

Prof. Luigi Coppola

Docente di “Nutrizione Clinica e Dietetica Applicata” presso l’Università degli Studi del Sannio.

Dirigente Medico con Incarico Professionale di Alta Specializzazione di Nutrizione e Dietetica - Medicine Complementari presso l’ Azienda Ospedaliera Nazionale “San Pio” di Benevento.

Specialista in Oncologia.

Master Internazionale in Nutrizione e Dietetica Applicata.

Perfezionato in Scienze dell’Alimentazione, Dietologia Clinica e Nutrizione Biologica.

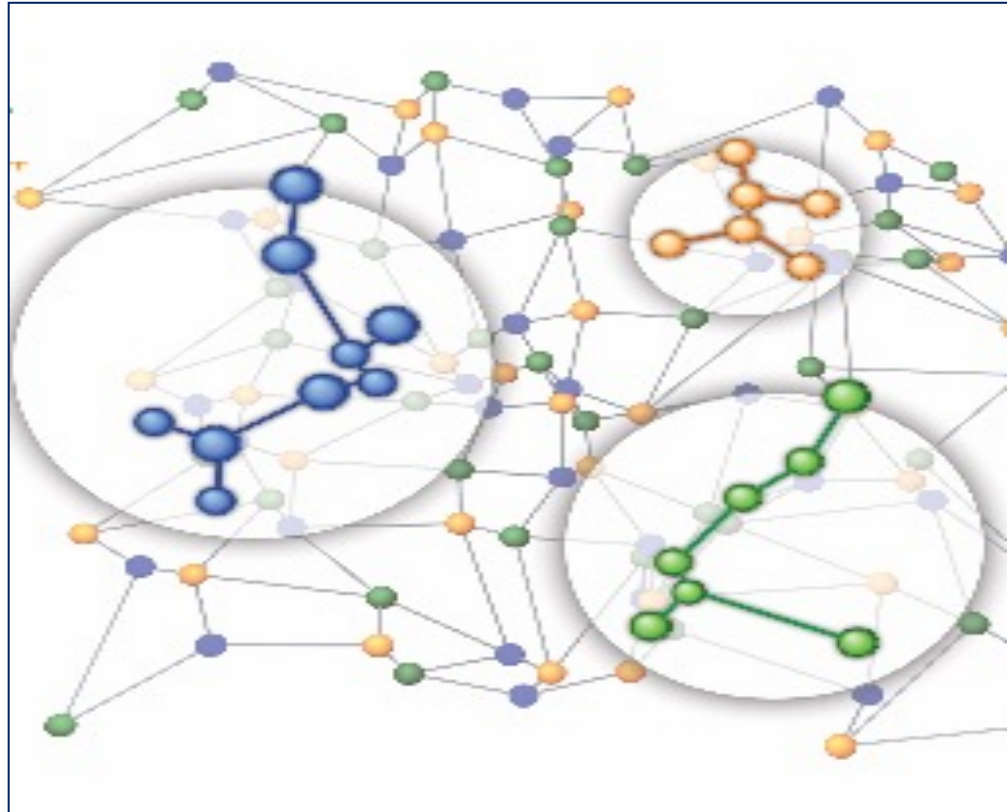
Esperto di Omeopatia, Omotossicologia, Fitoterapia, Medicina Tradizionale Cinese.

Componente Tavolo Sicurezza Nutrizionale e Rete Oncologica della Campania.

Medicina dei Sistemi e Probiotici di Bio- Regolazione.



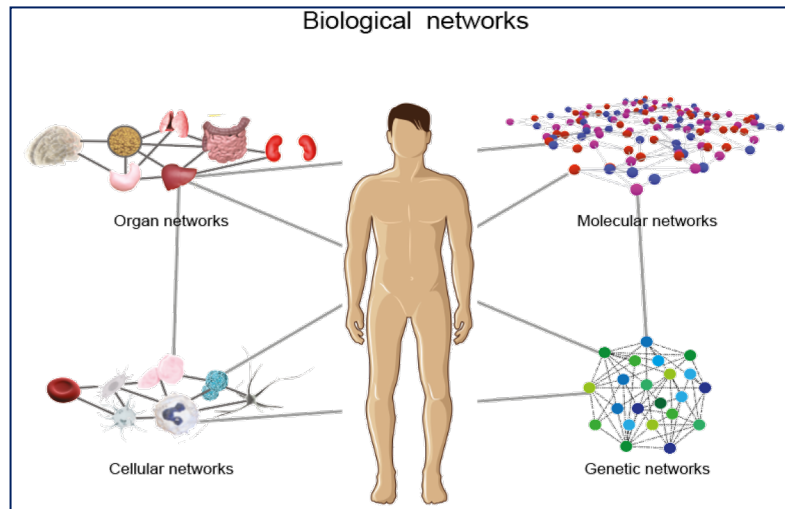
«La Nuova Medicina...Medicina di Bioregolazione dei Sistemi».



**Bioregulatory
Systems
Medicine.**



Il corpo umano come *Network di Networks*.

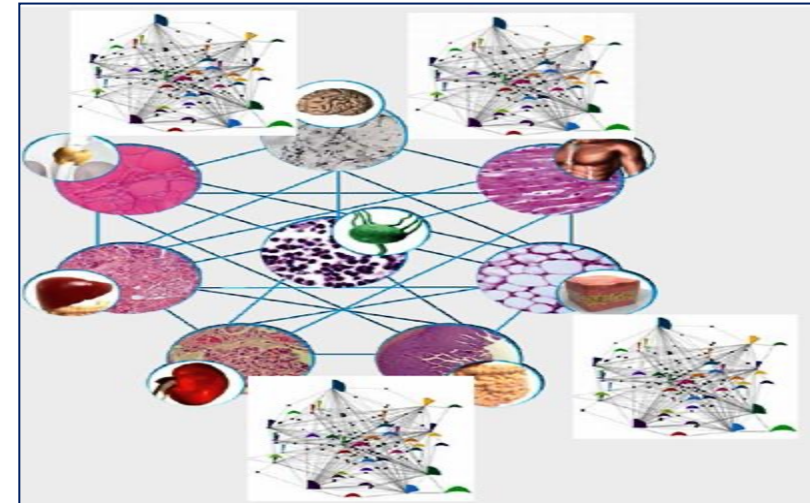


Networks «strutturali»

1. **Genoma**
2. **Molecole**
3. **Cellule**
4. **Organi**



N E T W O R K S



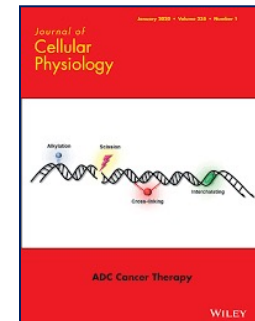
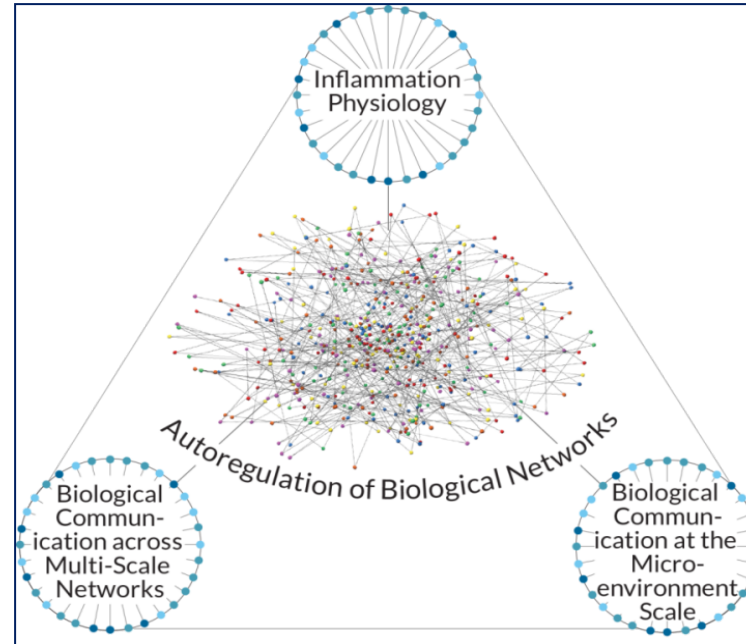
Networks «funzionali»

1. **Infiammatorio**
2. **Neuroendocrino**
3. **Energetico-Cellulare**
4. **Metabolico**
5. **Microbiota-Mucosa**



LA BIOREGOLAZIONE

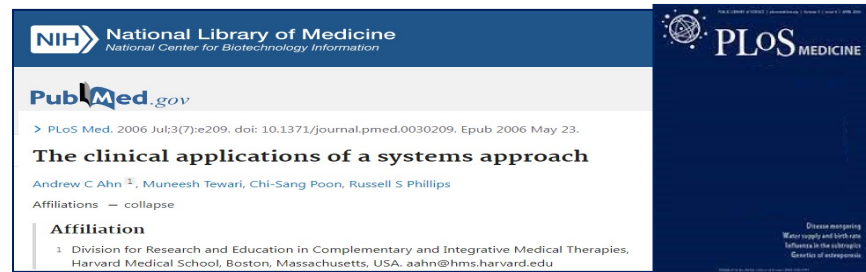
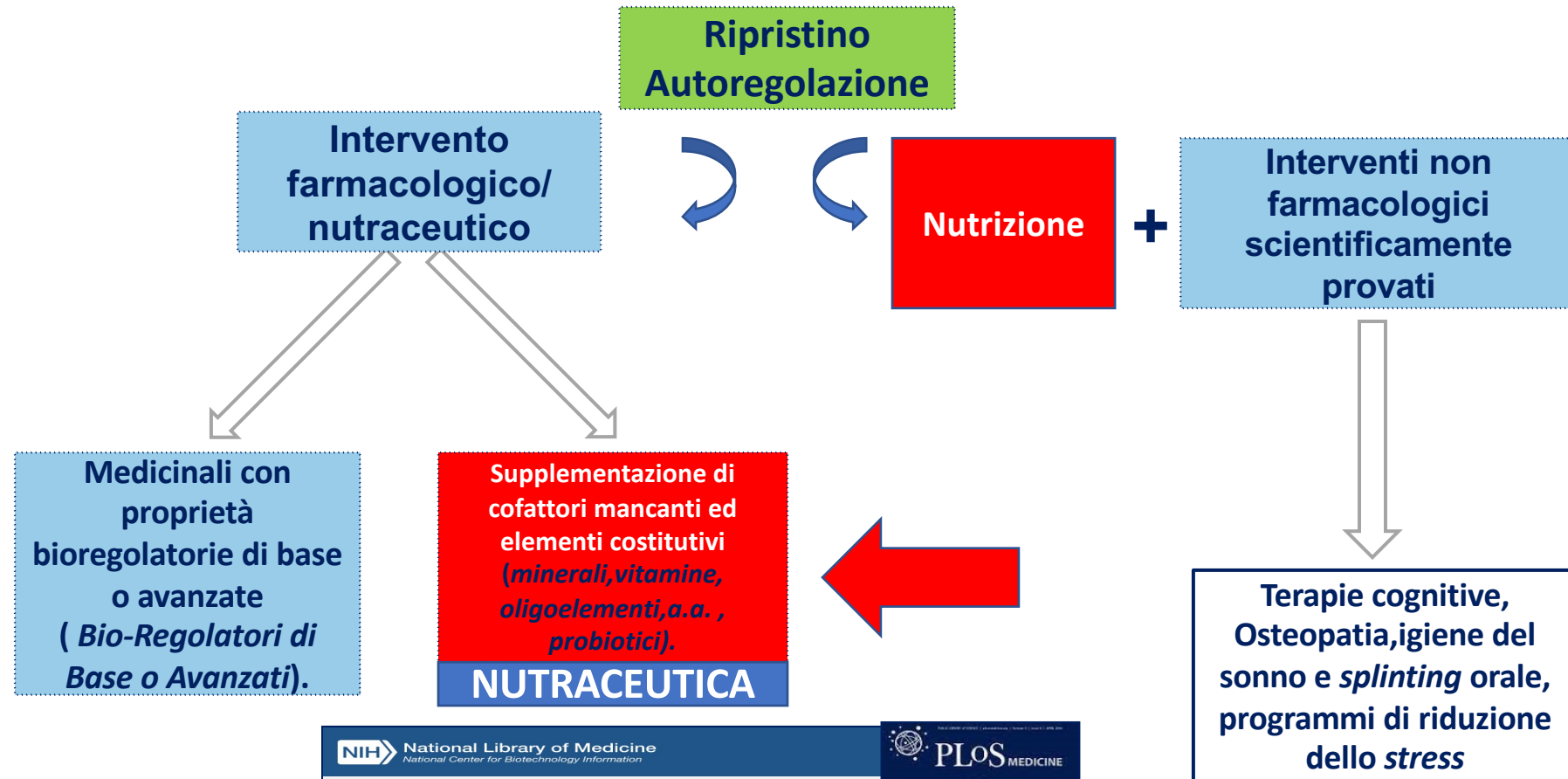
Quando il processo di **Autoregolazione** dei **Networks** diviene **insufficiente** o si **inattiva...**



La **bioregolazione** è un **processo biologico attivo** indotto dall'intervento terapeutico, *farmacologico o non farmacologico*, in grado di **ottimizzare o ripristinare i networks biologici di autoregolazione**.



Come possiamo ripristinare l'autoregolazione?



Cos'è il microbiota intestinale?

Il **microbiota intestinale** è una complessa **comunità microbica** dove i microrganismi e le cellule stabiliscono **intimi rapporti di reciprocità**.



CARATTERISTICHE DEL MICROBIOTA INTESTINALE

- **Complessità** → ~ 200 generi e ~ 4000 specie.
- **Variabilità** → inter ed intra individuale.
- **Unicità** → ogni individuo ha un microbiota differente.
- Presenti circa **38 trilioni di cellule microbiche** a fronte di **30 trilioni di cellule somatiche**.
- **Genoma batterico 100 volte più ampio di quello umano**.
- **Dimensione cellulare 10-50 più piccole delle cellule somatiche**.

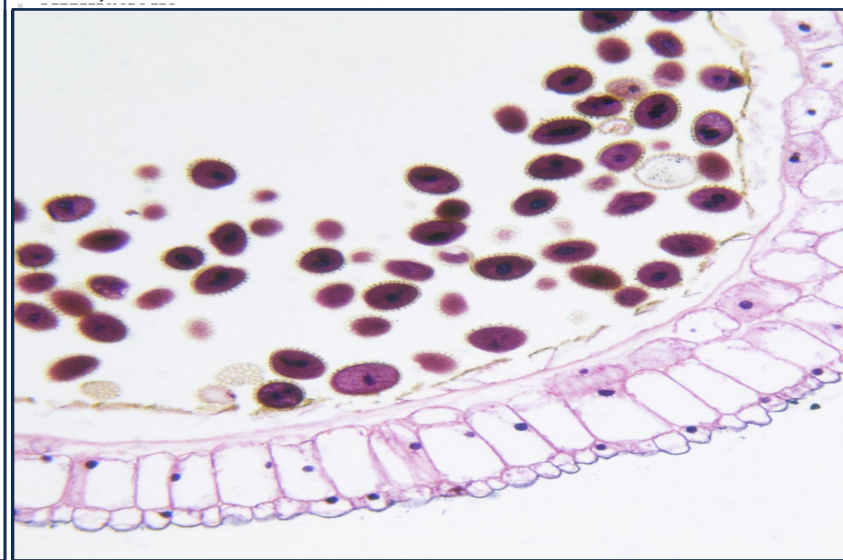
NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

PubMed®

Review > Microorganisms. 2019 Jan 10;7(1):14. doi: 10.3390/microorganisms7010014.

What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases

Emanuele Rinninella ^{1,2}, Pauline Raoul ³, Marco Cintoni ⁴, Francesco Franceschi ^{5,6},
Giacinto Abele Donato Miggiano ^{7,8}, Antonio Gasbarrini ^{9,10}, Maria Cristina Mele ^{11,12}
UOC di Nutrizione Clinica, Dipartimento di Scienze Gastroenterologiche, Endocrino-
Metaboliche e Nefro-Urologiche, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, 00168
Rome, Italy. emanuele.rinninella@unicatt.it.





IL SUPERORGANISMO *(olobionte)*

Ospiti o ospitati?

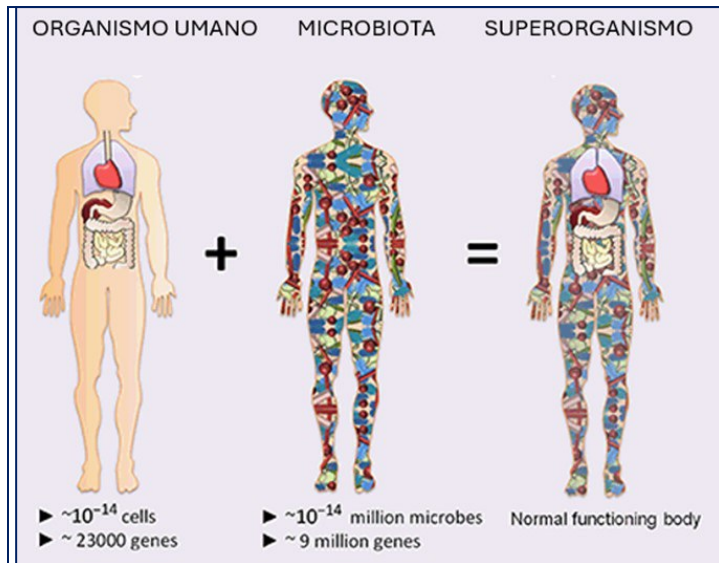


OLOBIONTE

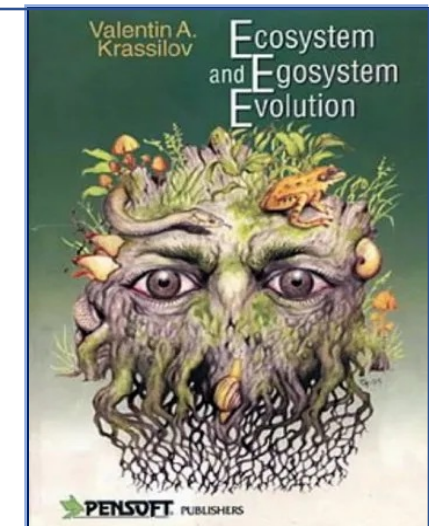


L'olobionte è il risultato di adattamenti reciproci tra la comunità microbica e l'ospite lungo il corso dell'esistenza umana.





From *EGO*system To *ECO*system



Quali sono i «super poteri» di cui ci gioviamo?

Il microbiota intestinale svolge numerose funzioni **essenziali** per la salute umana:



Mantiene una buona funzionalità intestinale

Regola il pH e la peristalsi

Sintetizza diverse vitamine, in particolare del gruppo B

Produce acidi grassi a corta catena (SCFAs), come l'acido butirrico, che rappresenta la principale fonte di energia delle cellule epiteliali del colon

Crea una barriera protettiva in grado di prevenire la penetrazione fisica di fattori patogeni, oltre a modulare il sistema immunitario

Classificazione Funzionale Microbiota Intestinale

SIMBIONTE

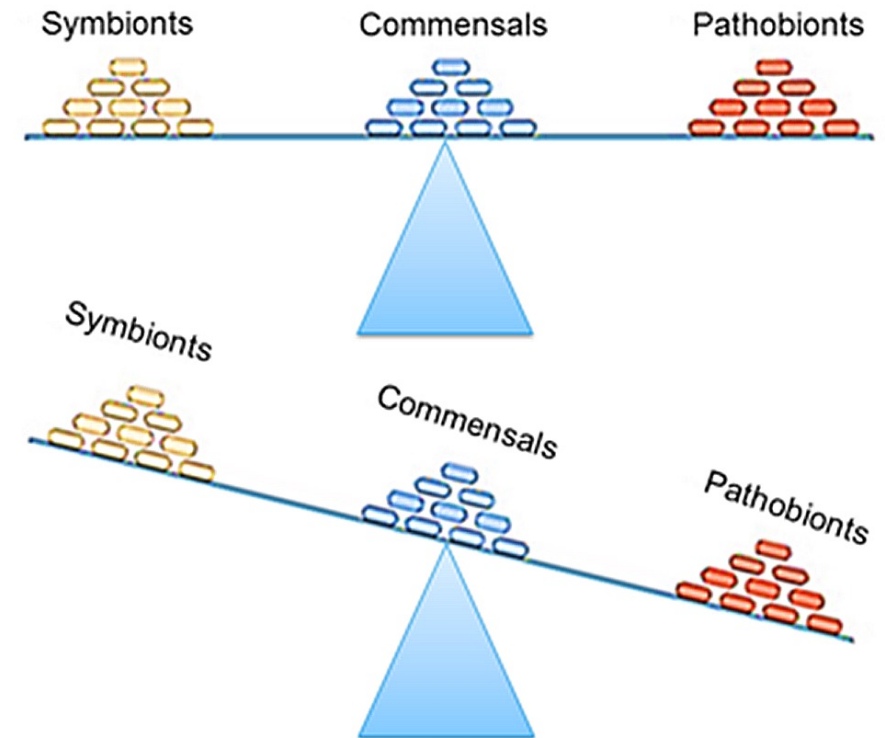
Organismi che vivono obbligatoriamente un rapporto con altri organismi viventi e non per forza traggono reciproco vantaggio della vita in comune

