

26. aprile

Si fa presto a dire “fibre, non tutte le fibre sono uguali

*Conserva e tratta il cibo come se fosse il tuo corpo,
ricordando che nel tempo il cibo sarà il tuo corpo.*
(BW Richardson)

Il miglioramento della salute mediante la modulazione del microbiota intestinale umano attraverso la manipolazione della dieta ha guadagnato molto interesse pubblico negli ultimi 10-15 anni.

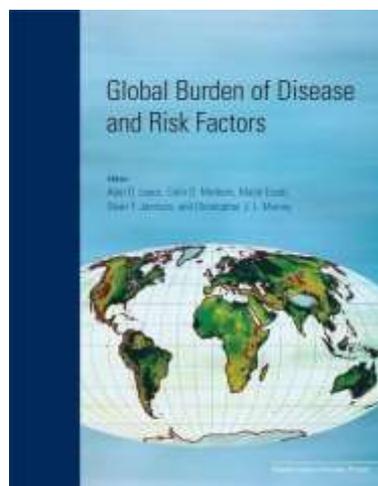
La *fibra alimentare* è una delle principali fonti di energia per il microbiota intestinale umano con circa **14-25 g** che arrivano giornalmente nell'intestino crasso nelle società occidentali mentre nelle società rurali africane e in quelle dei cacciatori-raccoglitori, varia da **50 a 150 g/giorno**

La fibra alimentare è una componente degli alimenti derivata dalle piante, non digeribile dallo stomaco e dall'intestino tenue. È invece parzialmente digeribile dal colon. La sua presenza nella dieta è fondamentale per la salute. Gran parte della fibra alimentare fa parte della classe dei carboidrati, ma non solo.



Pontzer H et al. Hunter-gatherers as models in public health. *Obes Rev.* 2018 Dec;19 Suppl 1:24-35.

Nessun paese in Europa o Nord America soddisfa la propria dose giornaliera raccomandata e lo studio **Global Burden of Disease** del 2017 ha rilevato che "una dieta non ottimale è responsabile di più decessi rispetto a qualsiasi altro rischio a livello globale, compreso il fumo di tabacco"



Lo studio ha rilevato, forse sorprendentemente, che la mancanza di determinati alimenti (cereali integrali, frutta, noci e semi e verdure) piuttosto che il consumo eccessivo di cibi malsani (carne lavorata e bevande zuccherate) insieme hanno provocato il maggior numero di morti. Cinque dei primi sette contributori sono stati o la mancanza di gruppi di alimenti ricchi di fibre o la mancanza di fibre alimentari stesse

GBD 2017 Diet Collaborators. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet. 2019 May 11;393(10184):1958-1972..

C'è quindi un urgente bisogno di migliorare l'assunzione di fibre, tuttavia, la fibra alimentare è un gruppo di molecole e aggregati molecolari che differiscono notevolmente nella loro composizione di mono e polisaccaridi, proprietà di idratazione, solubilità e viscosità, fattori chiave che influenzano la digestione e l'assorbimento nella parte superiore intestinale e la conseguente fermentazione da parte del grande microbiota intestinale

Flint HJ et al . The role of the gut microbiota in nutrition and health. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2012 Sep 4;9(10):577-89.

Nella ricerca di colmare il **"gap di fibre"** la quantità di fibre è ovviamente importante, ma una domanda chiave è:

Quanto sono importanti la composizione e le proprietà fisico-chimiche della fibra per la salute dell'intestino ?

In altre parole,

Possiamo colmare il "gap di fibre" consumando integratori alimentari fabbricati (come inulina o pectina) o dovremmo mangiare una varietà di alimenti vegetali integrali?

Ad oggi, la maggior parte della ricerca che studia l'effetto della fibra alimentare sul microbiota intestinale si è concentrata sui **carboidrati purificati** e meno si sa su come la fibra insolubile complessa influenzi la crescita batterica e la composizione della comunità. La composizione della parete cellulare varia tra le piante, in particolare tra

cereali tipo II (ricchi di arabinosilano e β -glucano)

non cereali tipo I (ricchi di pectina e xiloglucano).

