



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE

E

FONDAZIONE UNIVERSITARIA IBEROAMERICANA

Valutazione delle Disbiosi intestinali nei pazienti affetti
da tumore al colon retto e conseguenti raccomandazioni
dietetiche

Tesi di master presentata da Rosanna Ravenna per
l'ottenimento del titolo di Master Internazionale di II Livello in
Nutrizione e Dietetica

dott. Rosanna Ravenna

**Relatore:
dott. Emma Espinosa**

Data 21/10/2010

VALUTAZIONE DELLE DISBIOSI INTESTINALI NEI PAZIENTI AFFETTI DA TUMORE AL COLON-RETTO E CONSEGUENTI RACCOMANDAZIONI DIETETICHE

INDICE

Parte I

1. Introduzione e scopo del lavoro
 - 1.1 Ricercatori e collaboratori
2. Il Sistema immunitario intestinale
3. La flora batterica intestinale
 - 3.1 Attività della flora batterica
 - 3.2 Eubiosi e disbiosi
 - 3.3 Candida intestinale

4 Adenocarcinomi del colon-retto

Parte II

1. Materiali e metodi
 - 1.1 Tipo di indagine
 - 1.2 Criteri di inclusione ed esclusione
 - 1.3 Reclutamento
 - 1.4 Analisi effettuate
 - 1.5 Dati
2. Risultati
3. Conclusioni e riflessioni

Parte III

1. Prebiotici e Probiotici
2. Nutrizione e Prevenzione

Bibliografia

PARTE I

1. INTRODUZIONE E SCOPO DEL LAVORO

Studi epidemiologici suggeriscono che l'incidenza del cancro al colon è influenzata oltre che da una storia personale di ereditarietà familiare, da vari fattori ambientali, dallo stile di vita ed in particolare dalla dieta.

Nel colon vi è una abbondante flora batterica che può andare incontro a modificazioni ed essere causa di disturbi intestinali e concorrere all'insorgenza di molte malattie.

Questo lavoro che vede coinvolti l'Istituto Nazionale dei Tumori nella persona del dottor Alberto Vannelli, vari laboratori di analisi specializzati, sostenitori, collaboratori, la sottoscritta e non da ultimi un centinaio di pazienti, ha come OBIETTIVO PRIMARIO la valutazione dello stato della flora batterica intestinale e l'eventuale presenza di Candida nei pazienti affetti da carcinoma al retto prima dell'intervento chirurgico.

Non va peraltro sottovalutata la condizione di disagio alla quale vanno incontro i pazienti sottoposti a trattamento chirurgico per tumori del colon-retto, che oltre la pesante mutilazione alla quale vengono sottoposti, devono affrontare il lungo percorso di terapie oncologiche quali chemio e radioterapia.

Ciò comporta da un lato i sintomi ben noti dovuti all'impatto acuto sull'organismo, anche se oggi sempre meglio controllati dalla somministrazione di farmaci specifici, dall'altro un profondo stato di malessere fisico, oltre che psicologico, che evolve nel medio-lungo periodo e che configura una sindrome che va sotto il nome di "Fatigue".

Questa sindrome, ampiamente sottostimata e non compresa nei suoi meccanismi patogenetici, non ha finora consentito di dare una risposta adeguata allo stato di sofferenza espressa dai malati oncologici.

Da queste considerazioni nasce l'OBIETTIVO SECONDARIO di questo lavoro : dalla raccolta dei dati comprendere più chiaramente come i fondamentali equilibri fisiologici vengano più o meno pesantemente disorganizzati e poter conseguentemente individuare una strategia terapeutica di supporto e i suggerimenti nutrizionali mirati per aiutare i pazienti a riequilibrare la flora batterica intestinale, rimettere in moto le funzionalità fisiologiche e potenziare la risposta del sistema immunitario .

Speriamo che questo lavoro – riconoscendo nella centralità della persona un valore etico e metodologico irrinunciabile – aiuti coloro che vivono l'esperienza del cancro, non solo a ridurre la sofferenza fisica, ma anche a partecipare attivamente al percorso terapeutico e a sostenere la speranza di poter comunque vivere al meglio la propria vita.

1.1 RICERCATORI E COLLABORATORI

- Dott.a Rosanna Ravenna – Dottore in Scienze delle Preparazioni Alimentari – Direttore Centro Ricerche Educazione Alimentare – Milano
- Dott. Alberto Vannelli – Medico Chirurgo – Dirigente medico Chirurgia Generale 2 – Apparato digerente colon retto – Istituto Nazionale dei Tumori – Milano
- Daniele Vietti – C.E O. Driatec – Milano
- Dott. Giuseppe Di Fede – Direttore Istituto Medicina Preventiva Genetica – Milano
- Dott. Nicola Locorotondo – Direttore Laboratorio Analisi Cliniche – Palermo
- Dott. Giulio Pravettoni – Direttore Tecnico Gife Italia- Busto Arsizio
- Prof.Roberto Accinni – Primo ricercatore – CNR
- Dott.a Cinzia Dellanoce – Coll.tecnico – Istituto Fisiologia Clinica - CNR

2. IL SISTEMA IMMUNITARIO INTESTINALE

L'intestino con la sua estesa area di contatto con i prodotti della digestione (circa 300 metri quadrati di superficie), rappresenta uno degli organi più importanti del corpo.

Svolge funzioni digestive, di assorbimento, escrezione ed è anche sede di un importante fronte immunitario: il GALT (Gult Associated Lymphoid Tissue).

Questa funzione immunologica è talmente importante tanto che l'intestino è considerato a ragion veduta diretto responsabile del nostro stato generale di salute.

La sua superficie interna è ricoperta da un pavimento di cellule (epitelio colonnare) che permette un efficiente assorbimento dei nutrienti che derivano dalla digestione ma viene anche in contatto con una grande quantità di batteri, microorganismi potenzialmente dannosi, tossine, parassiti .

La barriera principale contro la minaccia degli antigeni è rappresentata dalla Mucosa intestinale che interviene sommando fattori protettivi non specifici e immunologici.

Accanto all'effetto barriera meccanico della lamina epiteliale mucosa, sono presenti le funzioni difensive NON immunologiche apportate da muco, lisozima, secrezioni gastriche contenenti pepsina e acidi, la normale peristalsi, ed i veri e propri processi immunologici.

La somma di tutte le varie funzioni protettive meccaniche, umorali e immunologiche, può venire definito "blocco della Mucosa".

La risposta immunologica in sede intestinale è rappresentata da numerose strutture e cellule specializzate:

- Linfociti
- Plasmacellule
- Macrofagi
- Placche di Peyer
- Linfonodi mesenterici

Va anche precisato che la barriera data dalla Mucosa non riesce a mantenere un completo isolamento tra l'interno e l'esterno del lume intestinale.

