

# EFFETTO DELL'INTEGRAZIONE DI PROBIOTICI SUL MICROBIOTA INTESTINALE IN PAZIENTI CON IMPORTANTI DISTURBI DEPRESSIVI: REVISIONE SISTEMATICA. Studio scientifico

Ng et Al. *Nutrients* 2023, 15(6), 1351

Le prove dimostrano come si possano ottenere effetti benefici con l'integrazione di probiotici in pazienti con disturbi depressivi. Questa revisione sistematica composta da 7 studi che utilizzavano le specie *Lactobacillus* e/o *Bifidobacterium* ha indagato gli effetti della terapia con i probiotici sul disturbo depressivo maggiore (MDD). Con un trattamento di 8 settimane sono stati osservati risultati modesti. Sulla base di questo effetto graduale, gli autori hanno concluso che i pazienti con disturbo depressivo maggiore necessitano di una durata della terapia più lunga per ottenere effetti significativi sul microbiota. Ciò suggerisce che in persone affette da questa patologia è probabilmente necessaria un'integrazione a lungo termine di batteri benefici.

## ABSTRACT

Stanno aumentando le prove degli effetti benefici dell'integrazione di probiotici nei pazienti con disturbi depressivi. Tuttavia, gli studi precedenti sull'argomento si sono in gran parte concentrati sull'efficacia clinica non approfondendo però i meccanismi di azione con cui si ottengono gli effetti benefici dei probiotici sul microbiota intestinale. In conformità con le linee guida PRISMA, è stata condotta una ricerca sistematica nella letteratura di Medline, EMBASE e Cochrane Library utilizzando combinazioni delle parole chiave ("deprimere\*" O "MDD" O "suicidio"), ("probiotico" O "*Lactobacillus*" O "*Bifidobacterium*") AND ("gut" OR "gut micr\*" OR "microbiota"). Sono stati trovati sette studi clinici che coinvolgono pazienti con disturbo depressivo maggiore (MDD). Il piccolo numero di studi e le fonti eterogenee di dati hanno precluso però la meta-analisi. La maggior parte degli studi (diversi da uno studio clinico in aperto) presentava un rischio di parzialità da basso a moderato, in gran parte dovuto alla mancanza di controllo degli effetti della dieta sul microbiota intestinale. L'integrazione di probiotici ha prodotto solo effetti modesti sui sintomi depressivi e non ci sono stati effetti coerenti sulla diversità del microbiota intestinale e, nella maggior parte dei casi, non sono state osservate alterazioni significative nella composizione del

microbiota intestinale dopo 4-8 settimane di trattamento con i probiotici. I pazienti con disturbo depressivo maggiore possono quindi necessitare di un tempo più lungo per mostrare un miglioramento clinico e per mostrare modifiche significative del microbiota intestinale. Per poter approfondire il tutto sono necessari ulteriori studi su scala più ampia e a lungo termine.