Puhlmann ML et al. Intrinsic dietary fibers and the gut microbiome: Rediscovering the benefits of the plant cell matrix for human health. Front Immunol. 2022 Aug 18;13:954845.

Un recente studio in vitro condotto da **Marta Calatayud** della *ProDigest*



ha confrontato 22 diverse fonti di fibre ha mostrato che la fibra di grano tende a produrre comunità batteriche più simili rispetto alla fibra di legumi, semi e frutta

Calatayud M et al. Comparative Effect of 22 Dietary Sources of Fiber on Gut Microbiota of Healthy Humans in vitro. Front Nutr. 2021 Jul 2;8:700571.

Poiché i ricercatori hanno misurato solo la fibra alimentare totale e non la composizione della fibra, è difficile valutare in che modo le differenze di composizione tra le piante abbiano influenzato le comunità batteriche.

Diversi microbi nell'intestino variano nella loro capacità di degradare i diversi componenti della fibra alimentare e si verificano ampie interazioni di alimentazione incrociata, sia degli intermedi di degradazione dei carboidrati che dei prodotti di fermentazione come il lattato

Louis P et al. Diversity of human colonic butyrate-producing bacteria revealed by analysis of the butyryl-CoA:acetate CoA-transferase gene. Environ Microbiol. 2010 Feb;12(2):304-14.

Ciò alla fine porta alla produzione principalmente di tre prodotti di fermentazione organici:

Acidi grassi a catena corta

Propionato

Butirrato

che esercitano effetti di promozione della salute sull'ospite umano

Diversi batteri appartenenti al **phylum Firmicutes** sono nutrizionalmente specializzati, come

Ruminococcus bromii per l'amido resistente

Ruminococcus champanellensis per la cellulosa

Lachnospira eligens (recentemente riclassificato da *Eubacterium eligens*) per la pectina

Chung WS et al. Modulation of the human gut microbiota by dietary fibres occurs at the species level. BMC Biol. 2016 Jan 11;14:3.

Molti Bacteroidetes utilizzano una più ampia varietà di fonti di fibre, che si riflette nel loro gran numero e nel vario repertorio di enzimi attivi dei carboidrati I polisaccaridi della parete cellulare nelle piante intere sono legati in modo covalente

Zykwinska AW et al. Evidence for in vitro binding of pectin side chains to cellulose. Plant Physiol. 2005 Sep;139(1):397-407.

Quantità sostanziali dei costituenti solubili della pectina e dell'emicellulosa potrebbero quindi essere legate alla matrice della parete cellulare all'arrivo nell'intestino crasso, e di conseguenza inaccessibili a molti microbi intestinali, poiché la liberazione dei polisaccaridi della parete cellulare probabilmente dipende da degradatori primari come

Rumibococcus champanellensis, che ha sia attività xilanolitica che cellulolitica

Chassard C et al. Ruminococcus champanellensis sp. nov., a cellulose-degrading bacterium from human gut microbiota. Int J Syst Evol Microbiol. 2012 Jan;62(Pt 1):138-143.

Un integratore di fibre alimentari contenente costituenti purificati della parete cellulare potrebbe quindi avere un effetto diverso sul microbiota rispetto a se consumato come parte di una dieta a base vegetale completa e vi è la necessità di comprendere meglio come le caratteristiche fisico-

chimiche e le differenze di composizione della fibra alimentare da diverse piante influenzano la crescita microbica, le interazioni della comunità e la formazione dei metaboliti.

Secondo Fry Quando si prepara il materiale in fibra per la sperimentazione in vitro, dovrebbe essere il più vicino possibile al suo stato naturale dopo essere passato attraverso l'intestino superiore in vivo. È quindi importante utilizzare metodi blandi che portino a un basso degrado del materiale.

La preparazione del *residuo insolubile in alcool (AIR)*, in cui il materiale vegetale viene sospeso in etanolo per rimuovere gli zuccheri semplici e alcune proteine, è un modo semplice e delicato per produrre un pellet ricco di parete cellulare

Fry, S.C. (2018) Cell wall polysaccharide composition and covalent crosslinking. In: P. Ulvskov (Ed.) Annual plant reviews online. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1– 42.