Si verifica infatti un continuo transito di una notevole quantità di sostanze estranee che espongono l'organismo all'aggressione ed alla sollecitazione antigenica batterica ,alimentare, virale.

La funzione specifica del GALT è consentire l'assorbimento di sostanze nutritive senza che si verifichino reazioni immunitarie nocive per l'ospite (tolleranza immunologica) e nel contempo rendere inoffensivi i microorganismi patogeni e le eventuali sostanze tossiche introdotte con l'alimentazione.

Il sito di Tolleranza immunologica può essere identificato nelle Placche di Peyer che sintetizzano fondamentalmente le IgA secrete capaci di arrestare l'assorbimento delle proteine estranee e prevenire così l'insorgenza di una sensibilizzazione mediata dalle IgE.

Nel caso venga meno la tolleranza immunologica nei confronti di alcune proteine alimentari ,si possono presentare come conseguenza alcune patologie alimentari come ad esempio la Celiachia,in cui le cellule immunitarie intestinali reagiscono contro la Gliadina (proteina componente il glutine) e innescano una reazione immunitaria con tutte le manifestazioni e i disturbi che ne derivano.

Da ciò si comprende quanto sia importante la relazione tra il GALT ed il Sistema immunitario dell'intero organismo e quanto questa sia coinvolta nella patogenesi delle malattie sia intestinali che sistemiche.

3. LA FLORA BATTERICA INTESTINALE

La Microflora intestinale è un sistema biologico costituito da miliardi di batteri che popolano l'intestino.

Ad oggi sono stati identificati almeno 500 specie di batteri diversi sia aerobi che anaerobi.

La concentrazione della flora varia lungo il tubo digerente aumentando in modo esponenziale man mano che si scende dalla bocca all'ultimo tratto dell'intestino.

Nello stomaco e nel primo tratto del duodeno si ha una bassa concentrazione di batteri (10-10 alla quarta per grammo di contenuto) dovuta essenzialmente dalla presenza di un ph acido,bile, succo pancreatico che non favoriscono il loro sviluppo.

In più i movimenti peristaltici impediscono una colonizzazione stabile.

Nel digiuno ,quando la flora è presente, è costituita da **lattobacilli ed Enterococchi** , mentre sono rari e solitamente transitori i coliformi.

L'ileo rappresenta una zona di transizione tra la rara flora gastrica e quella molto ricca del grosso intestino con la comparsa di **Enterobatteri** e anaerobi stretti come **Bifidobatteri e Bacterioidi** in concentrazione di 10 alla 6.

A livello della valvola ileo-cecale si ha il cambiamento più significativo: i batteri aumentano sino a 10 alla 9 per grammo.

Nel colon la concentrazione dei batteri aumenta considerevolmente sino ad arrivare a 10 alla 12 nel colon sinistro con una prevalenza di flora anaerobica costituita per il 95-99% da **Bifidobatteri, Bacterioidi, Enterobatteri, Peptostreptococchi, Clostridi**.

In questo tratto dell'intestino la flora è costituita sia da batteri che degradano alcuni carboidrati (flora saccarolitica) per fermentazione, sia da batteri che degradano le proteine per putrefazione (flora proteolitica).

La colonizzazione del lume intestinale avviene al momento della nascita e la tipologia dei batteri è essenzialmente dovuta al tipo di parto, alimentazione e da condizioni socio ambientali. A poche ore dalla nascita iniziano a svilupparsi batteri aerobi (coliformi, streptococchi, lattobacilli, enterococchi) mentre a 10-11 giorni dalla nascita compaiono i Bacteroides. Questi ultimi rappresentano la flora batterica definitiva che non subirà grandi modificazioni in situazioni di normalità.

3.1 ATTIVITA' DELLA FLORA BATTERICA

Le principali attività svolte dalla flora batterica a livello intestinale sono molteplici

- **Funzione metabolica** – Costituita essenzialmente dalla metabolizzazione degli zuccheri, proteine, acidi biliari e produzione di vitamine.

-

La fermentazione- Il terreno di crescita ottimale per la maggioranza dei batteri intestinali è rappresentato dai carboidrati complessi (amidi, cellulosa, emicellulosa, pectine, lignina, gomme, amidi non digeribili) .

Durante il processo fermentativo, essenzialmente anaerobio, vengono prodotti, soprattutto da parte dei **Bifidobatteri e Lattobacilli acidi grassi a corta catena (SCFA)** e **gas** (H₂, CO₂, CH₄, H₂S).

Gli SCFA (acido propionico, acetico, butirrico) sono una importante fonte di energia per la mucosa intestinale, stimolano lo sviluppo del sistema immunitario, intervengono nel metabolismo degli zuccheri migliorando la sensibilità all'insulina, acidificano l'ambiente intestinale impedendo la proliferazione dei germi patogeni, aumentano il flusso ematico, aumentano la motilità intestinale e favoriscono il riassorbimento di acqua e di ioni.

La putrefazione – Per alcune specie batteriche la crescita avviene anche su un substrato costituito da peptidi e proteine con l'utilizzazione degli amminoacidi che li costituiscono.

Ciò porta alla formazione di sostanze potenzialmente tossiche, quali ammoniaca, amine, fenoli, tioli, indoli e gas.

La fermentazione avviene essenzialmente nel cieco e nel colon ascendente dove l'ambiente è più acido in quanto prevale la flora saccarolitica .

La putrefazione invece prevale nel colon distale dove il pH è tendente alla neutralità.

Metabolizzazione degli acidi biliari – La microflora intestinale è coinvolta anche nei processi di metabolizzazione degli acidi biliari stimolandone così il ricambio fisiologico. L'acido colico e il chenodesossicolico sintetizzati dal fegato e secreti con la bile, vengono trasformati a livello intestinale in acidi biliari secondari, il desossicolico ed il litocolico.

Questi a loro volta vengono sequestrati all'interno del lume intestinale, eliminati con le feci e resi indisponibili per il circolo enteropatico.

Produzione di vitamine - La popolazione batterica è responsabile della sintesi di numerose vitamine: K, vitamine del gruppo B, acido folico, biotina, acido pantotenico, vitamina C. E' in grado di utilizzare le vitamine introdotte con la dieta. E' noto infatti come la somministrazione di alcuni farmaci, soprattutto antibiotici e sulfamidici, in grado di alterare la normale flora batterica, possa determinare una situazione di disvitaminosi

La funzione trofica – Si esplica essenzialmente attraverso la proliferazione e la differenziazione delle cellule epiteliali (ad opera dei SFCA) e attraverso la maturazione e la stimolazione del GALT. Molti studi hanno evidenziato la complessa interazione tra la flora batterica ed il GALT di fondamentale importanza sin dalla nascita.

