional food ingredients and bioenergy production. *Biotechnology Reports*, 5:77-88. (2015)
53. Zinöcker MK & Lindseth IA. The Western Diet-Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. *Nutrients*, 10(3): 365. (2018)

Sitografia

1. <https://bioinst.com/analisi-del-microbioma-intestinale-e-vaginale/>
2. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/download-medicine-data>.
3. <https://gentechecoopera.cfltreviglio.it/la-nuova-piramide-della-dieta-mediterranea/>
4. <https://www.mauriziotommasini.it/topinambur-inulina-proprieta-nutritive/>.
5. <https://www.microbiologiaitalia.it/batteriologia/i-lattobacilli-agenti-terapeutici-per-il-trattamento-di-varie-patologie/>.
6. <https://www.midlandbio.it/cynara-scolymus--.html>
7. <https://www.officinaliserboristeria.it/>
8. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-D-Glucan>