AIR può anche contenere alcune proteine e amido, tuttavia, le loro quantità possono essere quantificate e, se basse, il materiale può essere utilizzato direttamente come substrato di crescita senza la necessità di digestione intestinale superiore in vitro, in quanto è costituito principalmente da polisaccaridi della parete cellulare.

I polisaccaridi vegetali disponibili in commercio vengono spesso estratti con metodi duri, che possono provocare l'alterazione e la rottura del materiale e di conseguenza influenzare la fermentazione e la crescita batterica

Liang P et al.. Corrigendum: Powdery Mildews Are Characterized by Contracted Carbohydrate Metabolism and Diverse Effectors to Adapt to Obligate Biotrophic Lifestyle. Front Microbiol. 2019 Jan 23;10:1.

Il team di **Micahel Solvang** del *The Rowett Institute, University of Aberdeen, Aberdeen, UK.*



ha studiato come la composizione e la complessità delle fibre alimentari e come influiscano sulle comunità microbiche intestinali umane, preparando AIR e pectine da diverse piante e organi vegetali e valutando i loro effetti sulla crescita e sull'attività del microbiota fecale umano durante le incubazioni batch in vitro.

**Beyond purified dietary fibre supplements:
Compositional variation between cell wall fibre from different plants
influences human faecal microbiota activity and growth in vitro.**

Environ Microbiol. 2023 Mar 13.

Il materiale della parete cellulare e la pectina sono stati estratti da cinque diverse fonti di piante dicotiledoni, mele, foglie di barbabietola, barbabietole, carote e cavoli, e l'analisi compositiva ha rivelato differenze nella composizione del monosaccaride.

Le incubazioni di lotti fecali umani sono state condotte con **14 diversi substrati**, inclusi estratti vegetali, crusca di frumento e carboidrati disponibili in commercio.

L'attività microbica è stata determinata fino a 72 ore misurando la produzione di gas e acido di fermentazione, i batteri totali (mediante qPCR) e la composizione della comunità microbica mediante *il sequenziamento dell'amplicone 16S rRNA*.

I substrati più complessi hanno dato origine a una maggiore variazione del microbiota rispetto alle pectine. Il confronto di diversi organi vegetali ha mostrato che le foglie (foglie di barbabietola e cavolo) e le radici (carota e barbabietola) non davano origine a comunità batteriche simili.

Piuttosto, le caratteristiche compositive delle piante, come alti livelli di arabinano nella barbabietola e alti livelli di galattano nella carota, sembrano essere i principali predittori dell'arricchimento batterico sui substrati.

Pertanto, una conoscenza approfondita della composizione delle fibre alimentari dovrebbe aiutare la progettazione di diete incentrate sull'ottimizzazione del microbiota.

Complessivamente il lavoro dimostra che alcune caratteristiche compositive delle piante hanno arricchito diversi batteri durante le incubazioni in vitro, suggerendo che la varietà di fibre alimentari è importante per la diversità batterica.

Nella vita reale, la fibra alimentare di alimenti specifici non viene consumata isolatamente come testato qui, ma consumata come parte di un pasto. L'interazione tra la fibra alimentare e altri costituenti del pasto deve essere meglio compresa, così come i metodi di lavorazione e preparazione degli alimenti che influenzano la struttura delle fibre e le proprietà fisico-chimiche.

Le feci di tre donatori umani sono state qui analizzate per ottenere un'indicazione dell'estensione della variazione interindividuale in risposta a diverse preparazioni di fibre vegetali. Sono state rilevate risposte condivise e differenze tra i donatori, dimostrando che anche le differenze interindividuali nella composizione del microbiota dei donatori hanno svolto un ruolo importante nell'esito della fermentazione, il che sottolinea l'importanza di considerare approcci personalizzati alla modulazione dietetica del microbiota intestinale.

In sintesi colmare il divario di fibre utilizzando una varietà di alimenti vegetali interi, o integratori di fibre potenzialmente più complessi, dovrebbe promuovere un ecosistema microbico diversificato. Una conoscenza approfondita della composizione delle fibre alimentari dovrebbe aiutare la progettazione di diete incentrate sull'ottimizzazione del microbiota.