## INTRODUZIONE

La fiorente ricerca ha evidenziato l'esistenza di una connessione bidirezionale tra l'intestino e il cervello (noto anche come "asse intestino-microbiota-cervello") e il ruolo primario del microbiota intestinale in numerose condizioni patologiche, comprese le malattie cardiovascolari<sup>[1]</sup> e i disturbi psichiatrici<sup>[2,3]</sup>. In particolare, il microbiota intestinale sembra essere un potenziale bersaglio modificabile per la scoperta di nuove terapie, poiché è strettamente influenzato dagli alimenti (ad esempio, prebiotici, probiotici e simbiotici)<sup>[4]</sup> e dai farmaci (ad esempio, antibiotici) che consumiamo<sup>[5]</sup>. Il microbiota intestinale è costituito da miliardi di diversi batteri, virus, protozoi, archeobatteri e funghi, e si ipotizza che esista una complessa connessione e comunicazione bidirezionale tra il tratto gastrointestinale e le reti neurali<sup>[6]</sup> e che alterazioni del microbiota intestinale possano avere effetti importanti sullo sviluppo di condizioni patologiche. Nel disturbo depressivo maggiore (MDD), che è un disturbo psichiatrico estremamente comune e fortemente debilitante<sup>[7]</sup> con compromissione della qualità della vita<sup>[8]</sup>, si stanno accumulando prove che suggeriscono che un aumento della pro -citochine infiammatorie<sup>[9]</sup> e ridotta diversità microbica intestinale<sup>[10]</sup> siano alla base della sua patogenesi. Alcune ricerche suggeriscono che i probiotici possono avere un effetto sull'asse intestino-cervello e che i cambiamenti nel microbioma intestinale possono essere collegati a disturbi dell'umore come la depressione. Sebbene i probiotici mostrino dati preclinici promettenti per i loro potenziali effetti antidepressivi, gli studi clinici hanno prodotto effetti eterogenei<sup>[11,12]</sup> e gli studi precedenti su tale argomento si sono finora concentrati sull'efficacia clinica e meno sui meccanismi di azione<sup>[2,3]</sup>. La depressione colpisce più di 250 milioni di persone in tutto il mondo<sup>[13]</sup>. MDD in particolare è la principale causa di disabilità in tutto il mondo, correlata agli anni vissuti con tale disabilità. La MDD è significativamente debilitante e può persino portare al suicidio nei soggetti affetti<sup>[7,8]</sup>. Le conseguenze del disturbo depressivo maggiore si estendono ben oltre l'individuo affetto dal disturbo da MDD ma può avere effetti negativi di vasta portata anche sulle famiglie, sulle comunità e sulla società in cui si trovano a vivere i pazienti. Chi soffre di MDD ha anche un aumentato rischio di sviluppare patologie come malattie cardiovascolari e diabete e diventa un problema anche sostenere i costi sanitari elevati<sup>[14]</sup>. Fino a un terzo dei pazienti con disturbo depressivo maggiore risponde parzialmente o non risponde agli attuali trattamenti di prima linea (come i farmaci antidepressivi o la psicoterapia)<sup>[15]</sup>, evidenziando così la necessità di nuove e più efficaci strategie terapeutiche. I probiotici, che sono microrganismi vivi simili ai microrganismi benefici presenti nell'intestino umano<sup>[16]</sup>, sono stati studiati per il loro potenziale ruolo

nel trattamento della depressione. I probiotici si possono trovare naturalmente in alimenti fermentati come yogurt, kefir e crauti oppure come integratori alimentari. La maggior parte degli integratori alimentari naturali presenti in commercio contengono *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp., con concentrazioni di  $1 \times 10^9$  unità formanti colonia (CFU)/g<sup>[17,18]</sup>. Dato che sono relativamente sicuri e tollerabili per i pazienti rispetto agli antidepressivi convenzionali, vale la pena indagare l'efficacia dei probiotici sulla base delle prove che queste terapie emergenti stanno dando su i soggetti con disturbo depressivo maggiore. In effetti, l'utilizzo dei probiotici per la depressione è ancora in fase di evoluzione, con ricerche in corso volte a comprendere meglio i potenziali meccanismi di azione e l'uso ottimale dei probiotici in questa condizione. Nel tentativo di svelare i meccanismi e generare ipotesi per indagini future, questa revisione mirava a esaminare in modo specifico gli effetti dell'integrazione di probiotici sul microbiota intestinale nei pazienti con disturbo depressivo maggiore.