La funzione protettiva – Dovuta all'effetto fisico di barriera che impedisce l'adesione e la penetrazione tissutale di germi patogeni e sostanze nocive.

I meccanismi di questa funzione possono comprendere: la competizione nell'uso dei substrati, la produzione di sostanze antimicrobiche (battericine, H₂O₂), l'abbassamento del pH del lume intestinale attraverso la produzione di SFCA, la detossificazione da carcinogeni.

Questa funzione protettiva, come già sottolineato, si esplica anche attraverso l'immunomodulazione con aumento della risposta anticorpale specifica.

Tabella 1. Proprietà Metabolico fisiologiche dei principali generi di batteri nell'ecosistema intestinale (R.Giuberti, H. Rainer-Med Funzionale, 2005)

GENERI DI BATTERI	FUNZIONI METABOLICO-FISIOLOGICHE	FUNZIONI ALL'INTERNO DELLA FLORA INTESTINALE
E. Coli (aerobio – anaerobio facoltativo)	-utilizzo glucidi -utilizzo proteine -indolo +	-alcalinizzazione dell'ambiente intestinale in caso di dieta ricca di proteine -acidificazione in caso di dieta ricca di glucidi -stimolazione difesa immunitaria -preparazione dell'ambiente per microrganismi anaerobi stretti
Klebsiella Enterobacter Citrobacter Proteus (aerobi facoltativi)	-utilizzo di glucidi -utilizzo di proteine (flora putrefattiva) -indolo+	-alcalinizzazione dell'ambiente intestinale -danneggiamento della mucosa intestinale causa produzione di metaboliti tossici e sovraccarico epatico
Pseudomonas (aerobio e anaerobio fac.) P.aeruginosa patogena	-utilizzo glucidi -utilizzo proteine (flora putrefattiva) -indolo+	-alcalinizzazione ambiente intestinale -danneggiamento della mucosa intestinale per produzione di metaboliti tossici e sovraccarico epatico
Enterococchi (anaerobi fac)	-utilizzo dei glucidi (flora acidificante) -utilizzo proteine -indolo+	-soprattutto acidificazione dell'ambiente intestinale -antagonista della flora putrefattiva (soprattutto nel tenue) -responsabile della resistenza alla

		colonizzazione del tenue -stimolazione della difesa immunitaria
Lattobacilli(anaerobi fac) *	-utilizzo dei glucidi (flora acidificante pura) -indolo --	-acidificazione dell'ambiente intestinale -antagonista della flora putrefattiva soprattutto nel tenue) -neutralizzazione dei metaboliti alcalini -principale responsabile della resistenza alla colonizzazione del tenue -attivazione dei macrofagi
Bacteroides(anaerobi stretti) *	-utilizzo dei glucidi -utilizzo di proteine -ph ideale 7-8 -indolo--	-principale responsabile della resistenza alla colonizzazione del crasso -produzione di sostanze nutritive per la mucosa del colon (SFCA)
Bifidobatteri(anaerobi stretti) *	-utilizzo dei glucidi (flora acidificante pura) -ph ideale circa 6 -indolo--	-principale responsabile della resistenza alla colonizzazione nel crasso -antagonista della flora putrefattiva -neutralizzazione dei metaboliti alcalini -produttore di vit. B1 -produzione di sostanze nutritive per la mucosa del colon (SCFA)
Clostridi(anaerobi stretti) C.perfringens,C.difficile :patogeni	-utilizzo di proteine e grassi (flora putrefattiva) -indolo+	-alcalinizzazione del contenuto intestinale -danneggiamento della mucosa intestinale per produzione di metaboliti tossici e sub tossici con sovraccarico epatico

* Batteri utili all'eubiosi

3.2 EUBIOSI e DISBIOSI

L'Eubiosi della flora batterica intestinale è data dal giusto equilibrio di crescita tra flora batterica aerobica e anaerobica capace di mantenere il giusto ph intestinale e di garantire l'equilibrio tra le specie batteriche attraverso l'utilizzo di un terreno glucidico e/o proteico.

E' di fondamentale importanza che venga mantenuto l'equilibrio tra i batteri ad azione nociva (Pseudomonas aeruginosa, Stafilococcus,Clostridium,Proteus),i batteri ad azione protettiva che diventano nocivi in particolari condizioni (Escherichia Coli, Enterococchi,Streptococchi, Batteroidi) e i batteri ad azione protettiva (Lactobacillus, Bifidobacterium, Eubacterium).

I ceppi patogeni sono caratterizzati dalla capacità di produrre tossine, superare la barriera intestinale, produrre sostanze ad azione cancerogena. In caso di giusto equilibrio(Eubiosi),le loro attività metaboliche vengono inibite dalla flora protettiva.

La rottura dell'equilibrio dell'eco-sistema microbico intestinale,conosciuto come Disbiosi, avviene con un meccanismo spesso multifattoriale .

Tabella 2. Principali cause di alterazione della flora batterica intestinale

ALIMENTAZIONE E TOSSINE ALIMENTARI - Carenza di fibre e vegetali - Eccesso di zuccheri - Allergie ed intolleranze alimentari (es. al lattosio e glutine) - Coloranti e conservanti - Aflatossine - Malnutrizione
TOSSINE AMBIENTALI - Intossicazione da metalli pesanti (Pb,Hg.Cd) - Pesticidi
FATTORI IATROGENI - Antibiotici,sulfamidici - Cortisonici,immunosoppressori - Radioterapia - Prolungate terapie con antisecretori
FATTORI ANATOMICI - Ostruzione intestinale congenita - Stenosi intestinale acquisita - Diverticolosi - Alterazioni post-chirurgiche - Stomie e by-pass
DISTURBI FUNZIONALI CRONICI - Iper e ipo-cloridria - Pancreopatie e patologie delle vie biliari - Sclerodermia - Sindrome da maleassorbimento - Neuropatie - Diabete
GRAVI INFEZIONI INTESTINALI - Ameba - Helicobacter pylori - Salmonella - Streptococchi e stafilococchi - Micosi intestinali - Rotavirus
STATI DI STRESS - Traumi psichici

Nel caso in cui alcuni dei fattori elencati in Tabella 2 influenzino negativamente l'equilibrio esistente tra le varie specie di flora batterica, si può verificare la **proliferazione di specie patogene** (Proteus,E.coli, Streptococco patogeno etc). Queste a loro volta attraverso un processo putrefattivo danno luogo alla **formazione di sostanze endotossiche** (ammoniaca, indolo, scatolo, fenoli) che raggiungono il fegato e compromettono la **funzionalità epatica**.

Lesioni della barriera intestinale,frequentemente imputabili a malattie infiammatorie intestinali

(quali colite ulcerosa, Morbo di Crohn), possono permettere il passaggio attraverso la mucosa di batteri contenuti nel lume (generalmente batteri aerobi gram negativi come E.Coli, Proteus, Klebsiella). Questo fenomeno è definito **traslocazione**.