Per i nutrizionisti

Si consiglia una lettura integrale del lavoro ricca di osservazioni fondamentali per una gestione corretta delle fibre nella formulazione di prtocolli dietetici-nutrizionali

Solvang M, Farquharson FM, Sanhueza D, Horgan G, Russell WR, Louis P.

Beyond purified dietary fibre supplements: Compositional variation between cell wall fibre from different plants influences human faecal microbiota activity and growth in vitro.

Environ Microbiol. 2023 Mar 13.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 26 aprile 2022

Epicrisi di un fallimento: il vaccino mRNA CureVac

Ieri, a proposito del vaccino **mRNA aurtoreplicante Arcturus**, ho accennato all'insuccesso del vaccino COVID-19 prodotto dalla società tedesca CureVac. A stretto giro di mail due amici di Baedeker mi hanno chiesto "cosa è andato storto" nella sperimentazione del "terzo vaccino" a mRNA atteso con speranza e impazienza. Le prestazioni, sorprendentemente mediocri, del vaccino Cure Vac non sono solo una delusione, ma costituiscono un complicato puzzle scientifico la cui soluzione potrebbe darci informazioni preziose: learning by error. Nessun esperimento è mai completamente fallito: può sempre servire da esempio negativo. (Arthur Bloch, Legge della futilità) L' Azienda incolpa l'insuccesso la rapida evoluzione del virus e alla espansione delle varianti, ma diversi osservatori esterni avanzano il sospetto che il design del vaccino sia sbagliato. La delusione è stata grande, molti si aspettavano che il vaccino CureVac, che utilizza l'RNA messaggero (mRNA) per codificare la spike protein del SARS-CoV-2, avesse buone possibilità di diventare una delle nuove armi più potenti contro la pandemia. Ideato e realizzato secondo, la stessa tecnologia mRNA dei vaccini della Pfizer-BioNTech e Moderna, (che hanno dimostrato un'efficacia superiore al 90% nei loro test) presentava alcuni vantaggi pratici di trasporto e conservazione rispetto ai competitors attualmente in uso.

Ma i dati preliminari riferivano che l'efficacia del vaccino CureVac era di un modesto 47% abbastanza basso e deludente al punto tale che, le autorità sanitarie non lo avrebbero utilizzato per l'uso di emergenza. Lo studio di efficacia ha arruolato circa 40.000 persone, di cui circa il 75% in America Latina e il 25% in Europa. Il risultato principale è venuto da un'analisi provvisoria che ha valutato 134 partecipanti e che hanno sviluppato almeno un sintomo COVID-19. Sebbene la società non abbia fornito una ripartizione, l'efficacia riportata del 47% si traduce in circa 88 casi nel gruppo placebo e 46 tra i vaccinati. Si è ipotizzato che le numerose varianti di SARS-CoV-2 in circolazione al tempo della sperimentazione potrebbero spiegare i risultati deludenti. L'mRNA del vaccino è stato progettato per neutralizzare una versione della spike che era dominante tra i virus all'inizio della pandemia, ma che è variata (evoluita?) in seguito all'intervento di molteplici mutazioni. Di fatto allora come adesso stiamo combattendo un virus diverso da quello ancestrale, una pandemia che si è trasformata progressivamente nel giro di 6 mesi. Durante la sperimentazione è stato sequenziato il virus in 124 partecipanti che si sono ammalati e sono state identificate 13 diverse varianti. Inoltre Solo l'1% delle persone infette aveva un SARSCoV-2 il cui picco corrispondeva all'mRNA utilizzato nel vaccino. L'insieme di questi dati impedisce di dimostrare una reale efficacia. Proprio attraverso gli studi di efficacia si è scoperto che alcuni ceppi mutanti del coronavirus possono compromettere la capacità dei vaccini COVID-19 di proteggere da malattie lievi, ma la variante che ha interferito in modo più potente contro gli altri vaccini, la variante Beta, non è stata trovata nello studio CureVac. Al contrario, la variante Alpha, vista per la prima volta nel Regno Unito e rubricata come una delle prime "varianti di preoccupazione", ha causato il 41% dei 124 casi complessivi e il 91% dei 44 casi che si sono verificati in Europa. Tuttavia sono in molti a dubitare che le varianti siano responsabili delle scarse prestazioni del vaccino CureVac. A differenza del vaccino CureVac, i vaccini Pfizer-BioNTech e Moderna funzionano molto bene contro la variante Alpha. CureVac inoltre non ha fornito dati su quanti degli infetti nel suo studio di efficacia hanno sviluppato una malattia grave. I vaccini attuali a mRNA riescono a prevenire la maggior parte dei ricoveri e dei decessi anche quando le varianti riducono la loro protezione contro il COVID-19 lieve. Alcuni scienziati che cercano di dare una spiegazione al risultato di CureVac indicano che già in uno studio precedente di fase 1. ha riportato che i livelli sierici dei anticorpi neutralizzanti, che impediscono al virus di legarsi alle cellule, erano relativamente bassi nei riceventi il vaccino rispetto alle persone che sono state naturalmente infettate dal coronavirus. E' possibile che il tipo di mRNA utilizzato da CureVac possa interferire con la formazione di anticorpi, utilizzando una forma non modificata di mRNA. Quando l'mRNA naturale viene iniettato, innesca la produzione di interferoni, che interagiscono con molecole che possono potenziare il sistema immunitario. Questo è un punto che CureVac ha pubblicizzato come un vantaggio della sua formulazione, anche se è noto che gli interferoni possono anche bloccare la generazione di cellule T helper che, a loro volta, dirigono le cellule B nella produzione di anticorpi. Pfizer BioNTech e Moderna, al contrario, hanno modificato chimicamente gli uracili, uno dei