## METODI

Il protocollo di revisione proposto è stato registrato in PROSPERO (numero di registrazione CRD42023387500). Una ricerca sistematica della letteratura è stata condotta in conformità con le ultime linee guida PRISMA<sup>[19]</sup> ed eseguita nei database Medline, EMBASE e Cochrane Library. Combinazioni dei seguenti termini chiave di ricerca, ("depress\*" OR "MDD" OR "suicide"), ("probiotic" OR "Lactobacillus" OR "Bifidobacterium") AND ("gut" OR "gut micr\*" OR "microbiota ") e il periodo di ricerca è stato definito dall'inizio della ricerca nei database fino al 1° dicembre 2022. Sono stati fatti tentativi anche per cercare la letteratura grigia utilizzando Google. I criteri di inclusione per la revisione includevano (1) studi originali pubblicati in inglese, (2) studi clinici, (3) che coinvolgevano pazienti con depressione, (4) integrazione definita del fattore probiotico e (5) cambiamenti documentati che avvenivano nel microbiota intestinale. Gli abstract sono stati vagliati utilizzando il software online Covidence (Melbourne, VIC, Australia) da tre ricercatori indipendenti (Q.X.N., C.Y.L.Y. e Y.L.L.). I testi completi sono stati ottenuti per tutti gli articoli di interesse e le loro liste di riferimento sono state cercate manualmente per identificare ulteriori documenti pertinenti. Sono stati consultati anche esperti di contenuti per individuare ulteriori articoli pertinenti. Gli articoli completi sono stati valutati accuratamente per l'ammissibilità sulla base di criteri di inclusione ed esclusione predefiniti. Eventuali problemi per opinioni discordanti sono stati risolti attraverso la discussione e il consenso con gli autori senior. L'obiettivo principale dello studio era indagare l'effetto dell'integrazione di probiotici sul microbiota intestinale. L'obiettivo secondario era valutare eventuali cambiamenti nei sintomi depressivi, valutati da scale di valutazione convalidate, come ad esempio la Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D) o la Beck Depression Index (BDI), dopo l'assunzione dei probiotici. Dove possibile, i risultati sono stati raggruppati utilizzando una meta-analisi ad effetti casuali, con differenze medie standardizzate (SMD) calcolate poiché gli studi utilizzavano scale diverse e le misurazioni dei risultati avevano unità diverse tra gli studi esaminati. SMD esprime la dimensione dell'effetto del trattamento in unità di

deviazione standard (DS), piuttosto che nelle unità originali della misura del risultato [20]. Le analisi statistiche sono state eseguite in R 4.0.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Una volta identificata una serie finale di studi ammissibili, i dati rilevanti dagli studi sono stati estratti utilizzando un modulo di estrazione dei dati standardizzato da due ricercatori dello studio (CYLY e YLL) e sottoposti a controllo incrociato da un terzo (QXN) per verificarne l'accuratezza. Il rischio di bias degli studi è stato valutato utilizzando la versione 2 dello strumento di rischio di bias Cochrane per studi randomizzati (RoB 2)<sup>[21]</sup> tramite il consenso dei tre ricercatori dello studio (Q.X.N., C.Y.L.Y. e Y.L.L.).

## RISULTATI

Dopo un'ampia ricerca bibliografica, sono state identificate un totale di 1395 citazioni. Dopo aver rimosso i duplicati e vagliato gli studi in base ai loro titoli e abstract, sono rimasti 15 testi completi. Otto studi sono stati esclusi per motivi vari, lasciando sette studi<sup>[11,12,22,23,24,25,26]</sup> idonei per la revisione. L'assunzione del fattore probiotico negli studi esaminati era variabile, con differenze nel tipo di probiotici, nel dosaggio e nella durata del follow-up. Poiché il numero di studi disponibili era limitato (<10) e aveva diverse fonti di dati, c'era un ambito limitato per la meta-analisi<sup>[27]</sup> ed è stata quindi eseguita una sintesi narrativa dei risultati. Fatta eccezione per uno studio in aperto<sup>[23]</sup>, gli altri studi randomizzati e controllati avevano generalmente un rischio di parzialità da basso a moderato. Un problema significativo negli studi esaminati era che non venivano controllati gli effetti della dieta sul microbiota intestinale. In generale, l'integrazione di probiotici non sembra migliorare significativamente i sintomi depressivi rispetto al placebo<sup>[11,22,24,26]</sup> e non risponde quindi all'obiettivo primario della nostra revisione, ovvero la maggior parte degli studi non è riuscita a dimostrare alterazioni significative nella composizione del microbiota intestinale<sup>[11,12,22,23,24,26]</sup>. Rispetto all'obiettivo secondario della nostra revisione, abbiamo confermato che sulla base di una meta-analisi di cinque studi (escludendo lo studio aperto di Chen et al.<sup>[23]</sup> e Reininghaus et al.<sup>[11]</sup>), si otteneva come valore di valutazione della depressione -0,50 (IC 95%: da -1,13 a 0,14,  $\tau^2 = 0,16$ , I<sup>2</sup> = 69%), il che indicava che l'integrazione di probiotici non migliorava significativamente i sintomi depressivi rispetto al placebo.