Dopo aver attraversato la mucosa, i batteri possono raggiungere i linfonodi mesenterici, la milza ed il fegato attraverso i vasi linfatici e quindi disseminarsi nell'organismo provocando **sepsi**.

La Disbiosi del tratto intestinale si evidenzia quando compaiono disturbi quali: gonfiori addominali, meteorismo, flatulenza, digestione lenta, stitichezza, crampi addominali, diarrea.

Sono anche attribuibili ad uno stato di cattivo equilibrio della flora: cistiti ricorrenti, vaginiti, candida, eruzioni cutanee, alitosi, infezioni del cavo orale, intolleranze ed allergie alimentari.

Possiamo distinguere una Disbiosi fermentativa ed una Disbiosi putrefattiva.

Disbiosi fermentativa – Favorita da una dieta ricca di carboidrati e da una cattiva ed incompleta digestione degli stessi, si sviluppa soprattutto nel cieco e nel colon ascendente ad opera dei batteri che idrolizzano gli zuccheri che non sono stati assorbiti.

I prodotti della fermentazione sono: acido lattico, acido acetico, acqua, anidride carbonica.

Disbiosi putrefattiva – Favorita da una dieta prevalentemente ricca di proteine e grassi e molto povera di fibre. In questo caso gli amminoacidi che derivano da una digestione incompleta delle proteine, vengono decarbossilati dalla flora batterica con produzione di ammine tossiche . In particolare da arginina deriva **agmatina**, da cistina e cisteina il **mercaptano**, da istidina **istamina**, da lisina **cadaverina**, da ornitina **putrescina**, da tirosina **tiramina**, da triptofano **indolo e scatolo**.

Molte di queste ammine sono dei potenti vasocostrittori e sono potenzialmente responsabili di moltissime patologie del colon. Producono un indebolimento del sistema immunitario rendendo l'organismo facile preda di molte malattie.

Indolo e scatolo sono responsabili in gran parte dell'odore di putrefatto delle feci.

3.3 CANDIDA INTESTINALE

La Candida è un fungo saprofita appartenente alla famiglia dei Saccaromiceti.

Esistono vari tipi di Candida, ma quella che normalmente si trova nel cavo orale, nel tratto gastrointestinale e nella vagina , appartiene alla specie **Candida Albicans**.

Questa specie di Candida provoca circa il 90% di tutte le micosi.

Ha la caratteristica di presentare una forte aderenza ai vari tipi di mucose e può penetrare attivamente nell'epitelio con l'aiuto degli isoenzimi che provocano la lisi delle membrane plasmatiche.

Essendo ospite abituale dell'intestino, non ha una virulenza particolarmente elevata : un organismo sano normalmente è in grado di opporsi alla sua invasione.

Al contrario, in un fisico debilitato, immunodepresso o sottoposto a lunghe cure antibiotiche, la Candida da spora si trasforma in micete e si moltiplica in modo anomalo e, attraverso l'intestino, può raggiungere il sangue dove libera le proprie tossine provocando candidosi.

Sintomi

- . *Alterata qualità delle feci* - Spesso i pazienti lamentano feci molli e sformate
- . *Flatulenza, gonfiore addominale* – I lieviti producono gas nel tratto gastrointestinale tanto da comprimere il diaframma e causare il respiro corto e affannoso.
- . *Eczema anale e prurito perianale*
- . *Attacchi di fame immotivati*
- . *Intolleranza all'alcool*
- . *Intolleranze alimentari* – Spesso è stata riscontrata l'intolleranza ai lieviti
- . *Micosi vaginali*
- . *Carenza di Ferro e Zinco*
- . *Alopecia*

A causa della stretta relazione tra intestino, sistema immunitario e sistema endocrino si possono manifestare sintomi quali : *depressione, stanchezza, irritabilità, insonnia, perdita della memoria, mal di testa.*

Cause della candidosi

- . *Disbiosi intestinale* – Causa di un intestino in cattive condizioni di flora batterica
- . *Alimentazione ricca di zuccheri e povera di fibre* – Ideale substrato nutritivo per i lieviti
- . *Terapie antibiotiche ed antibatteriche* – Principali cause di danneggiamento della flora eubiotica intestinale e conseguente disbiosi
- . *Radioterapie e chemioterapie* – Spesso causa di mugugno del cavo orale
- . *Componente psico-emotiva alterata*

4. ADENOCARCINOMI DEL COLON-RETTO

Il cancro al colon è una delle più comuni patologie nei Paesi occidentali e rappresenta il terzo tumore maligno per incidenza e mortalità, dopo quello della mammella nella donna e quello del polmone nell'uomo.

E' dovuto alla proliferazione incontrollata delle cellule della mucosa che rivestono questo organo.

La malattia, abbastanza rara prima dei 40 anni, si presenta più frequentemente a partire dai 60 anni, e raggiunge il picco massimo verso gli 80 anni.

I sintomi sono poco evidenti e spesso finiscono per essere identificati quando il tumore è in fase avanzata.

Risulta quindi di primaria importanza la **diagnosi precoce** che permetterebbe grazie ad un intervento chirurgico mirato, la guarigione nella quasi totalità dei casi.

Questo tipo di cancro ha un precursore benigno che è rappresentato dagli adenomi. La sequenza adenoma-carcinoma è un processo di trasformazione che può evolvere nell'arco di 10 anni.

Il 95% dei cancri al colon origina dagli adenomi che possono nascere sulla mucosa in qualsiasi punto del colon-retto.

Con l'asportazione degli adenomi (polipi) si attua la prevenzione allo sviluppo dei tumori futuri.

Da queste considerazioni si evince l'importanza della prevenzione che si può attuare attraverso la **colonscopia**, che rappresenta lo strumento più idoneo perché permette di effettuare simultaneamente la diagnosi e la prevenzione con l'asportazione dei polipi.

Un efficace programma di **prevenzione** prevede l'attuazione di misure dello *stile di vita* che permettono la riduzione del rischio di ammalarsi di tumore.

Prima fra tutte è rispettare una buona e corretta alimentazione che, come vedremo dai risultati di questo lavoro, deve privilegiare cibi sani ricchi di fibre e limitare l'assunzione di grassi e proteine animali.

PARTE II

1. MATERIALI E METODI

1.1 TIPO DI INDAGINE

L'indagine clinica progettata è stata di tipo sperimentale prospettico

1.2 CRITERI DI INCLUSIONE ED ESCLUSIONE

Inclusione

- . Pazienti di entrambi i sessi affetti da adenocarcinoma entro i 15 cm dal margine anale
- . Pazienti con età compresa tra 18 e 70 anni
- . Pazienti candidati a intervento chirurgico radicale
- . Consenso informato scritto alla partecipazione allo studio
- . Pazienti in grado di comprendere ed eseguire la raccolta di campioni biologici

Esclusione

- . Pazienti di entrambi i sessi affetti da adenocarcinoma oltre i 15 cm. Dal margine anale
- . Pazienti candidati a trattamento neoadiuvante
- . Pazienti candidati a intervento chirurgico radicale con enterotomia definitiva
- . Pazienti non in grado di comprendere ed eseguire la raccolta di campioni biologici

1.3 RECLUTAMENTO

In totale sono stati reclutati **96 pazienti : 56 maschi e 40 femmine**. Tutti ricoverati presso la Struttura Complessa di Chirurgia colon-rettale dell'Istituto Nazionale dei Tumori di Milano . Il reclutamento ha avuto inizio a luglio del 2008 ed è terminato a marzo del 2009.

1.4 ANALISI EFFETTUATE

Sono stati prelevati campioni di liquidi biologici: **urine e feci** nei giorni immediatamente precedenti all'intervento chirurgico.

Urine : i campioni sono stati sottoposti ad un'indagine per la ricerca di particolari metaboliti : *Indicano e Scatolo*.

Indicano è stato dosato con una metodica analitica colorimetrica

Lo Scatolo è stato determinato con metodica cromatografica

Questi due prodotti derivano dalla decomposizione del triptofano, amminoacido essenziale contenuto prevalentemente nelle proteine di origine animale.

Il Triptofano viene dealcolato a Scatolo che a sua volta è precursore dell'Indicano.

I campioni di urina di soggetti sani contengono da 4 a 20 mg. di Indicano.

Valori superiori denotano una

. putrefazione intestinale anomala

.una flora batterica intestinale molto povera di Lattobacilli

.un eccessivo consumo di proteine e grassi

.proteine mal digerite

.ipocloridria

.disbiosi intestinale

La lettura degli esiti attribuisce:

Indicano	10-20 mg/l	Disbiosi lieve
Indicano	20-40 mg/l	Disbiosi media
Indicano	oltre 40 mg/l	Disbiosi grave
Scatolo	10-20 mg/l	Disbiosi lieve
Scatolo	20-40 mg/l	Disbiosi media
Scatolo	oltre 40 mg/l	Disbiosi grave

-La disbiosi lieve è indice di un iniziale disequilibrio della flora batterica e tossiemia, possibilità di ipocloridria

- La Disbiosi media è indice di disbiosi conclamata, ipocloridria di tipo funzionale, irritazione del colon

- La Disbiosi grave è indice di esagerata crescita della flora putrefattiva intestinale, malassorbimento ed incapacità di digestione del tratto gastro-intestinale: le proteine sono mal digerite e vi può essere difficoltà ad emulsionare i grassi.

PH urinario – E' stato misurato il ph delle urine del mattino.

Un ph fortemente acido (inferiore a 5,9) suggerisce il sospetto di una acidosi metabolica, spesso causa di numerosi disturbi dell'organismo .

Si renderanno quindi necessari degli accertamenti, quali:

- studio del ph di più campioni di urine nel corso della giornata
- studio della funzionalità renale
- analisi del regime dietetico

Feci - Campioni di feci sono stati prelevati il giorno prima della preparazione intestinale per l'intervento chirurgico.

E' stato effettuato un esame colturale per lo sviluppo di Candida albicans : la conta delle colonie di Candida può permettere di capire se questo lievito avrà la possibilità di proliferare dopo le terapie di chemio e radio.

1.5 DATI

Tutti i dati relativi agli esami ed ai tests di ogni soggetto arruolato, sono stati registrati in un Database in modo da consentire elaborazioni statistiche.

2. RISULTATI

Tabella 3. DISBIOSI PUTREFATTIVA
n° PAZIENTI 83

	NON RILEVANTE	%	LIEVE	%	MEDIA	%	GRAVE	%
INDICANO	23	28	25	30	15	18	20	24
SCATOLO	51	61	18	22	5	6	9	11
INDICANO + SCATOLO	24	29	17	20	17	20	25	30
N° PAZIENTI CON DISBIOSI	59	71						

Tabella 4. PARAMETRI RILEVATI

	n. PAZIENTI	POSITIVI	%
CANDIDA	85	38	45
ACIDOSI METABOLICA pH urinario $\leq 5,8$	88	50	57
GLICEMIA ALTA ≥ 110 mg/dL	89	16	18

Tabella 5. CORRELAZIONI SIGNIFICATIVE (n. =83)

	n. PAZIENTI	%
CANDIDA E ACIDOSI METABOLICA	22	27
DISBIOSI E ACIDOSI METABOLICA	17	20

3. CONCLUSIONI E RIFLESSIONI

Dalla lettura dei risultati si evince che più del 70 % dei pazienti presenta disbiosi intestinale e quindi un'anormale crescita della flora batterica con produzione di metaboliti tossici.

Di questo 70 %, la maggior parte accusa una grave putrefazione intestinale dovuta essenzialmente ad un consumo alimentare prevalentemente proteico e parte delle proteine assunte arrivano indigerite nel colon.

Poiché spesso la cattiva digestione delle proteine è indice di un basso livello di acidità nello stomaco (ipocloridria), risulta conseguente, per la cura delle disbiosi, il trattamento delle eventuali dispepsie.

I processi putrefattivi del colon comportano, per un'aumentata attività metabolica dei batteri colici, un'esaltazione dei processi enzimatici che convertono gli acidi biliari primari in secondari; *questi agiscono come fattori di produzione dei tumori del colon.*

Ripopolare un intestino che ha subito asportazione di un adenocarcinoma con una Flora batterica probiotica, risulta pratica buona e necessaria.

Il 45% dei pazienti presenta anche spore di Candida nelle feci. Questo presuppone la possibilità di sviluppare candidosi durante le terapie chemio e radioterapiche che inducono naturalmente una immunodepressione.

Grazie ad una scelta alimentare di qualità che deve privilegiare il consumo di frutta e verdura cruda, legumi e cereali integrali, pesce ricco di acidi grassi omega 3 (dalle proprietà antinfiammatorie), l'eventuale assunzione di vitamine antiossidanti e minerali (sempre dietro consiglio del proprio medico curante) e l'abolizione di alimenti come i prodotti lievitati e gli zuccheri (che sostengono la candidosi), è possibile effettuare una buona prevenzione ed un buon controllo sullo sviluppo improprio della Candida.