quattro nucleotidi che compongono l'RNA, nelle sequenze di codifica degli spike. Il team di Drew Weissman del Department of Medicine, University of Pennsylvania aveva dimostrato nel 2018 che l'mRNA modificato con uracile attivava potenti anticorpi neutralizzanti e altre risposte immunitarie protettive nei modelli animali (Pardi N 2018)

Le cellule T follicular helper (Tfh) sono necessarie per sviluppare risposte del centro germinale (GC) e guidare il cambio di classe delle immunoglobuline, la maturazione dell'affinità e la memoria delle cellule B a lungo termine. In questo studio, caratterizziamo una piattaforma vaccinale recentemente sviluppata, mRNA purificato modificato con nucleoside incapsulato in nanoparticelle lipidiche (mRNA-LNPs), che induce alti livelli di cellule Tfh e GC B. Vaccinazione intradermica con mRNA-LNPs modificati con nucleosidi che codificano vari antigeni di superficie virali provocati polifunzionali, antigene-specifici, CD4 +Risposte delle cellule T e potenti risposte anticorpali neutralizzanti nei topi e nei primati non umani. È importante sottolineare che la forte risposta delle cellule Tfh antigene-specifiche e l'alto numero di cellule GC B e plasmacellule erano associati ad anticorpi neutralizzanti di lunga durata e ad alta affinità e a una protezione duratura. Studi comparativi hanno dimostrato che i vaccini mRNA-LNP modificati con nucleosidi hanno superato le prestazioni dei vaccini adiuvati con proteine e virus inattivati e le infezioni da agenti patogeni. L'incorporazione di nucleosidi non infiammatori e modificati nell'mRNA è necessaria per la produzione di grandi quantità di antigene e per risposte immunitarie robuste.

Una possibile spiegazione alternativa è quella di aver utilizzato una dose troppo bassa di vaccino. Peter Kremsner dell'Università di Tubingen che coordina l'attività del CV-NCOV-001 Study Group: ritiene che dal confronto della sicurezza e delle risposte immunitarie si evince chiaramente che le risposte immunitarie generate da dosi comprese tra 2 e 20 microgrammi possono indurre intollerabilità in parte riconducibile all'Uracile naturale (Kremsner PG 2021)

Contesto: abbiamo utilizzato la piattaforma tecnologica RActive® (CureVac NV, Tubinga, Germania) per preparare CVnCoV, un vaccino COVID-19 contenente la codifica dell'mRNA ottimizzato per la sequenza per una forma stabilizzata di proteina spike (S) SARS-CoV-2 incapsulata nei lipidi nanoparticelle (LNP). Metodi: questa è un'analisi intermedia di uno studio di fase 1 sull'aumento del dosaggio in volontari sani di età compresa tra 18 e 60 anni ad Hannover, Monaco e Tubinga, in Germania, e Gand, in Belgio. Dopo aver somministrato 2 dosi intramuscolari di CVnCoV o placebo a distanza di 28 giorni, abbiamo valutato gli eventi avversi locali e sistemici (AE) richiesti per 7 giorni e gli eventi avversi non richiesti per 28 giorni dopo ogni vaccinazione. L'immunogenicità è stata misurata come anticorpi IgG del test di immunoassorbimento enzimatico (ELISA) contro la proteina S SARS-CoV-2 e il dominio di legame del recettore (RBD) e titoli neutralizzanti SARS-CoV-2 (MN 50). Risultati: In 245 volontari che hanno ricevuto 2 vaccinazioni CVnCoV (2 µg, n = 47, 4 µg, n = 48, 6 µg, n = 46, 8 µg, n = 44, 12 µg, n = 28) o placebo (n = 32) non si sono verificati eventi avversi gravi correlati al vaccino. Gli aumenti dose-dipendenti della frequenza e della gravità degli eventi avversi sistemici sollecitati e, in misura minore, degli eventi avversi locali sono stati principalmente lievi o moderati e di durata transitoria. Aumenti dose-dipendenti degli anticorpi IgG contro la proteina S e RBD e MN 50 sono stati evidenti in tutti i gruppi 2 settimane dopo la seconda dose quando il 100% (23/23) si è sierconvertito in proteina S o RBD e l'83% (19/23) sierconvertito per MN 50 nel gruppo 12 µg. Le risposte a 12 µg erano paragonabili a quelle osservate nei sieri convalescenti di pazienti noti con COVID-19.

Conclusioni: in questo studio 2 dosi di CVnCoV erano sicure, con reattogenicità accettabile e dosaggi di 12 µg hanno suscitato livelli di risposta immunitaria che si sovrapponevano a quelli osservati nei sieri convalescenti. Lo studio ha rivelato che l'azienda non dovrebbe usare le dosi più elevate "a causa dell'intollerabilità, forse dovuta all'uracile naturale. CureVac si è stabilizzato su 12 microgrammi, una dose che ha bilanciato il miglior profilo di sicurezza con il più alto livello di anticorpi neutralizzanti. (Il vaccino Pfizer-BioNTech utilizza una dose di 30 microgrammi e quello di Moderna è di 100 microgrammi.) Altri dati suggeriscono, invece, che il disegno del vaccino è più importante della dose. CureVac ha recentemente riportato i dati di uno studio sulle scimmie che ha confrontato il suo attuale vaccino con una versione di nuova generazione, che è più stabile all'interno delle cellule e realizzata in collaborazione con GlaxoSmithKline: il prototipo ha prodotto livelli più elevati della proteina spike, innescando un titolo di anticorpi neutralizzanti 10 volte più alto. Studi sulla dose dei vaccini Pfizer e Moderna hanno anche

dimostrato che dosi più elevate di mRNA offrono guadagni relativamente modesti per quanto concerne i livelli di anticorpi. CureVac ed i suoi ricercatori affermano che la “partita” non è ancora conclusa e confidano molto nell'analisi finale dell'efficacia su uno studio mirato che dovrebbe includere più di 200 casi di COVID-19 prima di decidere di o se ripartire con un vaccino di seconda generazione. *Winston Churchill sosteneva che Il successo è l'abilità di passare da un fallimento all'altro senza perdere l'entusiasmo. Il successo non è definitivo, il fallimento non è fatale: ciò che conta è il coraggio di andare avanti. Accettare il fallimento è un'attitudine da vincenti. (Alain Robert)*

Riferimenti -Pardi N et al Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses. J Exp Med. 2018 Jun 4;215(6):1571-1588. -Kremsner PG et CV-NCOV-001 Study Group Safety and immunogenicity of an mRNA-lipid nanoparticle vaccine candidate against SARS-CoV-2 : A phase 1 randomized clinical trial. Wien Klin Wochenschr. 2021 Sep;133(17-18):931-941.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 26 aprile 2021

I sintomatici sono i principali diffusori della pandemia