## DISCUSSIONE

Sulla base degli studi disponibili, l'integrazione di probiotici sembra avere effetti limitati sui sintomi depressivi e sul microbiota intestinale nei pazienti con disturbo depressivo maggiore. La MDD è una malattia complessa ed eterogenea e, con un trattamento antidepressivo standard, potrebbero essere necessari dai due ai tre mesi prima che i sintomi della MDD migliorino e anche di più per ottenere la remissione clinica<sup>[28]</sup>. La risposta al trattamento può anche variare notevolmente da individuo a individuo. Allo stesso modo, da un punto di vista molecolare, la risposta ad un trattamento con probiotici potrebbe richiedere più di otto settimane (che era la durata dello studio nella maggior parte dei casi) per mostrare alterazioni significative del microbiota<sup>[29]</sup>. Con un trattamento probiotico a breve termine, il cambiamento nel microbiota intestinale può anche essere transitorio e

temporaneo.

La ricerca sui probiotici è in rapida crescita e coinvolge la biologia, la medicina traslazionale, l'epidemiologia e la bioinformatica e mira a comprendere gli effetti benefici dei probiotici sulla salute umana e sugli stati patologici. Si pensa che le interazioni gene-ambiente e intestino-microbiota-cervello portino a una concatenazione di eventi che influenzano la funzione cerebrale e i disturbi dell'umore. Studi precedenti hanno rilevato che la flora intestinale dei pazienti depressi presenta livelli inferiori di alcuni batteri benefici, come *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, e una percentuale più elevata di batteri patogeni Gram-negativi, come gli Enterobatteri [30,31]. Negli studi disponibili, la diversità alfa (in generale si intende il numero di specie presenti in una comunità di viventi che occupa un determinato ambiente in una località geografica definita e in questo caso rappresenta la diversità batterica presente in un determinato campione) è stata tipicamente valutata utilizzando la ricchezza (il numero di specie in una data unità spaziale ben definita) e l'indice di diversità di Shannon (indice statistico per misurare la diversità di una popolazione), e gli autori hanno anche studiato la diversità beta (la differenza di popolazione intestinale batterica tra i sani e i malati), o la dissomiglianza di due comunità. Nella maggior parte degli studi, tuttavia, l'abbondanza relativa dei principali phyla identificati (*Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Synergistetes*, *Verrucomicrobia* ed *Euryarchaeota*) non differiva significativamente nonostante l'integrazione probiotica [11,12,22,23,24,26]. La ricchezza della diversità microbica si riferiva al numero di generi rilevati all'interno di ciascun campione fecale. Negli studi PROVIT [11,24], non vi era alcuna differenza significativa in termini di scale di valutazione relative ai sintomi psichiatrici tra chi aveva assunto i probiotici e il gruppo di controllo con placebo, ma dopo quattro settimane è stata osservata una diversità beta relativamente maggiore e un'abbondanza di *Ruminococcus gnavreus* e *Coprococcus* 3 in chi aveva eseguito l'integrazione probiotica. *Ruminococcus* e *Coprococcus* sono comuni batteri produttori di butirato nell'intestino umano; si ritiene che questi acidi grassi a catena corta siano essenziali per l'integrità della barriera intestinale, possano svolgere attività antinfiammatoria e contribuire alla sovraregolazione del fattore neurotrofico cerebrale (BDNF) quando i probiotici entrano nel flusso sanguigno [32,33]. Nello studio, forse il più positivo, di Tian et al. [25], sono stati riscontrati miglioramenti significativi nei sintomi depressivi ed è stato riscontrato una relativa abbondanza di *Desulfovibrio* e *Faecalibaculum* dopo quattro settimane di integrazione probiotica. Ciò concorda con studi precedenti che hanno rilevato che i pazienti con disturbo depressivo maggiore avevano una relativa abbondanza di Enterobacteriaceae e *Alistipes* ma livelli ridotti di *Faecalibacterium* benefico [30]. Tuttavia, i risultati sul microbiota intestinale nei pazienti con MDD sono stati incoerenti [34]. Ciò è ulteriormente complicato dal fatto che non vi è un consenso unanime sulla composizione "ideale" del microbiota intestinale per un funzionamento fisico e un benessere mentale ottimali [33,34]. A conferma delle nostre scoperte, una precedente revisione sistematica di studi randomizzati e controllati su partecipanti sani [35] ha trovato risultati in gran parte simili al nostro studio attuale. Kristensen et al. (2016) hanno esaminato sette studi clinici che hanno indagato le alterazioni nella composizione microbica di campioni fecali umani di individui sani tramite tecniche molecolari ad alto rendimento e solo uno studio ha riportato cambiamenti significativi in termini di diversità beta (dissomiglianza compositiva) dopo l'integrazione di probiotici, rispetto al gruppo placebo [35]. Analogamente alla nostra revisione sui pazienti con MDD, gli autori hanno concluso una mancanza di prove coerenti sull'effetto positivo dei probiotici

sulla composizione del microbiota fecale negli adulti sani. Questo forse non sorprende poiché il progetto Human Microbiome ha rivelato la complessità dei taxa microbici nell'intestino umano, con un'elevata variabilità interindividuale e quotidiana dovuta all'ereditarietà, alla dieta, all'ambiente e ad altri fattori<sup>[36]</sup>. Parte della fonte dell'eterogeneità negli studi probabilmente deriva anche dalla natura eterogenea della diagnosi e della condizione di disturbo depressivo maggiore<sup>[37]</sup>. Come discusso in precedenza, la patogenesi della MDD è sfaccettata e non ancora del tutto compresa, ma è probabile che implichi una complessa interazione di fattori genetici, ambientali e neurobiologici. A conti fatti, non ci sono prove sufficienti nella letteratura attuale per supportare gli effetti a breve termine dell'integrazione di probiotici sulla depressione o sul microbiota intestinale. Precedenti meta-analisi sull'argomento hanno sostenuto il potenziale utilizzo dei probiotici come terapia aggiuntiva per la depressione, ma hanno notato che sono necessarie ulteriori ricerche per determinare la dose, la durata e i ceppi ottimali dei probiotici da somministrare per migliorare i sintomi di questa patologia<sup>[2,38,39]</sup>. In generale, le meta-analisi hanno sottolineato l'eterogeneità degli studi disponibili, il fatto che si avessero effetti da piccoli a moderati in seguito alla somministrazione dei probiotici e l'importanza di tenere conto delle differenze individuali variabili nella composizione del microbiota intestinale e della miriade di fattori dell'ospite che possono influenzare la risposta al trattamento. È evidente che sono necessarie ulteriori ricerche per comprendere a pieno i meccanismi attraverso i quali i probiotici esercitano i loro effetti. Le analisi dei sottogruppi nella meta-analisi di Goh et al. (2019) hanno anche suggerito che non tutti i probiotici sono uguali<sup>[38]</sup>. Rispetto all'utilizzo di un solo ceppo probiotico, l'assunzione di più ceppi ha avuto un effetto significativo nell'alleviare i sintomi depressivi, anche se la combinazione ottimale data l'enorme varietà dei ceppi non può ancora essere definita con precisione<sup>[38]</sup>. Tuttavia, va approfondito il trattamento con i probiotici. Il microbiota intestinale è un ecosistema complesso e intricato di microrganismi che popolano il tratto gastrointestinale umano. Le moderne analisi del microbiota intestinale forniscono dati sull'abbondanza relativa e non assoluta di particolari specie batteriche all'interno dell'intestino. Inoltre, il metodo di sequenziamento dell'rRNA 16S utilizzato negli studi esistenti potrebbe non essere abbastanza sensibile da rilevare le alterazioni del microbiota indotte dalla somministrazione di probiotici, rispetto a tecniche più recenti come la meta genomica "shotgun" e il sequenziamento dell'rRNA. Queste tecniche sono più sensibili, hanno una risoluzione maggiore e forniscono un quadro più completo per quanto riguarda la struttura e la funzione delle colonie microbiche ospiti<sup>[40]</sup>. Inoltre, sebbene sia opinione diffusa che i probiotici agiscano colonizzando l'intestino e modulando la composizione e l'attività del microbiota intestinale, si presume, ma non è dimostrato, che per conferire benefici terapeutici un probiotico debba alterare in modo significativo il microbiota intestinale dell'ospite. Piuttosto, i benefici terapeutici potrebbero essere dovuti ad altri meccanismi o ottenuti attraverso i metaboliti prodotti dai ceppi probiotici mentre attraversano l'intestino e mediante complesse interazioni con il metabolismo e il sistema immunitario dell'ospite in vivo. I probiotici possono influenzare la produzione e l'attività dei neurotrasmettitori; è stato dimostrato che alcuni ceppi probiotici regolano la biosintesi della serotonina dell'ospite, aumentando così la produzione di questo neurotrasmettitore che risulta coinvolto nella regolazione del tono dell'umore<sup>[41]</sup>. È stato scoperto che altri probiotici influenzano la produzione di dopamina, noradrenalina e neurotrasmettitori GABA<sup>[42]</sup>. In uno studio pilota, è stato scoperto che i probiotici modulano l'espressione genica

del microbiota intestinale senza cambiarne la composizione, con potenziali effetti antiinfiammatori<sup>[43]</sup>. Questo è un altro potenziale meccanismo attraverso il quale i probiotici possono influenzare la funzione metabolica. In sintesi, i probiotici possono avere effetti benefici sulla comunicazione intestino-cervello e sull'infiammazione e sulla segnalazione dei neurotrasmettitori; i probiotici potrebbero quindi potenzialmente contribuire agli effetti antidepressivi dei neurotrasmettitori stessi. Purtroppo, i meccanismi specifici di azione non sono ancora del tutto chiari. Vale anche la pena riconoscere che gli studi disponibili hanno esaminato solo gli effetti a breve termine dell'integrazione di probiotici sul miglioramento dei sintomi e sui cambiamenti del microbiota intestinale, e poco si sa sugli effetti a lungo termine, in particolare per la prevenzione delle ricadute in una malattia cronica come la MDD. La MDD è una condizione cronica e recidivante, con almeno il 50% delle persone che mostrano episodi ricorrenti di depressione dopo un primo episodio iniziale<sup>[44]</sup>. Sebbene gli studi disponibili non indichino un aumento del rischio di effetti collaterali gravi, non sono disponibili dati validi sulle conseguenze della malattia a lungo termine<sup>[45]</sup>. Ci sono segnalazioni di alcuni casi in cui i probiotici possono peggiorare i risultati<sup>[46]</sup>, e nei destinatari di trapianto di microbiota fecale, ad esempio, segnalazioni di disturbi gastrointestinali, ad esempio diarrea, dolore addominale e gonfiore non sono infrequenti<sup>[47]</sup>, e questo ha importanti implicazioni nella gestione a lungo termine. Un'ulteriore considerazione è la risposta immunitaria ai probiotici da parte dell'ospite umano. Le risposte immunitarie come la fagocitosi e la xenofagia e i metodi di morte cellulare programmata come la piroptosi e la necroptosi<sup>[48,49]</sup>, rendono la maggior parte degli invasori innocui e le infezioni microbiche autolimitanti. Il nostro sistema immunitario contribuisce anche all'acquisizione di fattori nutrienti degradando il microbiota umano, i patogeni e le cellule dei tessuti corporei danneggiati, in quanto è in grado di utilizzare alcuni dei prodotti metabolici di questi microrganismi così come le cellule epiteliali o somatiche gastriche infette come fonte di nutrienti essenziali<sup>[50,51]</sup>. Poiché il microbioma intestinale è composto da un numero di geni 150 volte maggiore rispetto al numero di geni presenti nell'intero genoma umano, il microbioma umano risulta così una fonte indispensabile di metaboliti per il corpo umano<sup>[52,53]</sup>, che possono influire sulle condizioni di salute degli individui e su gli stati patologici. In termini di limitazioni alla nostra revisione sistematica abbiamo in primo luogo il numero ridotto di studi (e le dimensioni del campione), le fonti eterogenee di dati e le diverse misurazioni dei risultati che hanno precluso così la possibilità di una meta-analisi. Per il risultato dello studio sull'effetto dei probiotici sui sintomi depressivi, poiché sono stati inclusi solo cinque studi, è difficile trarre conclusioni definitive. In secondo luogo, molti degli studi inclusi provenivano dall'Asia e tutti gli studi avevano una preponderanza di partecipanti di sesso femminile (> 60-70), ed è noto che maschi e femmine presentano distinte differenze specifiche in termini di specie batteriche ospiti<sup>[54]</sup>. In terzo luogo, la maggior parte degli studi esaminati non controllava gli effetti della dieta sul microbiota intestinale; oltre ai pre/probiotici, anche i polifenoli alimentari, che sono spesso indigeribili, influenzerebbero la diversità e la composizione del microbiota intestinale<sup>[55]</sup>. Anche i farmaci usati per trattare la MDD e le condizioni comportamentali correlate alla MDD (ad esempio, abitudini alimentari, stile di vita sedentario, ecc.) possono influenzare la composizione del microbiota intestinale. Per affrontare alcuni di questi problemi, esistono diverse linee guida per segnalare le ricerche sul microbioma umano in modo da ridurre l'eterogeneità delle segnalazioni e migliorare la qualità e la trasparenza della segnalazione per gli studi in questo campo interdisciplinare. Ad esempio, la checklist

STORMS (STrengthening the Reporting Of Microbial Studies) è uno strumento di checklist di 17 voci sviluppato per guidare autori e revisori nella segnalazione e valutazione di studi relativi al microbioma umano <sup>[56]</sup>. Le sequenze del genoma microbico (compresa la piattaforma di sequenziamento, le misure di controllo della qualità e l'analisi dei dati) devono essere debitamente segnalate. L'elenco di controllo STORMS raccomanda che le caratteristiche descrittive (inclusi l'età e il sesso della popolazione dello studio), i principali risultati dello studio e i risultati di eventuali analisi aggiuntive debbano essere dettagliati. Ciò garantisce che la descrizione dello studio sia completa e organizzata. In quarto luogo, il microbioma intestinale viene studiato principalmente utilizzando le comunità batteriche fecali. I campioni fecali sono ampiamente rappresentativi dei batteri presenti nel lume del colon; tuttavia, alcune comunità di batteri potrebbero venire trascurate, il che può anche spiegare la differenza osservata tra gli studi che hanno utilizzato campioni di mucosa anziché campioni fecali <sup>[57]</sup>. Ultimo ma non meno importante, sono necessari ulteriori studi meccanicistici per chiarire gli effetti dei probiotici sulla depressione, che sono probabilmente multifattoriali e coinvolgono complesse interazioni tra il microbiota intestinale dell'ospite, il sistema immunitario e il sistema nervoso centrale. L'uso di tecnologie "multi-omiche" <sup>[58]</sup>, potrebbe aiutare a far luce su queste domande.

## **DISCUSSIONE**

In conclusione, sulla base degli studi clinici disponibili, l'integrazione di probiotici ha prodotto effetti limitati a breve termine sul microbiota intestinale nei pazienti con MDD e ha prodotto solo effetti modesti sui sintomi depressivi. Sono stati osservati modelli di colonizzazione variabili, ma la maggior parte degli studi non è riuscita a trovare alterazioni significative nella composizione del microbiota intestinale dopo 4-8 settimane di trattamento con i probiotici, tenendo però conto della piccola dimensione del campione esaminato e della breve durata del trattamento che viene descritto in questi studi. Per ottenere dati più precisi sono necessari ulteriori studi su scala più ampia e a lungo termine. Studi futuri potrebbero anche prendere in considerazione approcci alternativi per studiare il microbiota intestinale, ad esempio la metagenomica e il sequenziamento dell'RNA, che potrebbero essere più sensibili, avere una risoluzione maggiore e fornire un quadro più completo della struttura e della funzione delle colonie microbiche ospiti.