Il 57% dei pazienti è affetto da acidosi metabolica, condizione che, se protratta negli anni produce una gran varietà di disturbi. Poiché mantenere il ph corporeo intorno a 7,4 è una priorità assoluta per la vita, il corpo fa di tutto per riportare il ph a questo valore anche quando l'introito di alimenti acidificanti (zucchero, proteine animali, grassi animali, cereali raffinati, legumi, caffè, tè, cacao, alcolici, semi oleosi) è in eccesso rispetto a quelli alcalinizzanti (verdura, frutta, latte, acqua).

L'organismo quindi attinge alle basi minerali che costituiscono i suoi stessi tessuti depauperandoli e rendendoli più fragili .

Anche in questo caso l'alimentazione è chiamata a svolgere un ruolo chiave di prevenzione e cura.

PARTE III

1. PREBIOTICI E PROBIOTICI :

Probiotici e Prebiotici fanno parte del gruppo di molecole a valenza "funzionale", cioè producono effetti positivi all'organismo.

Influenzano favorevolmente la flora intestinale e conseguentemente stimolano il sistema immunitario sia localmente che in generale.

I *Prebiotici* sono definiti : “ ingredienti non digeribili degli alimenti che promuovono selettivamente la crescita e/o l'attività metabolica di una o più specie batteriche, tra quelle già presenti nel colon, ritenute benefiche per l'ospite”.

Producendo i metaboliti utili all'ecosistema del colon , essi favoriscono la fermentazione della flora batterica intestinale.

Sono costituiti essenzialmente da carboidrati non digeribili che agiscono con due meccanismi:

- osmotico : richiamano acqua nel colon e idratando il materiale intestinale, migliorano le funzioni dell'intestino
- metabolico : regolano la digestione degli zuccheri e dei lipidi introdotti con la dieta

Sono Prebiotici : *fructani o frutto-oligo-saccaridi (FOS) come inulina e guar, lo xilitolo, il sorbitolo, il lattulosio, le pectine.*

Il loro utilizzo ha lo scopo primario di modificare la composizione della microflora commensale stimolando la colonizzazione da parte dei batteri che svolgono una accertata azione vantaggiosa nei confronti dell'organismo.

Da studi sperimentali si è constatato un importante incremento dei Bifidobatteri e dei Lattobacilli a scapito dell'Escherichia coli e dei Clostridi.

I prebiotici sono quindi degli utili substrati in grado di influenzare il sistema immunitario.

Altro aspetto da non sottovalutare è che la fermentazione di questi substrati stimola i Bifidobatteri e i Lattobacilli alla produzione di acidi grassi a corta catena (SCFA) . Il più importante di questi acidi grassi è l' *acido butirrico* che costituisce il 70% del substrato energetico dei colonciti.

Oltre all'azione trofica sulla mucosa il butirrico è in grado di ridurre la capacità di trasformazione delle cellule neoplastiche.

I *Probiotici* sono definiti :” microorganismi vivi e vitali che conferiscono benefici alla salute dell'ospite quando consumati, in adeguate quantità, come parte di un alimento o di un integratore “.

(www.ministerosalute.it/alimenti/nutrizione).

Questa definizione ricalca quella fornita da un documento FAO/WHO pubblicato nel 2001 e ha quindi rispondenza anche a livello internazionale.

L'autorizzazione all'utilizzo dei probiotici è oggi basata sul rispetto di criteri definiti dalle linee guida internazionali quali: *identificazione-sicurezza-efficacia*

E' importante considerare che le proprietà probiotiche sono caratteristiche del singolo ceppo studiato e non possono essere estese ad altri individui batterici, anche se appartenenti alla stessa specie.

I tests *in vitro ed in vivo* sono necessari per determinare la sicurezza e le caratteristiche funzionali richieste ad un probiotico

- resistenza all'acidità gastrica ed alla bile
- adesione al muco e/o alle cellule intestinali
- attività antimicrobica contro ceppi patogeni

- riduzione dell'adesione dei patogeni
- attività idrolasica dei Sali biliari

L'attestazione della sicurezza dei probiotici è necessaria per evitare l'insorgenza di eventuali infezioni sistemiche, attività metaboliche nocive, eccessiva stimolazione immunitaria, trasferimento di geni.

I probiotici oggi più utilizzati e studiati appartengono ai generi : Lactobacillus e Bifidobacterium. Sono di comprovata sicurezza in quanto, normalmente, fanno parte della nostra flora batterica commensale.

Tabella 6. Proprietà benefiche dei probiotici

Inibizione della crescita di batteri patogeni
- riduzione del ph luminale - produzione di batteriocine - resistenza alla colonizzazione - blocco dell'adesione epiteliale
Incremento dell'effetto protettivo di barriera
- produzione di acidi grassi a corta catena SCFA - aumento della produzione di muco - regolazione della permeabilità mucosa - competizione con i siti di adesione dei patogeni e con i recettori delle tossine
Modificazione dell'immunoregolazione
- incremento di IL-10 - incremento della secrezione di IgA
Proprietà fisiologiche
- miglioramento dei processi digestivi - supporto della funzionalità intestinale in caso di alterazione dell'alvo - favoriscono l'assorbimento di Ca e altri minerali - stimolano la sintesi di vitamine endogene - promuovono produzione di enzimi come la lattasi - modulano l'assorbimento di colesterolo

Tabella 7. Specie Probiotiche di maggiore utilizzo

Specie	Aree preferenziali di attività	Proprietà'
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	"antrum" dello stomaco e duodeno	Facilita digestione del lattosio, produce ac. lattico da fermentazione del glucosio, potente inibitore dei batteri patogeni, contrasta Helicobacter Pylori, contribuisce alla sintesi delle vit. Gruppo B
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	colon	Inibisce maggior parte dei patogeni, antidiarroico, elabora i carboidrati con produzione di SCFA, rafforza sist. immunitario
<i>Lactobacillus casei</i> e	tenue	Immunostimolante, ristabilisce equilibrio tra

<i>paracasei</i>		TH1(immunità cellulo-mediata)e TH2(immunità umorale)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	colon	Contrasta i Clostridi ed altri batteri produttori di metano e CO ₂ , indicato per chi soffre di meteorismo e per chi ha una alimentazione ricca di fibre
<i>Lactobacillus salivarius</i>	colon	Modulatore dell'inflammazione intestinale, ripristina la funzionalità e la fisiologia della mucosa
<i>Bifidobacterium lactis,breve,bifidum,infantis</i>	tenue	Protezione biologica contro batteri patogeni, contrastano batteri gasogeni e quindi prevengono formazione di gas intestinale, produzione vit. Gruppo B, stimolazione dei movimenti peristaltici e prevenzione di costipazione(feci dure), prevenzione di enteriti e diarree infantili, stimolazione sist. Immunitario, eliminazione di sostanze azotate come ammoniaca,nitriti, nitrati e tossine derivati dai processi di putrefazione ad opera di batteri proteolitici
<i>Enterococcus faecium</i>	Gastro-duodenale	Resistente a molti antibiotici, inibisce la crescita di molti batteri opportunisti e patogeni (E.coli, Stafilococco aureo) tramite meccanismo di sopraffazione numerica, antidiarroico

La combinazione di Probiotici e Prebiotici prende il nome di *Simbiotico*.

Numerosi studi su animali da laboratorio hanno dimostrato come l'aggiunta nella dieta di Simbiotici sia in grado di ridurre il cancro del colon.

Sull'uomo invece,non esistono ancora prove certe di questo possibile effetto protettivo.

E' stato però ampiamente dimostrato che i batteri probiotici (vedi Tab. 4) sono in grado di contrastare la produzione di carcinogeni, cocarcinogeni, procarcinogeni, tutti possibili promotori dei tumori dell'intestino.

2. NUTRIZIONE E PREVENZIONE

L'importanza della dieta per il nostro stato di salute è sicuramente cosa nota a tutti.

Non c'è patologia o disturbo metabolico- fisiologico che non possa trarre vantaggio da una corretta e oculata alimentazione sia in fase preventiva che in fase di cura.

Dal nostro lavoro effettuato presso l'Istituto Nazionale per la cura dei Tumori, risulta quali siano le abitudini alimentari della maggior parte dei pazienti e quanto sia quindi importante proporre un' alimentazione sia preventiva che di supporto per le eventuali cure alle quali gli stessi pazienti verranno sottoposti.

Affinchè tutto si svolga nel modo migliore per ristabilire un buono stato di salute, tutti gli elementi che fanno parte del sistema e che abbiamo trattato precedentemente: alimenti, intestino, sistema immunitario, flora commensale, si devono influenzare a vicenda nel modo corretto.

La malattia tumorale, già di per sé, compromette le funzioni metaboliche :

- aumento della gluconeogenesi
- resistenza all'insulina
- aumento della lipolisi
- diminuzione della sintesi proteica
- aumento della spesa energetica

Se a questi effetti avversi vengono aggiunti i necessari trattamenti antineoplastici (chemio e radioterapie), lo stato nutrizionale del paziente viene compromesso ulteriormente.

Si rende quindi necessario stimolare e motivare i pazienti a seguire un'alimentazione più consona e mirata in modo da renderli attivi partecipi nel percorso di guarigione.

Dopo un intervento di asportazione di adenocarcinoma al colon-retto, la maggior parte degli operati lamenta difficoltà nel riprendere le normali funzioni intestinali.

Questo può essere un buon "pretesto" per introdurre i concetti base di educazione alimentare, consigliare non solo gli alimenti più idonei da consumare quotidianamente, ma anche i probiotici mirati per ritrovare la giusta Eubiosi e stimolare così non solo la ripresa delle normali funzionalità intestinali, ma anche e soprattutto le risposte del sistema immunitario.

Come rilevato dai test per la ricerca dei metaboliti Indicano e Scatolo, più del 70% dei pazienti presentava conclamate Disbiosi riconducibili ad un consumo prevalentemente di cibi proteici o alla loro cattiva e parziale digestione.

La letteratura riporta come il consumo frequente di carne rossa, in particolare il manzo, si associ ad un incremento del rischio di subire un tumore del colon-retto.

Primo step sarà quindi quello di insegnare il consumo giornaliero dei diversi cereali, della frutta e della verdura.

L'Istituto Nazionale della Sanità indica come ottimale l'assunzione quotidiana di almeno 5 porzioni tra frutta e verdura, suggerimento in fondo per noi italiani di facile attuazione, visto che il nostro Paese è produttore di una infinità di vegetali adatti a molteplici preparazioni ed in grado di soddisfare i palati più esigenti.

Purtroppo spesso ci si scontra con stili di vita che concedono molto poco tempo ad una scelta di qualità, con la pigrizia e con il rifiuto di assaggiare alimenti di cui si è perso addirittura il ricordo.

Riprendere "in mano" la propria salute, volere guarire e stare meglio, possono essere l'inizio per imparare a gustare cibi semplici ma di sicura efficacia.

BIBLIOGRAFIA

Lepage P., Colombet J., Marteau P., Sime-Ngando T., Dorè J., Leclerc M. – Dysbiosis in inflammatory bowel disease: a role for bacteriophages ? Gut 2008 mar;57(3): 424-5

Efendieva MT., Gusakova EV., Ondzhiu NZ. – Intestinal Dysbiosis and methods for its correction in patients with chronic salpingoophoritis. Vopr Kurotol Fizioter Lech Fiz Kult 2007 Jan.Feb; (1):29-31 Russian

Komanduri S., Gillevet PM., Sikaroodi M., Mutlu E., Keshavarzian A.- Dysbiosis in pouchitis: evidence of unique microflora patterns in pouch inflammation. Clin Gastroenterol Hepatol 2007 Mar; 5(3): 352-60

Bohm SK, Kruis W.- Probiotics: do they help to control intestinal inflammation? Ann N Y Acad Sci 2006 ; 1072:339-50

Capurso G., Marignani M., Delle Fave GD – Probiotics and the incidence of colorectal cancer: when evidence is not evident. Dig Liv Dis 2006; 38:S277-82

Harish K, Varghese T.- Probiotics in humans-evidence based review. Calicut Med J 2006;3e4

McLaughlin SD., Clark SK., Tekkis PP., Ciclitira PJ., Nicholis RJ. – Dysbiosis and pouchitis (Br J Surg 2006;93:1325-1334). Br J Surg 2007 mar; 94(3):383-4; author reply 384

Lim M., Sagar P., Finan P., Burke D., Schuster H.- Dysbiosis and pouchitis. Br J Surg 2006 Nov; 93(11):1325-34

Moretti A., Papi C., Koch M., Capurso L.- Impiego dei probiotici in gastroenterologia :quali evidenze? Argomenti di Gastroenterologia Clinica 2006; 19: 31-39

Boikov SS., Moroz AF., Babaeva EE. – Association of Candida albicans fungi with some opportunistic microorganisms intestinal dysbiosis in patients of different age groups. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 2005 mar-Apr; (2):65-9

Giubert R., Rainer H. – Markers biochimici per la valutazione del dismicrobismo intestinale: Disbiosi test. Med. Funzionale 2005; 1:2-5

Seksik P., Lepage P., de la Cochetiere MF., Bourreille A., Sutre M., Galmiche JP., Dorè J., Marteau P. – Search for localized dysbiosis in Crohn's disease ulceration by temporal temperature gradient gel electrophoresis of 16S rRNA. *J Clin Microbiol* 2005 Sep; 43(9): 4654-8

Tsimmerman IaS- Intestinal dysbiosis (dysbiobacteriosis)and/or “excessive bacterial growth syndrome”. *Klin Med (Mosk)* 2005; 83(4): 14-22

Hawrelak JA., Myers SP. – The causes of intestinal dysbiosis:a review. *Altern Med Rev* 2004 Jun; 9(2):180-97

Rhee KJ., Sethupathi P., Driks A., Lanning DK., Knight KL. - Role of commensal bacteria in development of gut-associated lymphoid tissues and preimmune antibody repertoire. *J Immunol* 2004 Jan 15; 172(2):1118-24

Roller M., Rechkemmer G., Watzl B. – Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* modulates intestinal immune functions in rats. *J Nutr* 2004; 134 (1):153-6

Tamboli CP., Neut C., Desreumaux P., Colombel JF. – Dysbiosis as a prerequisite for IBD. *Gut* 2004 Jul; 53(7):1057

Tamboli CP., Neut C., Desreumaux P., Colombel JF. – Dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut* 2004 Jan; 53(1): 1-4

Guarner F., Malagelada JR.- Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 360: 512-9

Lukaczer D., Lerman RH. – Allergens,dysbiosis and immune dysregulation : case studie on inflammatory bowel disease. *Altern Ther Health Med* 2003 May-June; 9(3):136,130-4

Sozinov AS., Abdulkhakov SR., Kiyasov AP., Gumerova AA. – Alteration of the liver in rats with experimental dysbiosis. *Bull Exp Biol Med* 2003 Jul; 136 (1):19-21

Stenina MA., Voevodin DA., Stalkhanov VD., Kisilevich ON., Rozanova GN. – Tissue Hypoxia and intestinal dysbiosis in children with tuberculosis . *Bull Exp Biol Med* 2003 feb; 135(2):178-80

Brandtzaeg PE. – Current understanding of gastrointestinal immunoregulation and its relation to food allergy. *Ann N Y Acad Sci* 2002 May; 964:13-45. Review

Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the evaluation of Probiotics in Food. London Ontario, Canada 30 apr-1 maggio 2002

Davydova TR., Karasenkova IaN., Khavkina Elu.- The problem of dysbiosis in practical dentistry *Stomatologiya (Mosk)* 2001; 80(2):23-4

Pethukov VA., Karalkin AV., Ibragimov TI., Pethukova NA., Briushkov Alu., Vashchenko NE. – Disturbance of liver functions and dysbiosis in patients with lipid distress syndrome

and its treatment with lactulose preparation "Duphalac". Ross Gastroenterol Zh 2001; (2):92-102

Wollowski I, Rechkemmer G., Pool-Zobel BL _ Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. Am J Clin Nutr 2001; 73 (Suppl 2)

Bukharin OV., Konstantinova OD., Kremleva EA., Cherkasov SV. – The correction of dysbiosis of the female reproductive tract by using an estradiol-containing preparation. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 2000 Mar-Apr; (2):100-2

Erickson KL., Hbbard NE. – Probiotic immunomodulation in health and disease. J Nutr 2000; 130: 403S-409S

Wu CT., Li ZL., Xiong DX.- Relationship between enteric microecologic dysbiosis and bacterial translocation in acute necrotizing pancreatitis. World J Gastroenterol 1998 Jun; 4(3):242-245

Geypens B., Claus D., Evenepoel P., Hiele M., Maes B.et all – Influence of dietary protein supplements on the formation of bacterial in the colon. Gut 1997; 41: 70-76

Valystev AV., Gil'mutdinova FG., Tret'iakov AA., Formicheva SV., Bukharin OV. - The role of persisting opportunistic intestinal microflora in dysbiosis in the occurrence of epatobiliary system diseases . Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 1997 Jul-Aug; (4):87-8

Zoppi G. – Probiotics and prebiotics in the treatment of infection due to vancomycin-dependent Enterococcus faecalis and of imbalance of the intestinal ecosystem (dysbiosis). Acta Pediatr 1997 Oct; 86(10):1148-50

Valyshev AV., Gil'mutdinova FG., Formicheva SV. – The persistence factors of the Enterobacteria in the fecal flora in intestinal dysbiosis. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 1996 Maj-Jun; (3):96-8

Gibson GR., Roberfroid MB. – Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J.Nutr 1995; 125: 1401-12

Tsuprik SA., Keul'kut VG., Vysotskaia GA. – Intestinal dysbiosis in the population of the Far North . Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 1995 Nov-Dec; (6):88-9

Valyshev AV., Zykova LS., Konnova ME. – The screening diagnosis of intestinal dysbiosis. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol 1994 Aug-Sep;Suppl 1:71-4

Latella G., Caprilli R. – Metabolism of large bowel mucosa in health and disease. Int J Colorect Dis 1991; 6: 127-32

LelkesL., Chang CL. – Microbial dysbiosis in rabbit mucoid enteropathy. Lab Anim Sci 1987 Dec; 37(6):757-64

Savistkaia KI., Vorob'ev AA., Solodilova OE. – Microflora of the upper respiratory tract of normal young children and in respiratory tract disease. Normal microflora and dysbiosis at different levels of the upper respiratory tract in healthy children and pneumonia patients. Zh Mikrobiol epidemiol Immunobiol 1987 Jan; (1):22-9

Bai K.- On the Mechanism of cereobiogen readjustment to dysbiosis. Prog Clin Biol Res 1985; 181:169-70

Gorbach SL. – The intestinal microflora and its colon cancer connection. Infection 1982 Nov.Dec.; 10(6):379-84

Bone E., Tamm A., - The production of urinary phenols by gut bacteria and their possible role in the causation of large bowel cancer. Am J Clin Nutr 1976 Dec.; 29(12): 1448-54

Ostermayer F., Cochrs GW. - Treatment of intestinal dysbiosis using Hylakombun. Munch Med Wochenschr 1973 Apr 20;115(16):730

Recktenwald M. - Dysbiosis treatment. Z Allgemeinmed 1973 Jul;49 (20):980

Cohrs GW. - Treatment of intestinal dysbiosis with Hylacombun. Munch Med Wochenschr 1972Feb 4;114(5):196-200

Maramarosi G. - Effect of saccharomyces on the eubiosis of intestinal flora and the significance of dysbiosis in dermatoses. Z Haut Geschlechtskr 1971 Oct; 46(19):607-9

Berndt H. – Dysbiosis after stomach surgery and its treatment. Z Gesamte Inn med 1969 Jun15; 24(12):377-82

Zawodsky L. Eubiosis-dysbiosis. Wien Med Wochenschr 1966 Dec3;116(49):1089-92

Berndt H., Kludas M. – Experiment on the treatment of dysbiosis after gastrectomy. Med Klin 1961 Nov 3; 56:1875-8

Haenel H., Schmidt EF., Feldheim G. – Fecal dysbiosis in infancy. Z Kinderheilkd 1959; 82:595-603