COMMENSALE

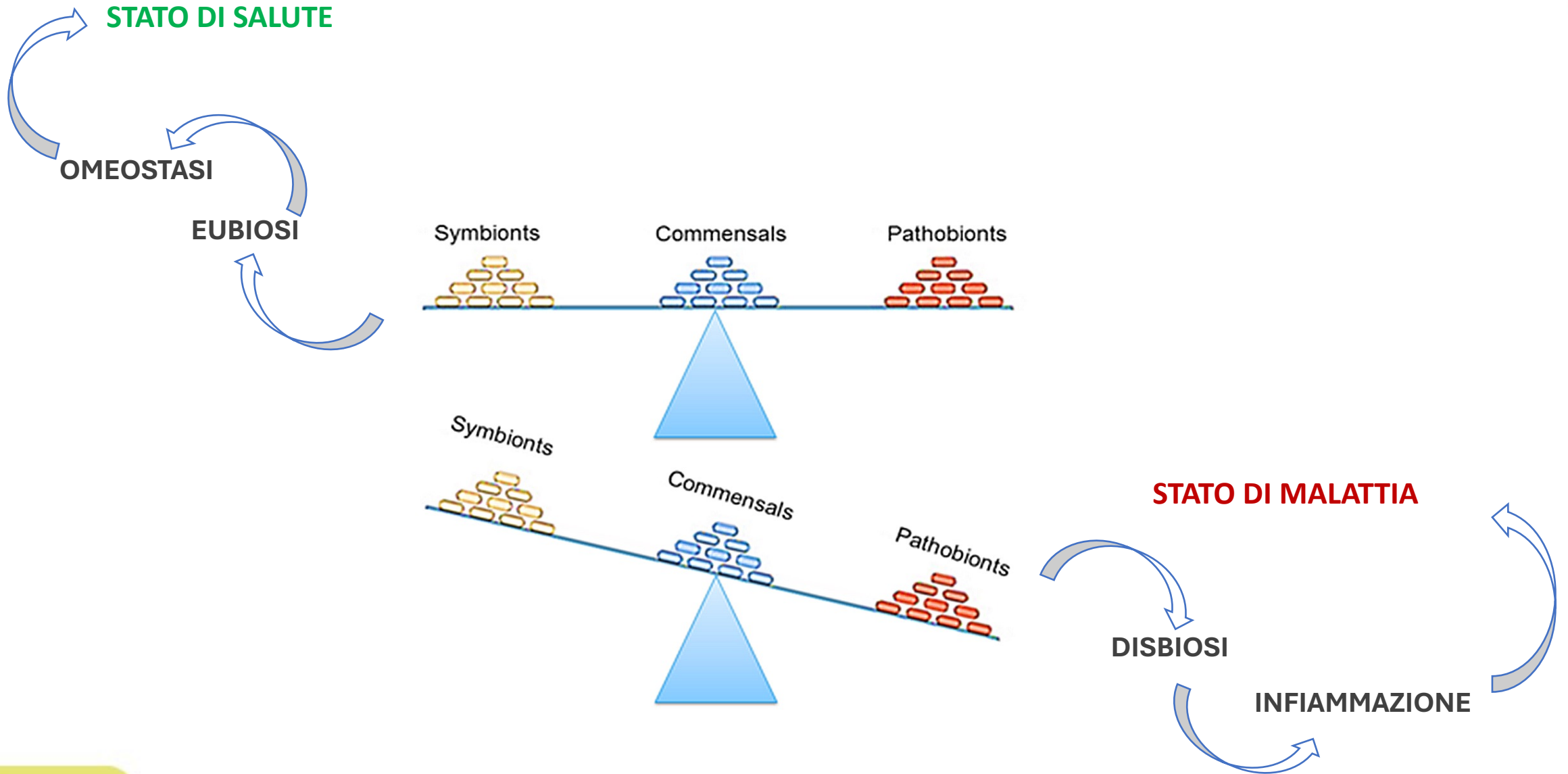
Interazione non obbligatoria fra due esseri viventi in cui uno approfitta del nutrimento o degli scarti dell'altro senza procurare sofferenza o disturbo

PATOBIONTE

Organismo normalmente presente in un ambiente, ma in grado diventare patogeno per l'ospite quando si trova in specifiche condizioni genetiche o ambientali



Da Eubiosi a...Disbiosi...



EUBIOSI VS DISBIOSI

EUBIOSI



- Elevata **biodiversità**.
- **Condizione** intermicrobica **armonica** .
- **Relazione mutualistica** tra il *microbiota* e l'*ospite*.

*Un microbiota intestinale **eubiotico** garantisce la funzionalità ottimale dell'intestino e dei GUT-AXIS.*

DISBIOSI



- **Alterazione** nella **composizione** del **microbiota** e nelle sue **attività metaboliche**
- Marcata **riduzione** della **biodiversità**.
- **Equilibrio** salutare e **armonia** tra tutte le **specie compromessi**.

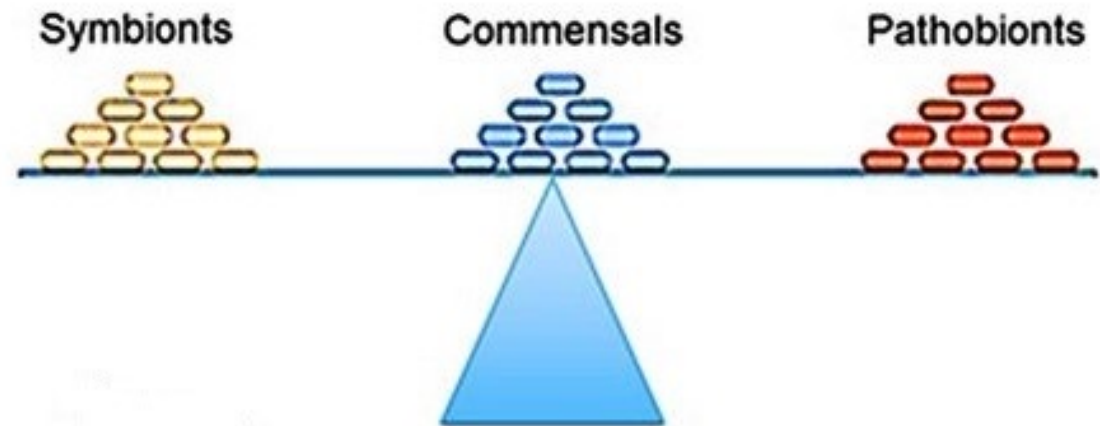
*Un microbiota intestinale **disbiotico** diventa progressivamente **pro-infiammatorio** .*



PROBIOTICA di BIOREGOLAZIONE

Mantenere e/o recuperare
l'equilibrio del microbiota
attraverso **specifiche e**
definite specie batteriche,
nel rispetto dei principi di
complessità e variabilità,

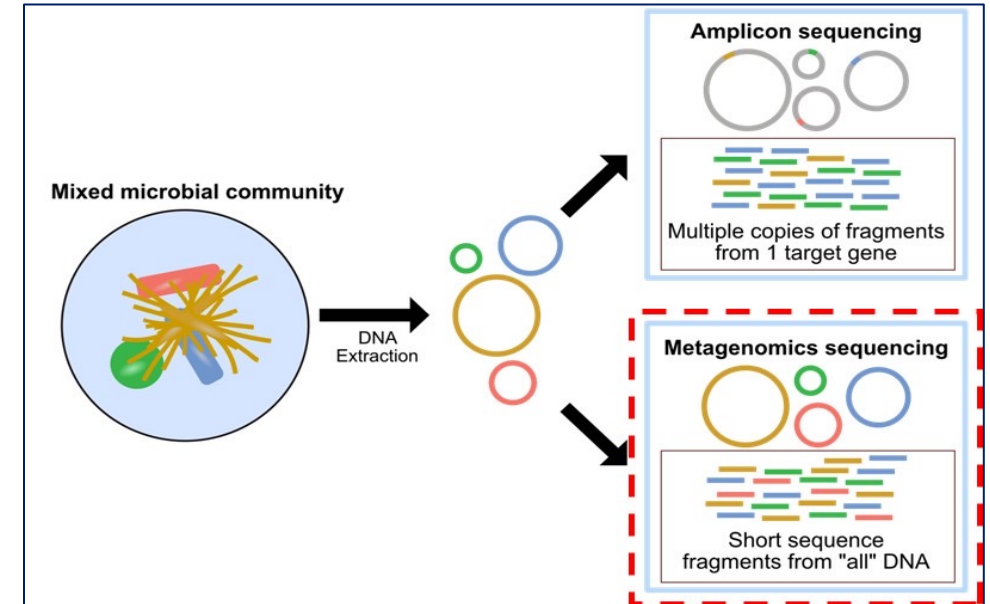
è la frontiera della
Probiotica di
BIOREGOLAZIONE



GENOMICA E METAGENOMICA PER LO STUDIO DELLE SPECIE PROBIOTICHE E DELLE POPOLAZIONI MICROBICHE COMPLESSE

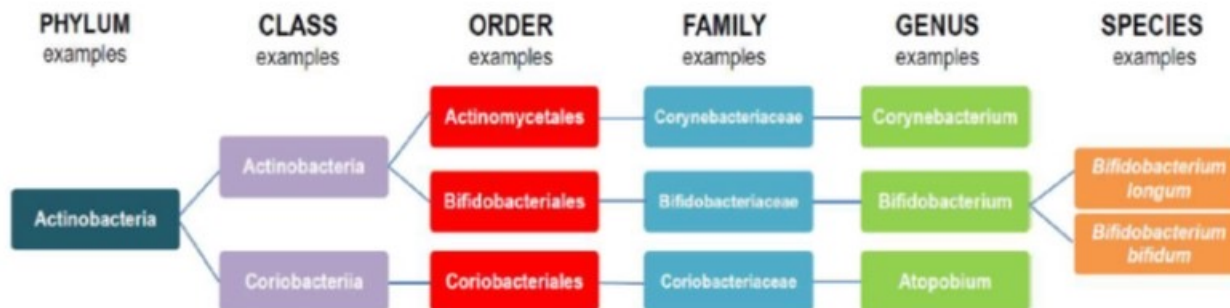
▪Lo **studio** del **Microbiota Intestinale**, parte con l'**estrazione** e poi dal **sequenziamento** del **DNA** batterico, che può essere realizzato con **tecnica genomica** come l' **Amplicon** o **metagenomica**, come la **Shotgun**.

▪La **prima** consente di **determinare** solo **limitate porzioni** del **DNA** microbico con uno **studio** a livello di **genere**, la **seconda** consente di realizzare uno **studio** di **tutto il DNA** batterico potendolo **mappare** a livello di **specie batterica**.



PROBIOGENOMICA-OMICA in MICROBIOTA

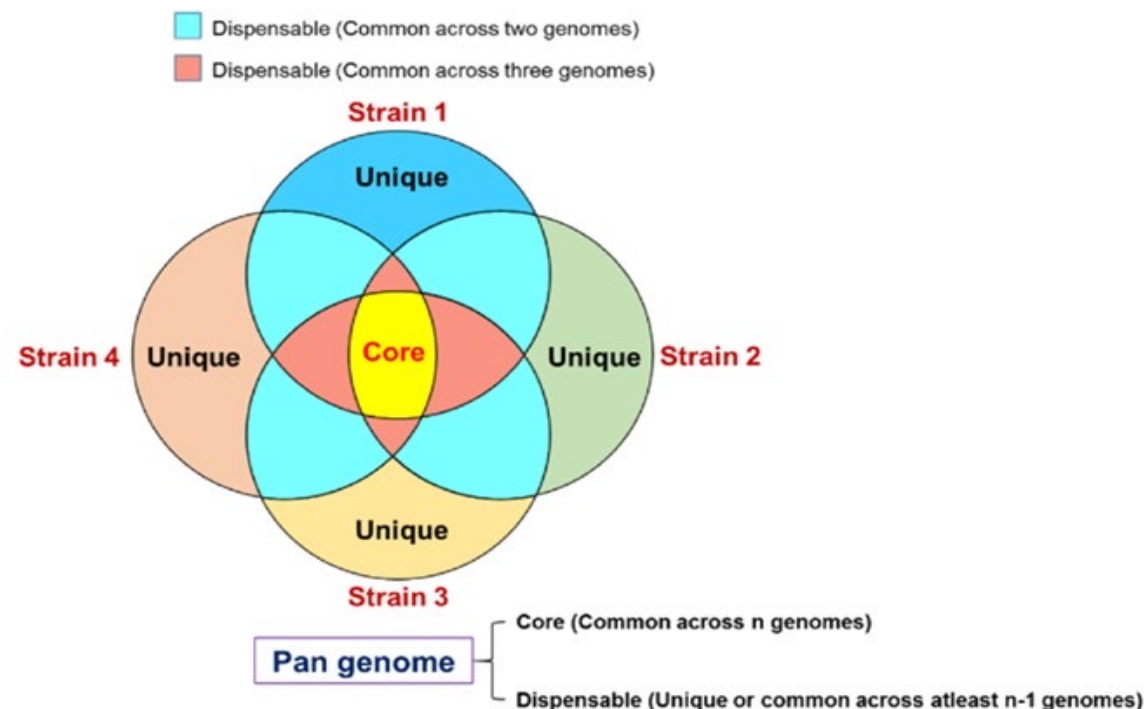
Acquisizione di informazioni atte a comprendere i meccanismi genetici alla base di aspetti della fisiologia microbica coinvolti nell'interazione con l'ospite ed altri microrganismi.