## Bibliografia

1. Dixon, A.; Robertson, K.; Yung, A.; Que, M.; Randall, H.; Wellalagodage, D.; Cox, T.; Robertson, D.; Chi, C.; Sun, J. Efficacy of Probiotics in Patients of Cardiovascular Disease Risk: A Systematic Review and Meta-analysis. *Curr. Hypertens. Rep.* 2020, 22, 74.
2. Ng, Q.X.; Peters, C.; Ho, C.Y.X.; Lim, D.Y.; Yeo, W.S. A meta-analysis of the use of probiotics to alleviate depressive symptoms. *J. Affect. Disord.* 2018, 228, 13–19.
3. Le Morvan de Sequeira, C.; Hengstberger, C.; Enck, P.; Mack, I. Effect of Probiotics on Psychiatric Symptoms and Central Nervous System Functions in Human Health and Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 2022, 14, 621.
4. David, L.A.; Materna, A.C.; Friedman, J.; Campos-Baptista, M.I.; Blackburn, M.C.; Perrotta, A.; Erdman, S.E.; Alm, E.J. Host lifestyle affects human microbiota on daily timescales. *Genome Biol.* 2014, 15, R89.
5. Lange, K.; Buerger, M.; Stallmach, A.; Bruns, T. Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. *Dig. Dis.* 2016, 34, 260–268.
6. Osadchiy, V.; Martin, C.R.; Mayer, E.A. The Gut-Brain Axis and the Microbiome: Mechanisms and Clinical Implications. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2019, 17, 322–332.
7. Ho, R.C.; Mak, K.K.; Chua, A.N.; Ho, C.S.; Mak, A. The effect of severity of depressive disorder on economic burden in a university hospital in Singapore. *Expert Rev. Pharmacoecon. Outcomes Res.* 2013, 13, 549–559.
8. IsHak, W.W.; Mirocha, J.; James, D.; Tobia, G.; Vilhauer, J.; Fakhry, H.; Pi, S.; Hanson, E.; Nashawati, R.; Peselow, E.D.; et al. Quality of life in major depressive disorder before/after multiple steps of treatment and one-year follow-up. *Acta Psychiatr. Scand.* 2015, 131, 51–60.
9. Ménard, C.; Hodes, G.E.; Russo, S.J. Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies. *Neuroscience* 2016, 321, 138–162.
10. Loniewski, I.; Misera, A.; Skonieczna-Żydecka, K.; Kaczmarczyk, M.; Kaźmierczak-Siedlecka, K.; Misiak, B.; Marlicz, W.; Samochowiec, J. Major Depressive Disorder and gut microbiota—Association not causation. A scoping review. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2021, 106, 110111.
11. Reininghaus, E.Z.; Platzer, M.; Kohlhammer-Dohr, A.; Hamm, C.; Mörkl, S.; Bengesser, S.A.; Fellendorf, F.T.; Lahousen-Luxenberger, T.; Leitner-Afschar, B.; Schöggel, H.; et al. PROVIT: Supplementary Probiotic Treatment and Vitamin B7 in Depression—A Randomized Controlled Trial. *Nutrients* 2020, 12, 3422.
12. Schaub, A.C.; Schneider, E.; Vazquez-Castellanos, J.F.; Schweinfurth, N.; Kettelhack, C.; Doll, J.P.K.; Yamanbaeva, G.; Mählmann, L.; Brand, S.; Beglinger, C.; et al. Clinical, gut microbial and neural effects of a probiotic add-on therapy in depressed patients: A randomized controlled trial. *Transl. Psychiatry* 2022, 12, 227.
13. GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* 2018, 392, 1789–1858.
14. Van der Kooy, K.; van Hout, H.; Marwijk, H.; Marten, H.; Stehouwer, C.; Beekman, A. Depression and the risk for cardiovascular diseases: Systematic review and meta analysis. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 2007, 22, 613–626.
15. Rush, A.J.; Trivedi, M.H.; Wisniewski, S.R.; Nierenberg, A.A.; Stewart, J.W.; Warden, D.; Niederehe, G.; Thase, M.E.; Lavori, P.W.; Lebowitz, B.D.; et al. Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: A STAR\*D report. *Am. J. Psychiatry* 2006, 163, 1905–1917.
16. Butel, M.J. Probiotics, gut microbiota and health. *Med. Mal. Infect.* 2014, 44, 1–8.
17. Larsen, C.N.; Nielsen, S.; Kaestel, P.; Brockmann, E.; Bennedsen, M.; Christensen, H.R.; Eskesen, D.C.; Jacobsen, B.L.; Michaelsen, K.F. Dose-response study of probiotic bacteria *Bifidobacterium animalis subsp lactis* BB-12 and *Lactobacillus paracasei subsp paracasei* CRL-341 in healthy young adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2006, 60, 1284–1293.

18. Sniffen, J.C.; McFarland, L.V.; Evans, C.T.; Goldstein, E.J.C. Choosing an appropriate probiotic product for your patient: An evidence-based practical guide. *PLoS ONE* 2018, 13, e0209205
19. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ* 2021, 372, n71.
20. Andrade, C. Mean Difference, Standardized Mean Difference (SMD), and Their Use in Meta-Analysis: As Simple as It Gets. *J. Clin. Psychiatry* 2020, 81, 20f13681.
21. