



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Scienze Biologiche

CONCETTO DI PREBIOTICO E SALUTE

PREBIOTIC CONCEPT AND HEALTH

Tesi di Laurea di:
di:

Vagni Ludovica

Ludovica Vagni

Docente Referente
Chiar.mo Prof.

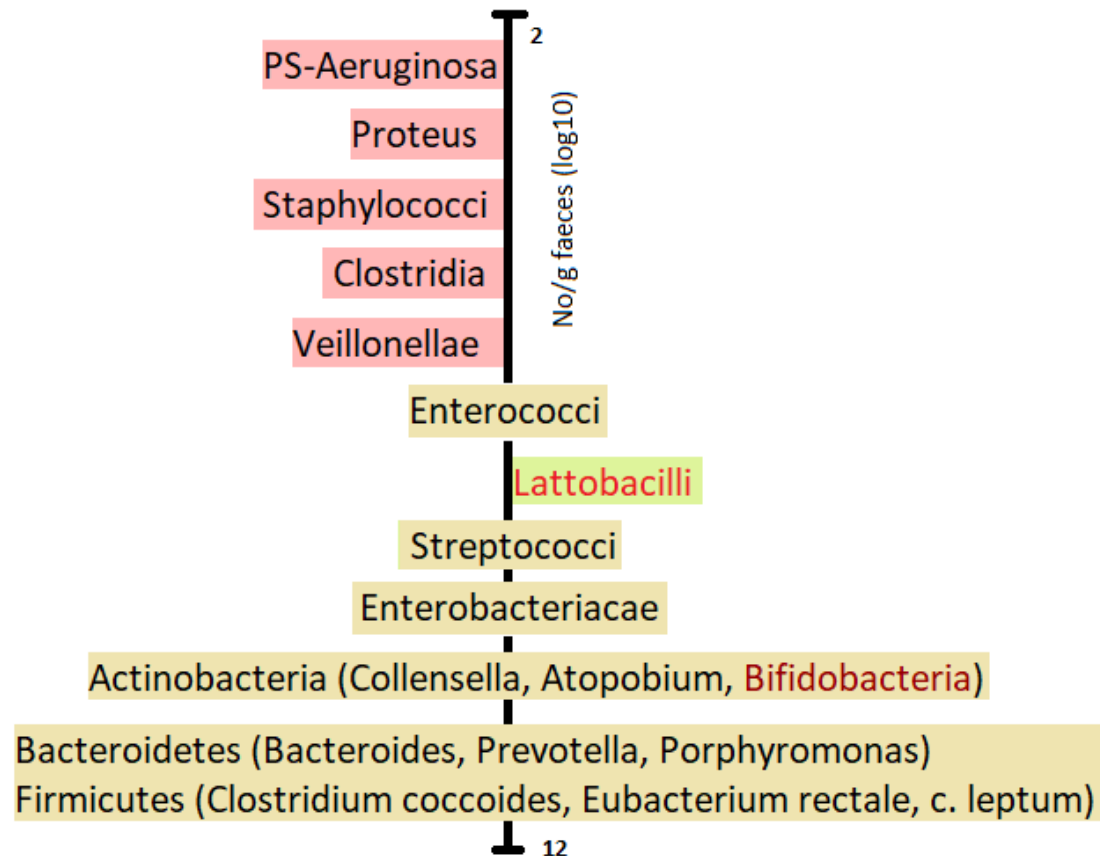
Bacchetti Tiziana

Tiziana Bacchetti

Sessione estiva 19-23 Luglio 2021

Anno Accademico 2020/2021

Il *concetto di prebiotico* viene definito come « stimolazione selettiva della crescita e/o dell'attività di una o un numero limitato di specie appartenenti al microbiota intestinale che conferisce benefici per la salute dell'ospite».



Per permettere questa stimolazione selettiva un prebiotico deve essere:

- resistente alla digestione e all'assorbimento gastrointestinale;
- fermentato dalla microflora intestinale.

Schematic representation of an adult gut microbiota. Major phyla and genera are located on a logarithmic scale as no. of CFU/g of faeces. Genera on the left site are likely to be potentially harmful whereas those on the right site are potentially beneficial to health. Those that sit both on the left site and the right site either contain species that are potentially harmful and species that are potentially beneficial to health or contain genera/species that still need to be classified. Indeed many of these have only recently been identified in the gut microbiota and their activity(ies) is/are still largely unknown.

Come prebiotici vengono utilizzati **carboidrati non digeribili** che una volta fermentati in *acidi grassi a catena corta* (SCFA) hanno effetti benefici:

- Acidificano il pH luminale;
- Influenzano la motilità intestinale;
- Vengono assorbiti dalla mucosa del colon.

PREBIOTICI	ALIMENTI
inulina	latte fermentato a basso contenuto di grassi, yogurt, dolci a base di latte, formaggi, gelati, prodotti di forno
frutto-oligosaccaridi	Yogurt, pane, prodotti di forno
galatto-oligosaccaridi	Yogurt, succhi di frutta

I benefici degli effetti prebiotici non sono unicamente legati alla salute dell'intestino, ma dell'intero organismo. La ricerca nutrizionale spazia quindi in varie aree.

Nome generico, abbreviazioni e caratteristiche strutturali.	Nome comune e grado di polimerizzazione medio (DP _{av}).
FRUTTANI DI TIPO INULINICO (ITF) Catene lineari $\beta(2 \rightarrow 1)$ fruttosil-fruttosio di cui: <ul style="list-style-type: none"> ○ GpyFn, inuline con un glucosio terminale; ○ FpyFn, inuline senza glucosio. polimeri di piccoli a grandi dimensioni (ITF-DPav12) DP 2-60	Inulina
Oligomeri piccoli (ITF-DPav3-4) DP 2-8	Inulina proveniente in particolare dalla cicoria DP _{av12}
Polimeri di grandi dimensioni (ITF-DPav25) DP 10-60	Frutto-oligosaccaridi (FOS) sintetizzati enzimaticamente dal saccarosio DP _{av3-6} Oligofruttosio derivati dalla parziale idrolisi enzimatica dell'inulina DP _{av4}
Miscela (ITF-MIX) oligomeri e polimeri di grandi dimensioni (DP 2-8) + (DP 10-60)	Inulina ad alto peso molecolare (IcFOS) formata tramite purificazione fisica. DP _{av25}
GALATTANI (GOS) Miscela di catene lineari $\beta(1 \rightarrow 6)$; $\beta(1 \rightarrow 3)$; $\beta(1 \rightarrow 4)$ galattosil-galattosio: <ul style="list-style-type: none"> ○ Gal_n-Gal (galattosio-galattosio) ○ Gal_n-Glc (galattosio-glucosio) DP 2-8	Galatto-oligosaccaridi, trans-galatto-oligosaccaridi formati tramite transgalattosilazione enzimatica del lattosio.
MISCELA DI GALATTANI E FRUTTANI DI TIPO INULINICO (GOS-FOS)	Galatto-oligosaccaridi e inulina ad alto peso molecolare (GOS-FOS oppure scGOS-Ic-FOS)

DP, grado di polimerizzazione; ITF, fruttani tipo inulina; IcFOS, frutto-oligosaccaridi a catena lunga; GOS, galatto-oligosaccaridi; Gal, galattosio; Glc, glucosio; scGOS, galatto-oligosaccaridi a catena corta.

Le abbreviazioni menzionate in questa tabella saranno utilizzate in tutta la documentazione per identificare i diversi composti utilizzati negli studi.

SISTEMA IMMUNITARIO

Table 9. The probiotic effect on immune markers

Subject	Trial design	Groups	N	Duration	Key findings of the probiotic intervention on immune parameters and effect on microbiota	Reference
Healthy elderly (>70 years)	R, PC parallel	(a) Daily vitamin & protein supplement with 6 g oligofructose/inulin (b) Daily vitamin & protein supplement	(a) 23 (b) 20	28 weeks	No effect on secretory IgA, No effect on serum titers after vaccination (influenza A and B and pneumococcus) No effect on secretion of IL-4, IFN γ , and lymphocyte proliferation in cultured PBMC stimulated with phytohemagglutinin and influenza antigen	Bunout <i>et al.</i> ⁽¹⁰²⁾
Newborn non-breastfed infants	R, DB, PC parallel	(a) Standard infant formula (b) Prebiotic formula containing mixture of 0.6 g GOS/FOS/100 ml formula (c) Probiotic formula containing 6.0 \times 10 ⁹ cfu <i>B. animalis</i> /100 ml formula	(a) 19 (b) 19 (c) 19	32 weeks	Trend towards higher fecal sIgA (significant at week 16) Trend towards higher percentage of fecal bifidobacteria Significantly lower fecal pH ⁽⁴⁰²⁾	Bakker-Zierikzee <i>et al.</i> ⁽¹⁰⁶⁾
Peruvian breast-fed infants (6–12 months)	1) R, DB, PC parallel 2) Idem	(a) Cereal supplemented with oligofructose with of average 0.67 g OF/d (b) Control cereal (a) Cereal supplemented 1 mg Zn/d and with oligofructose (average 0.67 g OF/d) (b) Cereal supplemented 1 mg Zn/d	(a) 141 (b) 141 (a) 174 (b) 175	6 months 6 months	No effect on antibody titres after <i>Haemophilus influenza</i> B vaccination No effect on antibody titres after <i>H. influenza</i> B vaccination <i>Effect on microbiota not addressed</i>	Duggan <i>et al.</i> ⁽¹⁰⁴⁾
Nursing home elderly (77–97 years)	Uncontrolled	8 g oligofructose/d	19	3 weeks	Compared to baseline: Increase in % CD4 and CD8 lymphocytes Decrease in phagocytic activity (mean fluorescence) in granulocytes and monocytes Reduced IL-6 mRNA expression in PBMC Increase in fecal bifidobacteria and <i>Bacteroides</i> No effect on fecal Enterobacteriae, Enterococci and <i>Lactobacilli</i>	Guigoz <i>et al.</i> ⁽¹⁰⁸⁾
Newborn healthy infants	R, DB, PC parallel	(a) Infant milk formula with 6 g/l Short-chain GOS and long-chain FOS ratio 9:1 (b) Infant formula without prebiotics	(a) 21 (b) 25	26 weeks	Increase in fecal sIgA in those exclusively formula fed Increase in % of fecal bifidobacteria and decrease in % of fecal <i>Clostridia</i>	Scholten <i>et al.</i> ⁽¹⁰⁷⁾
Elderly (64–79 years)	DPRPC, CO	(a) galacto-oligosaccharide 5.5 g/d (b) maltodextrin	44	10 weeks with 4 weeks washout	Increase in <i>ex vivo</i> NK cell activity; Increase in <i>ex vivo</i> phagocytosis; Increase in <i>ex vivo</i> IL-10 production by PBMC; Decrease in <i>ex vivo</i> IL-6, TNF α and IL-1 β production by PBMC; Positive correlation between numbers of <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Lactobacillus-Enterococcus spp.</i> , and the <i>C. coccoides-E. rectale</i> group with % and total number of phagocytosing cells; Negative correlation between numbers of <i>Bacteroides spp.</i> and <i>E. coli</i> with % and total number of phagocytosing cells	Vulevic <i>et al.</i> ⁽¹¹⁰⁾
Pregnant women	R, DB, PC	(a) GOS/lcFOS (9 g/d) (b) Maltodextrin	48	From week 25 of gestation until delivery	No change of fetal (cord-blood) immune parameters (lymphocyte subsets, cytokine secretion); Increased proportions of bifidobacteria in maternal fecal samples; No change in the proportion of lactobacilli; No change in bifidobacteria and lactobacilli percentages in infants	Shadid <i>et al.</i> ⁽¹⁰⁹⁾
Newborn infants at risk for allergy	R, DC, PC	(a) Hypoallergenic whey formula with 8 g/l GOS/FOS in a 9:1 ratio (b) Hypoallergenic whey formula with 8 g/l maltodextrine (placebo)	(a) 41 (b) 43	6 months	Significant reduction in plasma levels of total IgE, IgG1, IgG2 and IgG3; No effect on IgG4; Cows milk protein-specific IgG1 was significantly decreased. No effect on response to DTP vaccine; Significant increase in the number of fecal bifidobacteria; No effect on fecal lactobacilli counts ⁽¹¹³⁾	Van Hoffen <i>et al.</i> ⁽¹⁰⁵⁾

R, PC, randomised, placebo-control; IFN γ , interferon γ PBMC, peripheral blood mononuclear cell; R, DB, PC, randomised, double-blind, placebo-control; GOS, galacto-oligosaccharides; FOS, fructo-oligosaccharides; NK, natural killer; CD, Crohn's disease; CO, crossover; OF, oligofructose; DPRPC, double-parallel, randomised, placebo-control; DTP, diphtheria, tetanus, polio. Human studies are detailed that allow interpretation of the effect of prebiotics alone, not of the combination of prebiotics with other ingredients. Studies describe the effect on immune markers; studies that focus on clinical endpoints are summarized elsewhere in this paper (pediatrics, inflammatory bowel disease).

Il sistema immunitario e il microbiota intestinale coesistono interattivamente grazie al tessuto linfoide intestinale.

I prodotti dei microrganismi come gli SCFA possono interagire con le cellule immunitarie e gli enterociti modificandone l'attività.

ETÀ PEDIATRICA

Un numero limitato di studi sull'uso di carboidrati non digeribili GOS/FOS negli alimenti per lattanti e negli alimenti di proseguimento hanno mostrato degli effetti prebiotici.

Nello specifico esperimenti su patologie pediatriche hanno riportato risultati positivi solo per quanto riguarda:

➤ Infezioni delle vie respiratorie

Neonati alimentati con latte indolizzato integrato con 0,8 g di GOS/FOS hanno presentato minor numero di episodi di infezione del tratto respiratorio, episodi febbrili e un minor numero di prescrizioni antibiotiche.

➤ Eczema atopico

L'utilizzo di una miscela GOS/FOS 8 g/l in neonati con rischio di allergia ha mostrato una riduzione della frequenza di eczema atopico, una maggiore conta di bifodobatteri fecali.

Il follow-up a due anni ha mostrato una diminuzione dell'incidenza di dermatite atopica, dispnea e orticaria allergica.

DISTURBI GASTROINTESTINALI

- Sindrome dell'intestino irritabile

I pazienti con IBS presentano anomalie nella composizione del microbiota intestinale come la diminuzione dei bifidobatteri e una crescita eccessiva di batteri nell'intestino tenue.

I trattamenti che hanno mostrato risultati positivi hanno testato GOS e FOS fino a 7g.

Gli ingredienti prebiotici possono svolgere un ruolo nel controllo sintomatico dell'IBS:

- Stimolazione crescita bifidobatteri
- Modulazione transito intestinale
- Attenuamento risposte infiammatorie
- Prevenzione di infezioni gastrointestinali e diarrea
- Miglioramento benessere addominale (gonfiore e flatulenza)
- Diminuzione attività putrefattiva all'interno del lume intestinale

DISTURBI GASTROINTESTINALI

Table 11. Clinical trials on the prebiotic effect in inflammatory bowel disease

Subjects	Trial design*	Groups	N*	Duration	Key findings	Reference
UC (active)	DB-RCT	(a) Oligofructose/inulin (12 g/d) <i>B. longum</i> (4×10^{11} cells/d) (b) Maltodextrose placebo (12 g/d)	(a) 9 (b) 9	1 month	Compared with placebo, the synbiotic: Reduced sigmoidoscopy score Compared to baseline, the synbiotic: Increased mucosal bifidobacteria Reduced human beta defensin mRNA Reduced TNF- α , IL-1 α Reduced mucosal inflammation	Furrie <i>et al.</i> ⁽¹⁵⁸⁾
UC (active)	DB-RCT	(a) Oligofructose/inulin (12 g/d) (b) Maltodextrose placebo (12 g/d) Both groups started Mesalazine 3g/d	(a) 10 (b) 9	2 weeks	Compared with placebo, the prebiotic: Did not result in greater reduction in disease activity Reduced faecal calprotectin Compared to baseline, the prebiotic: Reduced disease activity Reduced dyspepsia	Casellas <i>et al.</i> ⁽¹⁵⁹⁾
CD, paediatric (active)	Open label	(a) Oligofructose/inulin (mean 8-4 g/d) Enteral nutrition (semi-elemental)	(a) 10	6 weeks	Compared with baseline, the prebiotic enteral formula: Reduced disease activity Reduced inflammation (ESR, leucocytes scan) Increased quality of life	Hussey <i>et al.</i> ⁽²¹⁰⁾
CD (active)	Open label	(a) Oligofructose/inulin (15 g/d)	(a) 10	3 weeks	Compared with baseline, the prebiotic: Reduced disease activity Increased faecal bifidobacteria Did not affect mucosal bifidobacteria Increased dendritic cell IL-10 Increased dendritic cell TLR-2 and TLR-4 expression	Lindsay <i>et al.</i> ⁽¹¹¹⁾
CD (remission)	DB-RCT	(a) Synbiotic 2000 (inulin, resistant starch, pectin, β -glucans, 2.5 g each, <i>P. pentoseceus</i> , <i>L. raffinolactis</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. plantarum</i>) (b) Placebo	(a) 20 (b) 10	24 months	Compared with placebo, the synbiotic: Did not influence relapse rates	Chermesh <i>et al.</i> ⁽²¹²⁾
CD (active)	DB-RCT	(a) Oligofructose/inulin (15 g/d) (b) Maltodextrose placebo (15 g/d)	(a) 54 (b) 49	4 weeks	Compared with placebo, the prebiotic: Did not lower disease activity Did not result in greater reduction in disease activity Did not result in greater numbers in remission	Benjamin <i>et al.</i> ⁽²¹¹⁾

FOS, fructo-oligosaccharides; DB-RCT, double-blind randomised controlled trial; CO, crossover; UC, ulcerative colitis; CD, Crohn's disease; ESR, erythrocyte sedimentation rate; TLR-2, toll-like receptor 2.

* Numbers recruited to each group.

• Malattie infiammatorie intestinali

I due principali tipi di IBD sono:

- *Colite ulcerosa* (UC) che provoca una infiammazione continua della mucosa intestinale limitatamente al colon-retto;
- *Morbo di Crohn* (CD) che causa un'infiammazione transmurale discontinua di tutto il tratto gastrointestinale sebbene colpisca di frequentemente l'ileo terminale.

ASSORBIMENTO MINERALE

Gli effetti prebiotici possono migliorare la ritenzione minerale, in particolare quella del calcio.

La produzione di SCFA e altri acidi

- provoca modifiche di speciazione e solubilità del Ca migliorandone la diffusione passiva.
- contribuisce all'assorbimento tramite scambio cationico
- modula dell'espressione di calbindina D9K.

Gli esperimenti condotti hanno mostrato risultati positivi per adolescenti e donne in menopausa da almeno 5 anni. In particolare è stata dimostrata:

- dose minima di 8 g/giorno
- maggiori effetti con l'uso di ITF-MIX che permette una maggiore distribuzione di fermentazione lungo il colon (effetto sinergico: componenti a catena corta attivi nella parte prossimale del colon; componenti a catena lunga attivi nella parte distale).

OBESITÀ

I carboidrati a effetto prebiotico regolano:

- L'assunzione di cibo e l'aumento di peso
- Disturbi metabolici associati a obesità (es. diabete, steatosi epatica, ipertensione)

In particolare la somministrazione 16 g/giorno di ITF-DPav3-4 ha favorito la sazietà dopo colazione e cena e cambiamenti nelle sensazioni di appetito associate all'aumento di GLP-1 e PYY dopo un periodo di adattamento.

L'utilizzo di ITF ha mostrato una riduzione della risposta glicemica postprandiale e una riduzione della sintesi di trigliceridi.

L'obesità è anche caratterizzata da cambiamenti del microbiota ed è stato dimostrato che un maggior numero di bifidobatteri e minor numero di stafilococco aureo nell'infanzia può prevenire lo sviluppo di sovrappeso e obesità.

RIASSUNTO

I prebiotici stimolano selettivamente la crescita o l'attività di batteri del microbiota intestinale, come per esempio bifidobatteri e lattobacilli, che conferiscono benefici all'ospite. I principali prebiotici con effetto accertato utilizzati negli studi sono carboidrati non digeribili tra cui i fruttani di tipo inulinico e i galattani.

L'effetto prebiotico è un fatto scientifico noto e grazie alle nuove metodologie sappiamo che i prebiotici hanno effetto su varie aree di studio non solo gastro-intestinali ma anche sistemiche.

Influenzano ad esempio le attività del sistema immunitario e modulano alcuni biomarcatori immunologici oppure la composizione del microbiota infantile.

Possono essere utilizzati per il trattamento di patologie tipiche dell'età pediatrica come alcune infezioni delle vie respiratorie e l'eczema atopico.

Possono migliorare il benessere dei pazienti affetti da IBD e IBS e l'assorbimento di Ca, l'accrescimento osseo e la BMD in adolescenza e post menopausa.

Hanno inoltre effetto sull'omeostasi energetica, la regolazione della sazietà e l'aumento del peso corporeo.

Questi risultati pongono l'attenzione non solo sull'importanza della composizione qualitativa e della modulazione del microbiota intestinale, ma anche sul ruolo chiave che lo stesso svolge nella modulazione della fisiologia ben oltre il tratto gastrointestinale.