Probiogenomica Next-Gen.

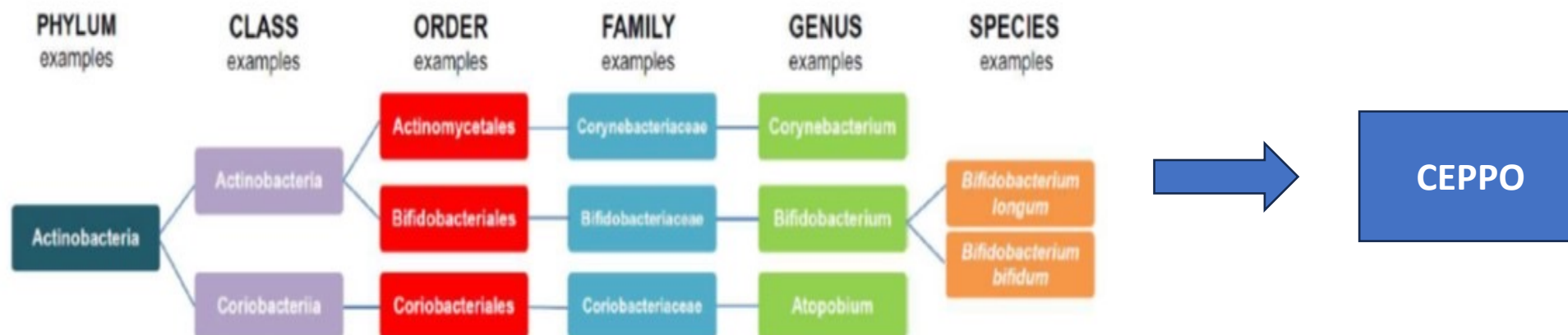
Il confronto tra ceppi della stessa specie permette di identificare:

- 1) Le caratteristiche genetiche comuni a tutti i ceppi in esame, dette **core-genes**.
- 2) Le caratteristiche genetiche specifiche uniche di ogni ceppo microbico in esame, dette **unique genes** (*solo con Shotgun*).
- 3) I geni presenti in alcuni, ma non tutti, i genomi analizzati, detti **dispensable genes**.

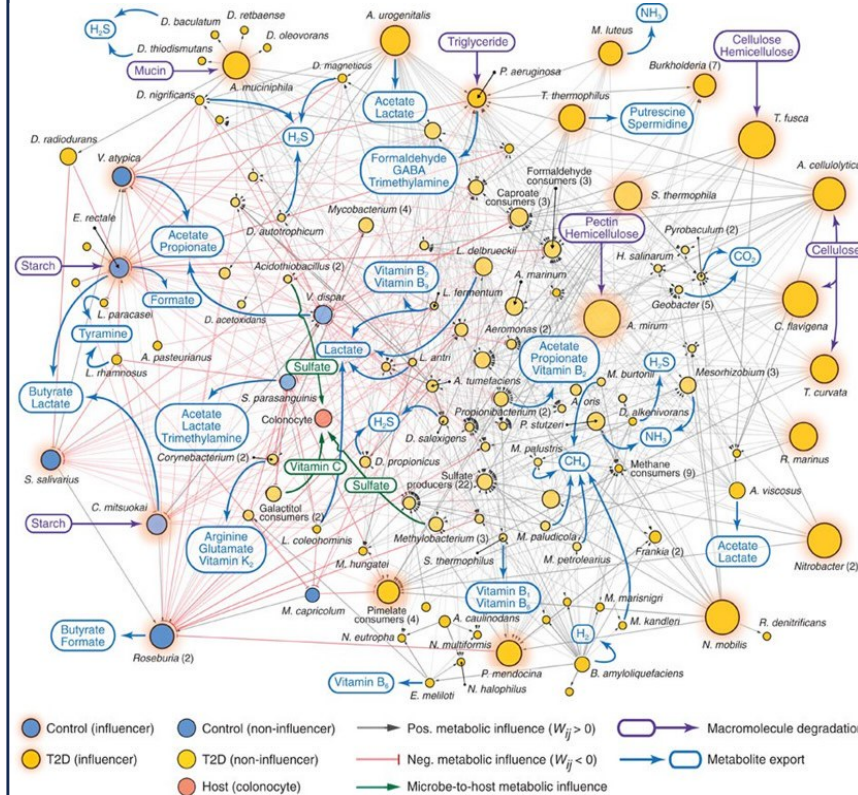


Probiogenomica Next-Gen.

Questo ci permette di valutare a priori la presenza di caratteristiche di interesse nei ceppi microbici.



- Questi database **contengono** però **migliaia di reazioni metaboliche.**



- Vitamine e cofattori enzimatici.
- Short Chain Fatty Acids.
- Degradazione di composti tossici.
- Sintesi di poli amine ed altri composti bioattivi.
- Regolazione del sistema immunitario ed infiammazione.
- Sintesi di amminoacidi
- Metabolismo degli acidi biliari.
- Metabolismo di polifenoli e flavonoidi.

Concetto di enterotipo tassonomico

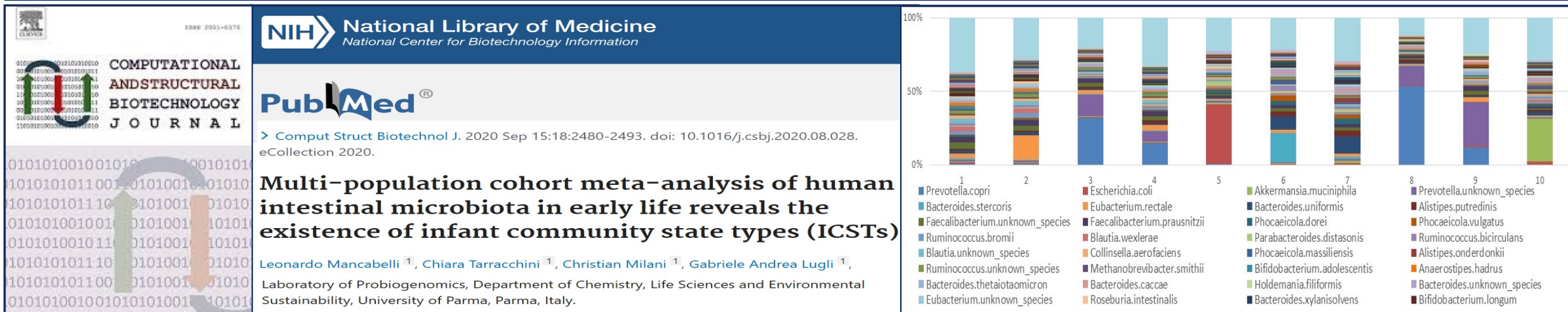
- Il concetto di Enterotipo nasce nel 2011 grazie allo studio di M. Arumugam.
- Tramite **profili tassonomici** a livello di **genere**, vengono **individuati** dei **profili ricorrenti** nella *popolazione sana adulta*.
- Questo è stato il primo studio che ha evidenziato come il microbiota intestinale umano non sia sempre uguale, ma possa ***variare da individuo a individuo***.



Da Enterotipo a Community State Type (CST)

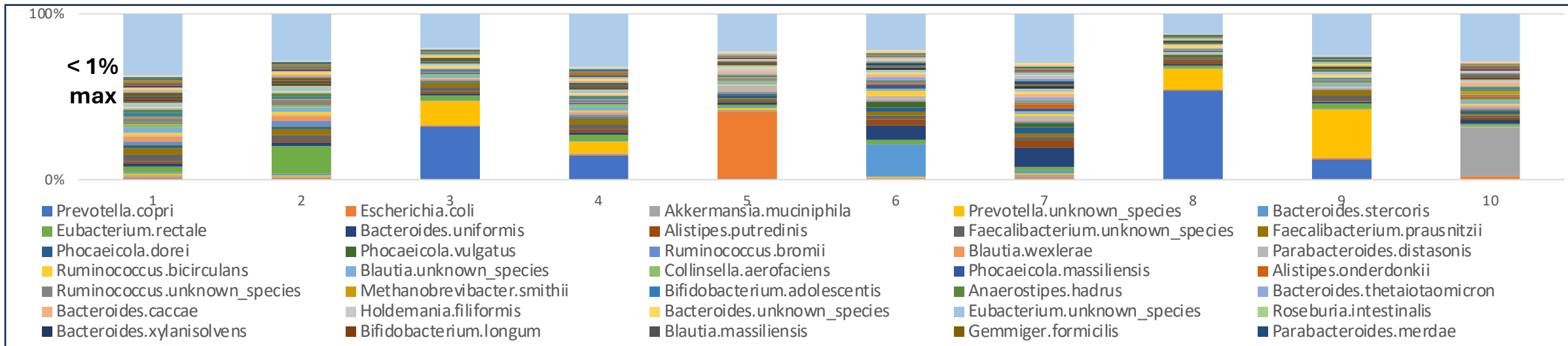
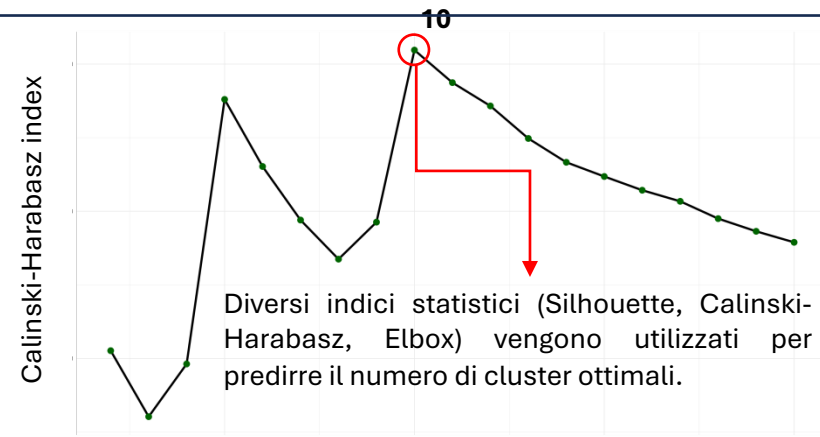
- L'avanzamento tecnologico e l'introduzione degli approcci *shotgun* (forma evoluta di *metagenomica*) hanno permesso di lavorare con **profili a livello di specie** batterica.
- Tutto questo ha portato a **coniare** una **terminologia specifica** ed **universale** per indicare la **presenza di profili tassonomici ricorrenti** con accuratezza a **livello di specie**:

Community State Types (CSTs)



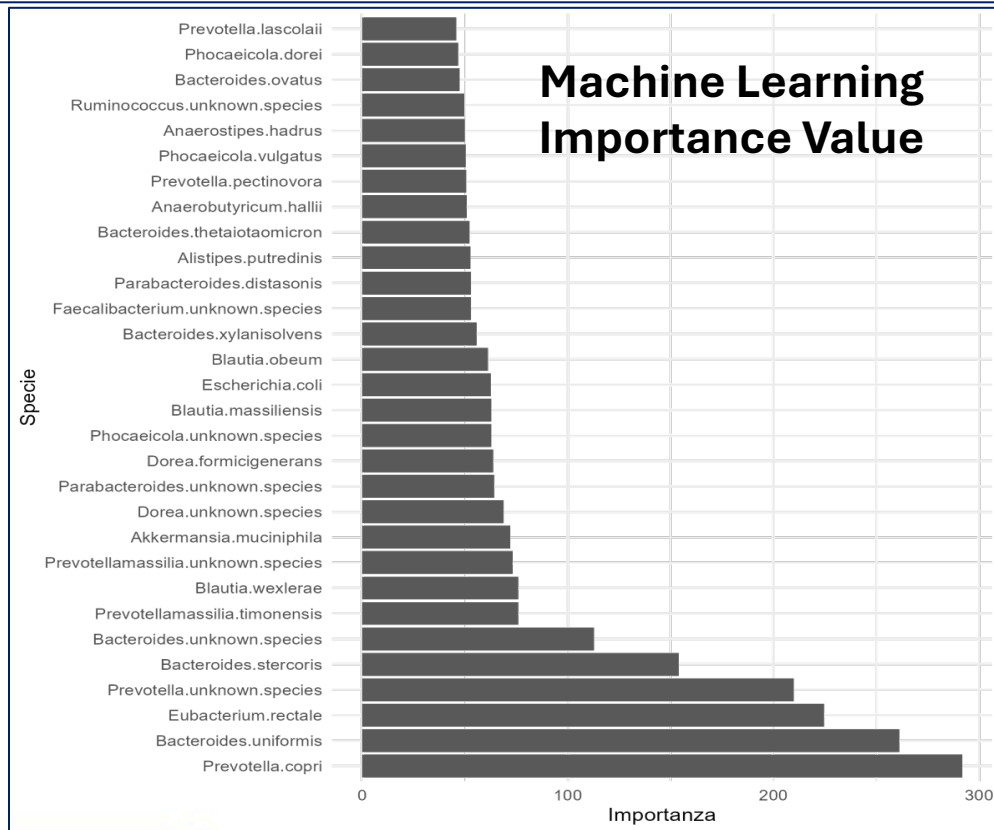
CSTs tassonomici del microbiota intestinale

- Dall'analisi **statistica** del profilo tassonomico di **50.000** individui sani provenienti da diverse parti del mondo (*World Gut Microbiome Database*), un **totale di 10 CST tassonomici** sono stati individuati.
- Questi evidenziano come ci sia una **notevole variabilità** nel **microbiota intestinale umano**.

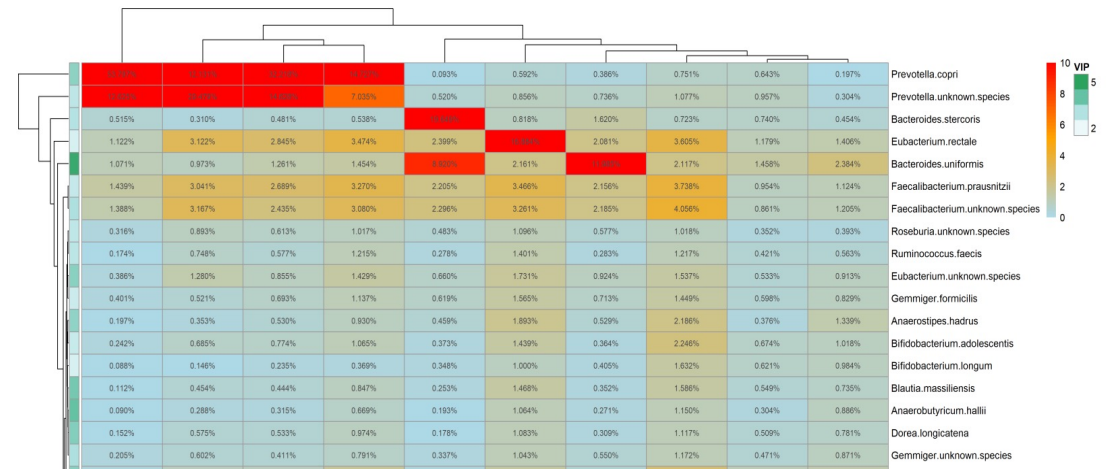


Quali sono le specie microbiche chiave nella definizione dei Community State Types?

Indagini di **Statistica Multivariata** e di **Machine Learning** ci permettono di andare ad individuare le **specie più rilevanti** nel determinare e **modulare il network microbico**.



PLS-DA VIP (Variable Importance in Projection) score



PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis) è una tecnica di regressione che combina elementi di PCA (Principal Component Analysis) e regressione multivariata.

PLS-DA usa le classi predefinite del dataset per identificare componenti latenti che meglio separano le classi.

È **particolarmente utile quando si ha un gran numero di variabili** rispetto ai campioni, come spesso accade nell'analisi di dati omici (profilo tassonomico del microbiota, dati genomici, etc.).

Limitazioni agli interventi di bio-regolazione probiotica

▪Purtoppo non possiamo intervenire su tutti questi microrganismi chiave al fine di modulare il microbiota in quanto per la vendita commerciale di probiotici nell'Unione Europea, è necessario rispettare le normative stabilite dall'EFSA (European Food Safety Authority).

▪L'EFSA valuta la sicurezza dei ceppi probiotici destinati al consumo umano attraverso il sistema QPS (Qualified Presumption of *Safety-Presunzione Qualificata di Sicurezza*), che definisce un elenco di specie considerate sicure sulla base di una *revisione scientifica rigorosa*. Solo i ceppi appartenenti a specie presenti nella lista QPS possono essere utilizzati nei prodotti commercializzati come probiotici.

▪ Questo è un tipico caso in cui gli aspetti normativi non tengono il passo con gli avanzamenti scientifici.

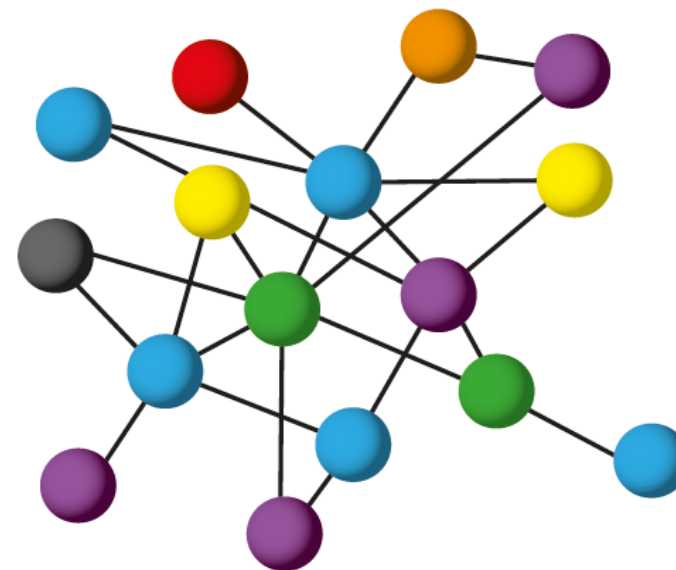
Per operare una bio-regolazione probiotica del microbiota intestinale si è quindi limitati all'uso di un numero molto ristretto di specie probiotiche.



Network del Microbiota secondo la BrSM

▪ Un **network** è costituito da **nodi** interconnessi tra loro attraverso **collegamenti**, che consentono di operare un efficace **cross-talk**.

▪ In accordo con la visione complessa di organismo umano secondo la Medicina dei Sistemi, **ogni network** è **interconnesso** con tutti **gli altri** e può **influenzare la loro funzione** e, allo stesso tempo, da essi **essere influenzato**.



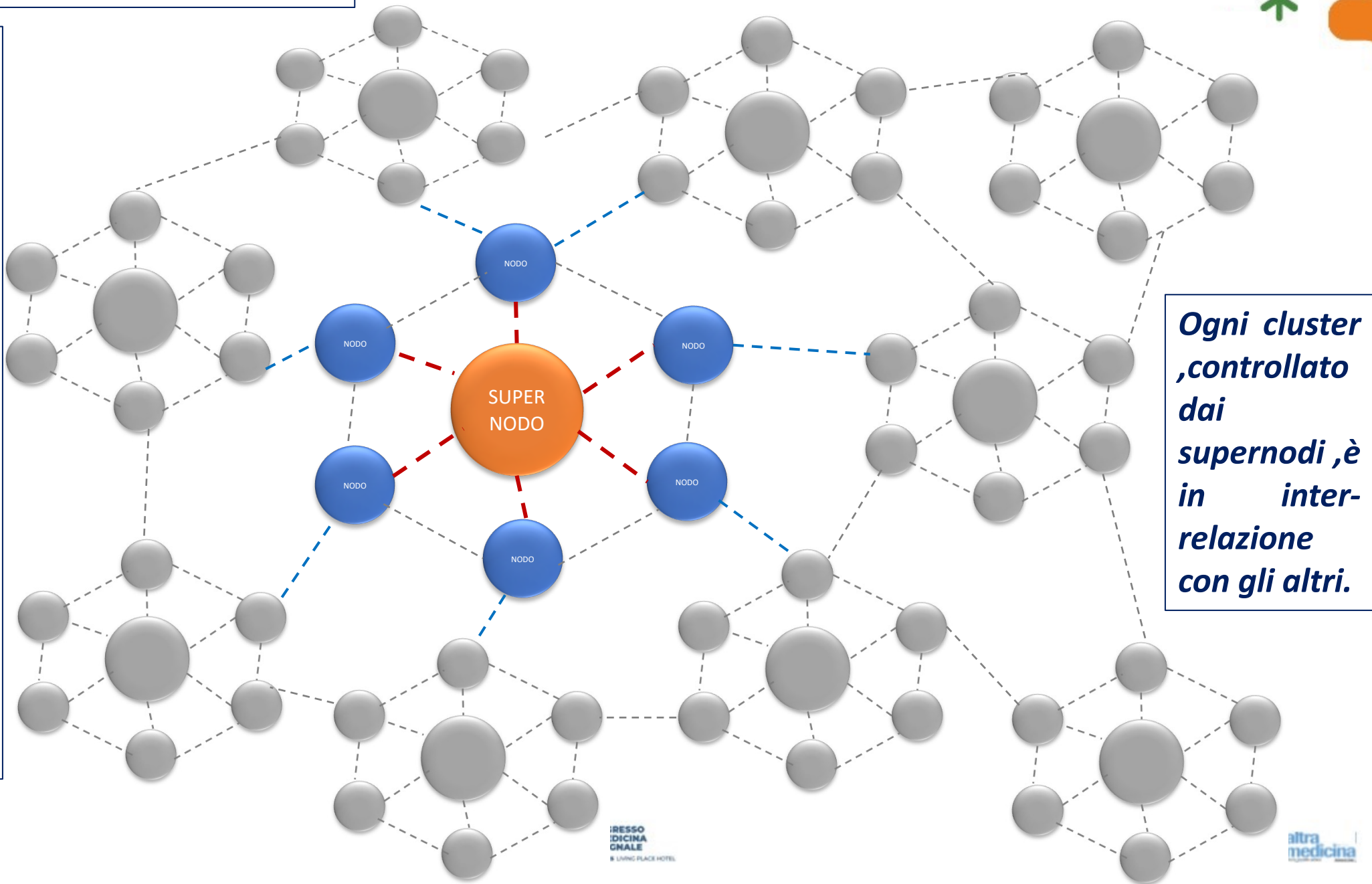
*Le circa **4.000 specie batteriche** (con un patrimonio genetico di 3 milioni di geni) rappresentano i **nodi** del network del microbiota; ogni nodo è collegato agli altri da un delicato rapporto di **relazioni metabolico-funzionali**.*



Nodi e Supernodi del Network Microbiota

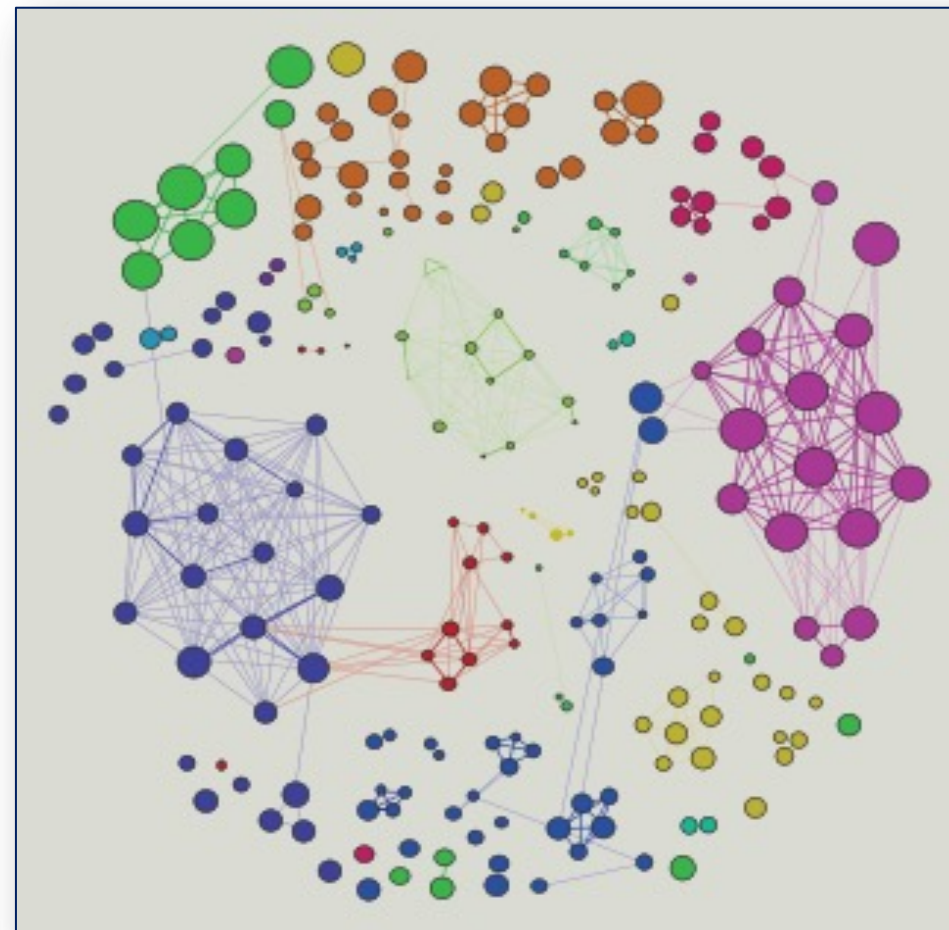
▪ I ceppi batterici con la più alta capacità di influenzare l'intera comunità microbica spiccano tra tutti quelli che rappresentano i nodi del **network** del microbiota, e per tale ragione sono **identificati** come **SUPERNODI**.

▪ Dalla loro modulazione dipende l'assetto complessivo del microbiota.



Disbiosi come Perdita di Autoregolazione dei Supernodi

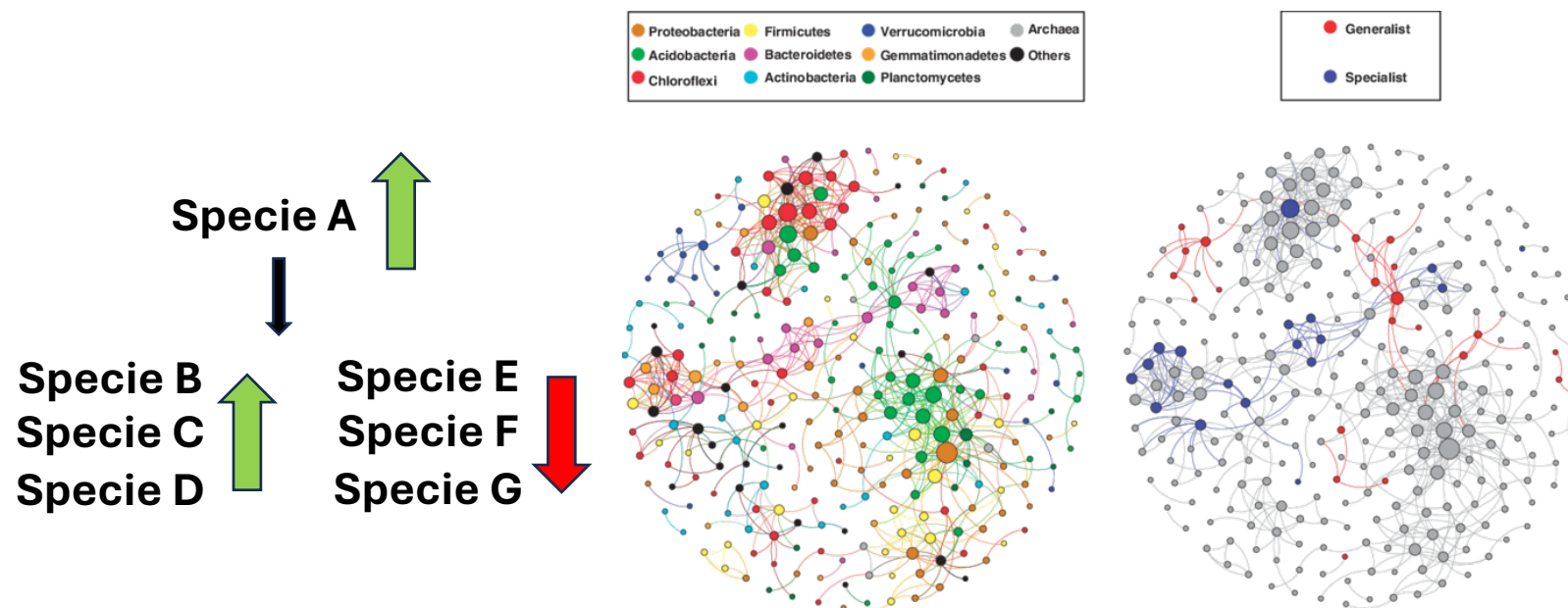
- Condizioni di **disbiosi** di crescente gravità sono **legate** alla progressiva **perdita** di **capacità auto-regolatoria** del **network** operata dai **ceppi batterici supernodali**.
- Il **livello** di **disregolazione** dell'intero **microbiota** **dipende**, in ultima analisi, dal **numero di supernodi** alterati.
- Ne consegue che l' **integrazione probiotica**, dovrà **intervenire** in profondità sul fenomeno disbiotico, attraverso l'azione di **supplementazione** di un numero limitato di **ceppi batterici "supernodo"**, sfruttando le loro **capacità riequilibranti a cascata** su uno o più **cluster** del microbiota alterati.



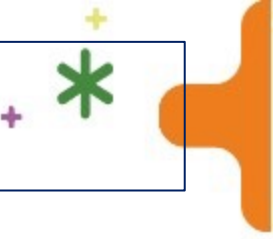
Covarianza Ecologica

Approcci statistici di valutazione della covarianza ci permettono di comprendere il complesso network di interazioni ecologiche esistente a livello della popolazione microbica del microbiota intestinale umano, utilizzando i probiotici riconosciuti da EFSA.

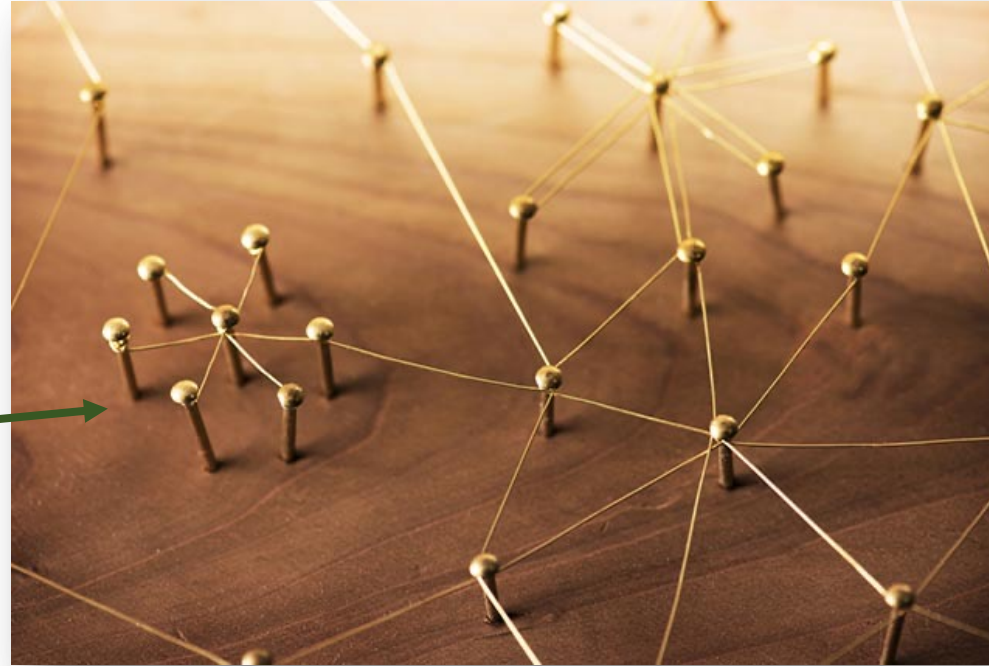
L'Intelligenza Artificiale, Statistiche delle Covarianze Ecologiche, unitamente ad un sistema di punteggi statistici, consentono di definire in modo automatizzato i probiotici EFSA in grado di modulare efficacemente il microbiota intestinale al fine di avvicinarlo alla media degli individui sani con lo stesso CST.



Covarianza ecologica



**Ceppo
Covariante**



I ceppi in grado di agire sui **supernodi** del *network* microbiota/mucosa, in base al principio di **covarianza ecologica**, esercitano un benefico “**effetto domino**” sui batteri dell’intera rete avviando meccanismi di **ripristino dell’omeostasi**.



Le 10 specie probiotiche con le migliori performance di bio-regolazione



- *Bifidobacterium bifidum*
- *Bifidobacterium adolescentis*
 - *Bifidobacterium breve*
 - *Bifidobacterium longum*
 - *Bifidobacterium lactis*



- *Lactococcus lactis*

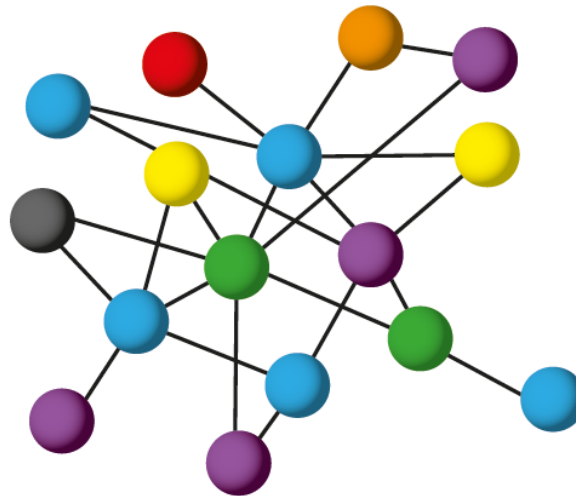
Streptococcus thermophilus



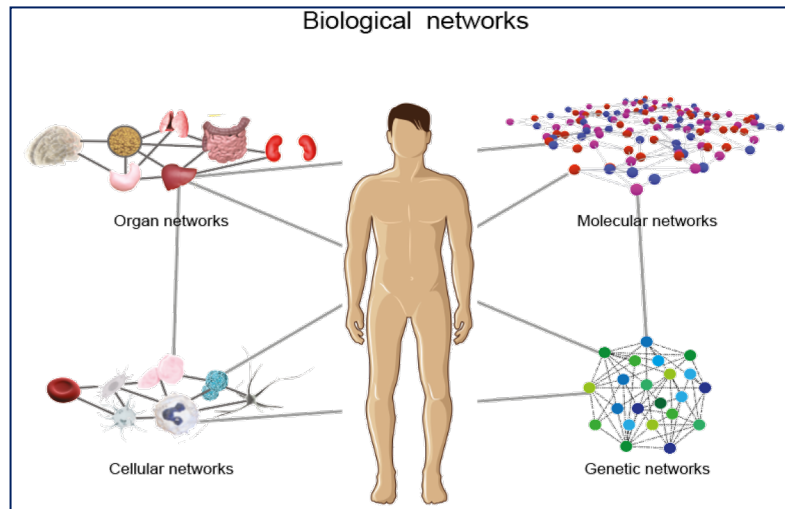
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus salivarius*



Metodologia di intervento secondo la PROBIOTICA DI BIO-REGOLAZIONE



Il corpo umano come *Network di Networks*.

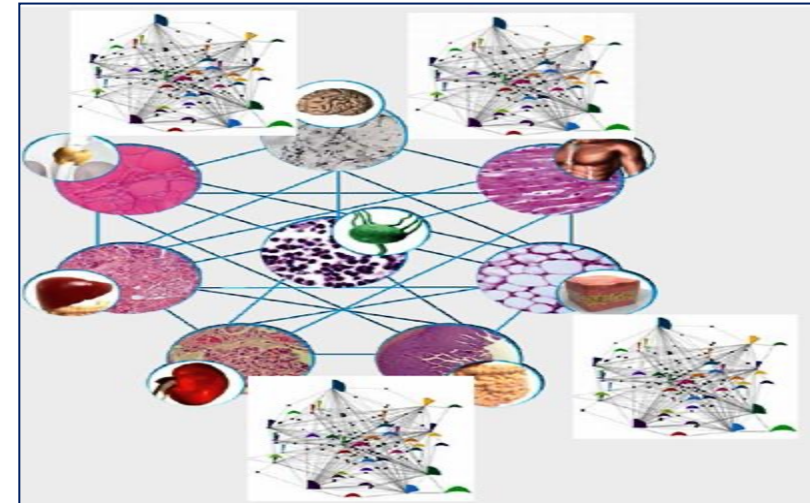


Networks «strutturali»

1. **Genoma**
2. **Molecole**
3. **Cellule**
4. **Organi**



N E T W O R K S

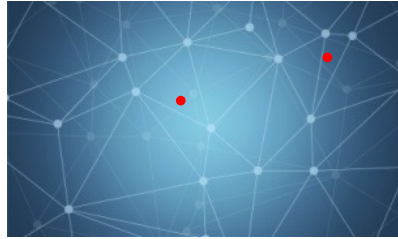


Networks «funzionali»

1. **Infiammatorio**
2. **Neuroendocrino**
3. **Energetico-Cellulare**
4. **Metabolico**
5. **Microbiota-Mucosa**

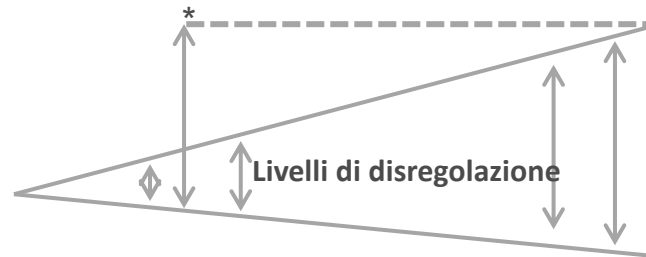


DISREGOLAZIONI DEL MICROBIOTA SEC. PmBR



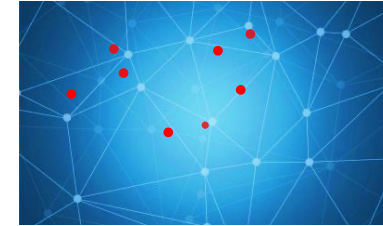
Pochi super-*NODI* disregolati

**Sintomatologie
intestinali o extra-
intestinali, acute o
croniche,
chiare e definite**



Capacità di autoregolazione

PmBR stand alone therapy



Più super-*NODI* disregolati

**Quadri sintomatologici
intestinali o extra-
intestinali vaghi e
indefiniti, o quadri
nosografici di particolare
complessità, ovvero
patologie in cui la disbiosi
funge da fattore
predisponente/aggravante**



Sintomatologie intestinali o extra-intestinali, acute o croniche, chiare e definite

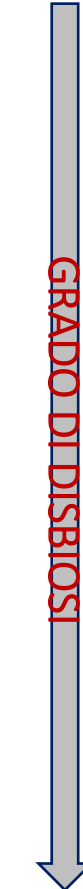
Quadri sintomatologici intestinali o extra-intestinali vaghi e indefiniti, o quadri nosografici di particolare complessità, ovvero patologie in cui la disbiosi funge da fattore predisponente/aggravante

Lieve modificazione
tassonomico-funzionale
del microbiota

Media modificazione
tassonomico-funzionale
del microbiota

Severa modificazione
tassonomico-funzionale
del microbiota

--



++

++

CAPACITA' DI AUTOREGOLAZIONE DEL
MICROBIOTA

--

-



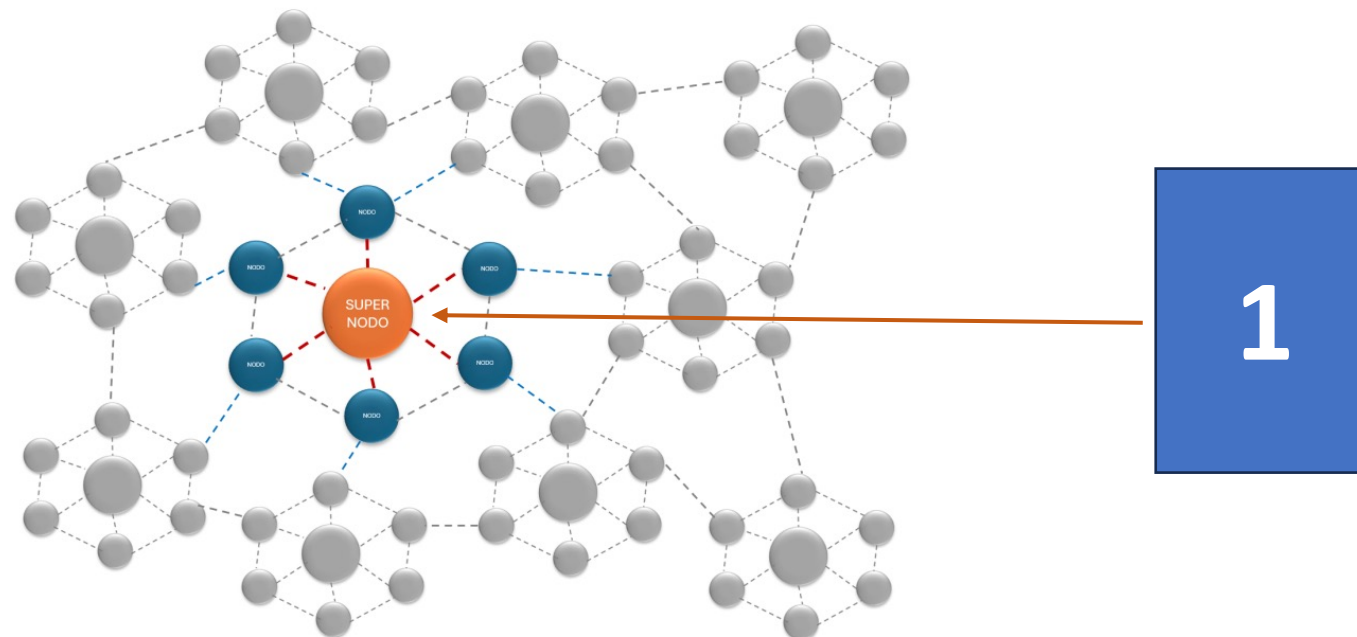
++

**INTERVENTO LINEARE CON
SINGOLO MONOCEPPO**

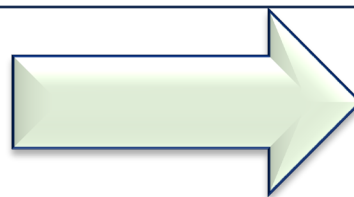


**INTERVENTO MULTINODALE
CON PIU' MONOCEPPI**

Razionale di Prescrizione



**BASSI LIVELLI DI
DISREGOLAZIONE Supernodi**



**SINGOLO PROBIOTICO
MONOCEPPO**



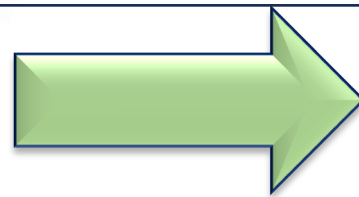
Razionale di Prescrizione

1

2

3

**MEDI-ALTI LIVELLI DI
DISREGOLAZIONE di Supernodi**

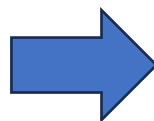


**PIU' PROBIOTICI
MONOCEPPO**

Percorso Decisionale Assistito della Probiotica di Bio-Regolazione

La **scelta** è tra **2 diversi modelli** ed è secondaria al **quadro clinico** del **paziente**, riflesso del livello di alterazione del microbiota intestinale e segue **2 direttrici**:

- **Correlazione lineare** basata solo sulla ***sintomatologia clinica*** del paziente;
- **Correlazione multinodale** basata sul ***test del microbiota fecale***



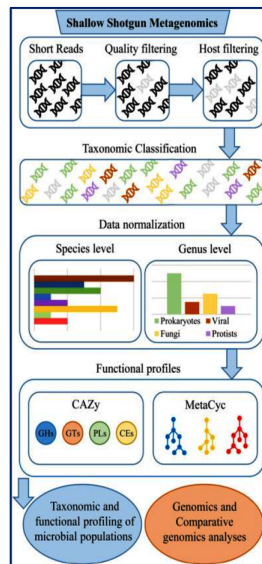
Lo studio del microbiota intestinale consente di definire un **percorso probiotico personalizzato** attraverso l'identificazione di **3 ceppi** (prevalentemente **2 emergenti dall'analisi tassonomica** e **1 dall'analisi funzionale**) in grado di **ristabilire l'omeostasi** dell'intero microbiota con **benefici effetti** anche **sistemici**.



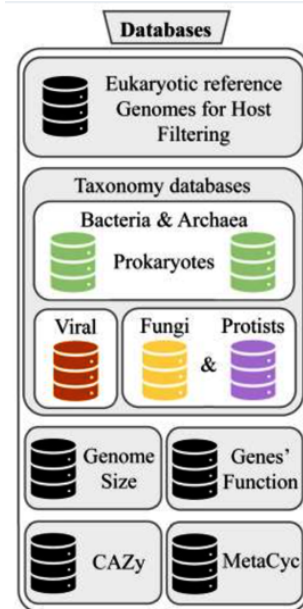
Requisiti di un test del microbiota efficace

Le caratteristiche principali di un'efficace analisi del microbiota intestinale devono essere 3:

Utilizzo di metodiche di indagine metagenomica che permettano di sfruttare le più moderne tecnologie per la **profilazione tassonomica**.



Disponibilità di un database di riferimento di adeguate dimensioni e che consideri i 10 CST riconosciuti (*World Gut Microbiome Database*).



Approcci interpretativi automatizzati (ad esempio mediante Intelligenza Artificiale **machine learning / neural networks**).



Quando preferire un approccio personalizzato?

- Un **approccio probiotico personalizzato**, per quanto permetta enormi vantaggi ha però **un limite: il tempo necessario per poter eseguire l'analisi** del campione biologico (*generalmente 2-3 settimane* considerando gli aspetti logistici).
- Per questo motivo è **suggeribile** sfruttare questo **approccio personalizzato** nel caso di **patologie/problemi cronici o ricorrenti**.
- Nel caso di **necessità acute/puntuali** si è ancora limitati all'uso di **probiotici singoli** seguendo indicazioni fornite dalla **letteratura scientifica** circa l'**efficacia** in **specifici contesti**.

	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Costipazione/stipsi										
Diarrea ricorrente o causata da trattamento antibiotico										
Diarrea acuta causata da gastroenterite										
Gonfiore e gas, dolore addominale e crampi ed altri sintomi di IBS/IBD										
Disturbi del primo tratto digerente come reflusso ed infezione da <i>Helicobacter pylori</i>										
Celiachia ed intolleranze alimentari										

Utilizzo dei dati della ricerca e della letteratura scientifica per identificare i campi di applicazione con le migliori validazioni specie-specifiche e la disponibilità di prodotti ceppo-specifici, che la **Probiotica Shotgun** garantisce.

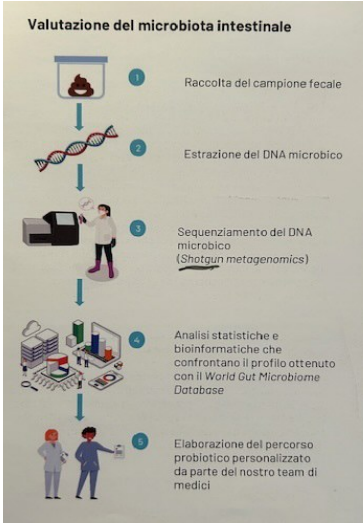
ALGORITMO PRESCRITTIVO

PROBIOTICI DI BIO-REGOLAZIONE

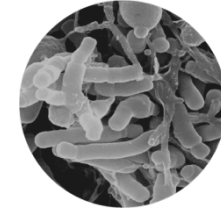
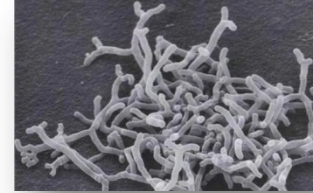
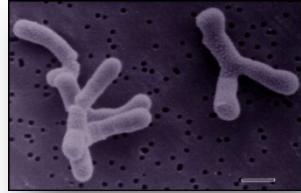
Correlazione lineare
SINTOMO/I-
PROBIOTICO/I

Correlazione
multinodale
TEST MICROBIOTA
FECALE

		Probiotici				
		<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>
Tratto Gastrointestinale	Costipazione/Stipsi	■				■
	Diarrea ricorrente o causata da trattamento antibiotico					■
	Diarrea acuta causata da gastroenterite		■			■
	Gonfiore e gas, dolore addominale e crampi ed altri sintomi di IBS/IBD		■	■	■	■
	Disturbi del primo tratto digerente come reflusso ed infezione da <i>Helicobacter pylori</i>		■	■	■	■
	Celiachia ed intolleranze alimentari		■	■	■	■
Metabolismo	Sovrappeso/Obesità, Colesterolo alto e Problemi Cardiovascolari		■	■	■	
	Glicemia alta e Diabete		■	■	■	
Vie Aeree Superiori	Infezioni del tratto respiratorio, anche ricorrenti		■	■	■	■
	Allergie ed Asma		■	■	■	
	Patologie orali (come Carie, Gengiviti, Alitosi)		■	■	■	■
Altro	Artrite		■	■	■	
	Patologie Cutanee (come Eczema, Dermatiti, Acne, Scottature solari)		■	■	■	
	Ansia e Depressione				■	■
	Declino cognitivo				■	■

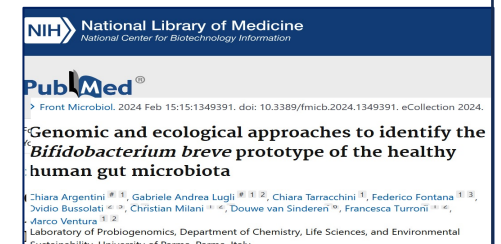
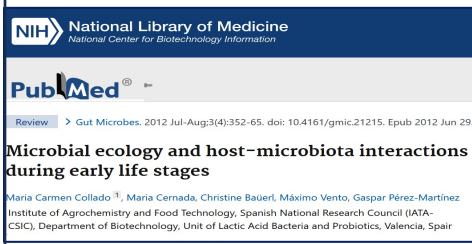


CARATTERISTICHE DEI CEPPI DELLA PROBIOTICA DI BIO-REGOLAZIONE (PmBR)

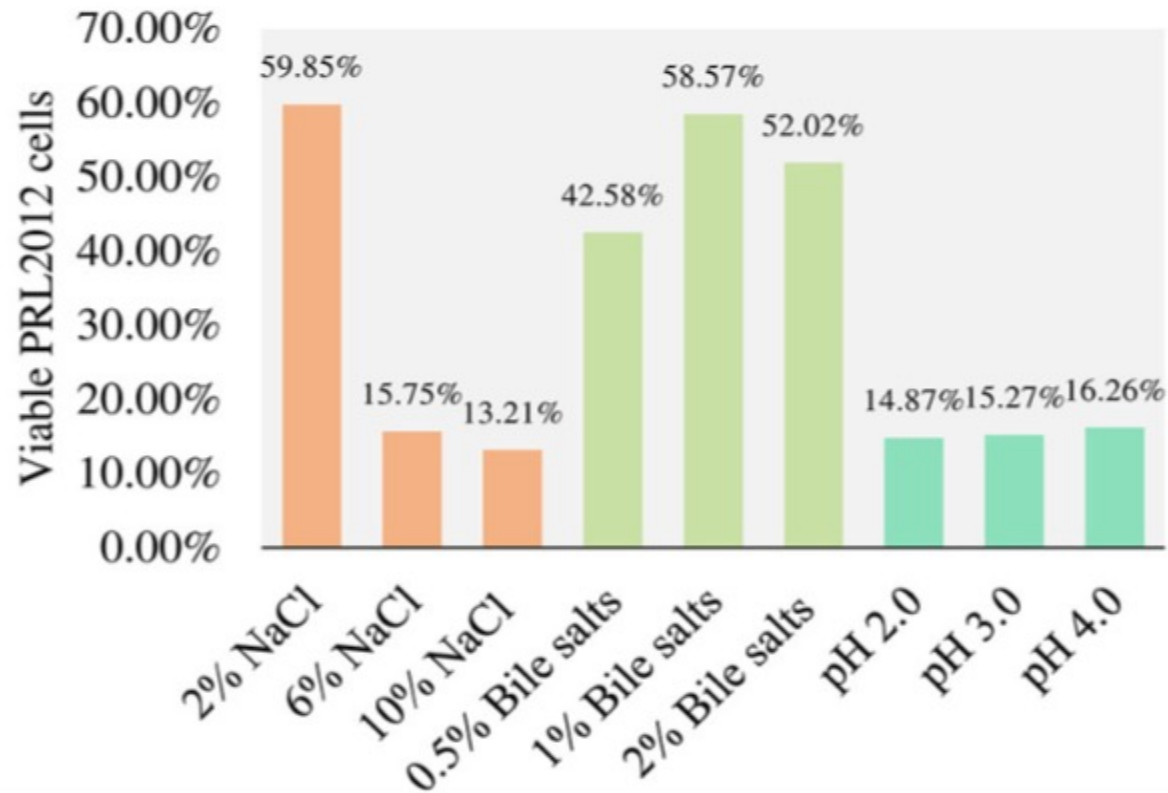


1. ORIGINE UMANA: isolati da campioni di **feci di lattante** o di **latte materno** , da campioni di **intestino di neonato** o di **mucosa intestinale di adulto sano** .

*Perché è importante: maggior **adattabilità** agli **altri commensali** ed **all'ambiente intestinale** = **maggior probabilità di adesione** e di **cooperazione simbiotica funzionale** (UFC, ecologia).*

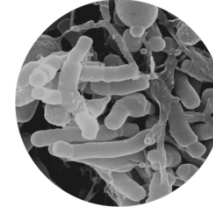
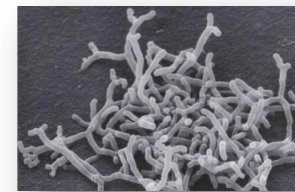
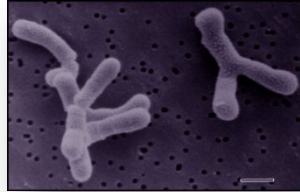


CARATTERISTICHE DEI CEPPI DELLA PROBIOTICA DI BIO-REGOLAZIONE (PmBR)



2. RESISTENZA INTRINSECA ALL'ACIDITÀ GASTRICA E ALL'AZIONE DEGLI ACIDI BILIARI che consente l'arrivo dei **ceppi, vivi e vitali**, all'intestino conservando inalterata la loro **capacità di colonizzazione** che deve essere pari a 4 mld di UFC per millilitro.

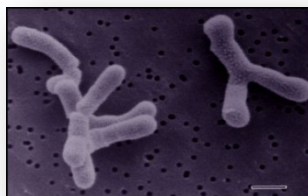
CARATTERISTICHE DEI CEPPI DELLA PROBIOTICA DI BIO-REGOLAZIONE (PmBR)



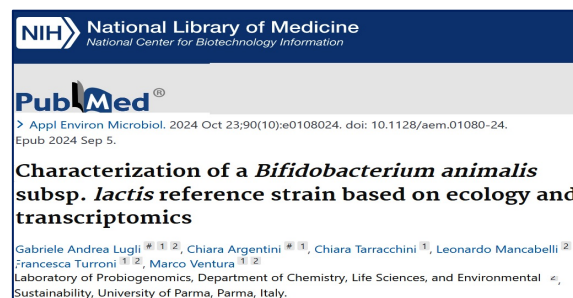
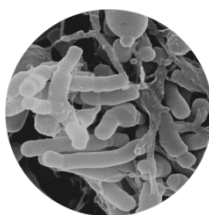
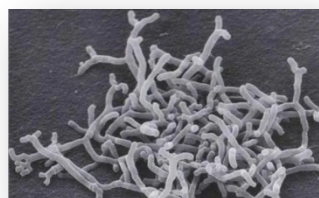
3. Elevata **CAPACITÀ DI ADESIONE** all'epitelio intestinale.
4. Capacità di **CROSS-FEEDING** (interazione simbiotica nutrizionale) e di **CROSS-TALK** (comunicazione bidirezionale) batterio-batterio e batterio-ospite.
5. Elevato profilo di **TOLLERABILITÀ** e **SICUREZZA**.



CARATTERISTICHE DEI CEPPI DELLA PROBIOTICA DI BIO-REGOLAZIONE (PmBR)



- Per rispondere alle **5 caratteristiche fondamentali**, i ceppi dei Probiotici di **MicroBio-Regolazione** sono stati **identificati e studiati** attraverso **indagini genetiche e genomiche** condotte con **tecniche di sequenziamento del DNA (Shotgun)** e l'ausilio di tecniche di **Machine Learning** che hanno condotto, per ogni ceppo, alla creazione delle **Genetic Identity Cards**.
- I ceppi selezionati sono **ecologicamente adatti all'ambiente intestinale umano** e in grado di effettuare un'opportuna bio-regolazione del *network microbico disregolato*.



Abbiamo finito...

prof. Luigi Coppola



studiomedicol.coppola@gmail.com



3463348701



Grazie per l'attenzione !!!

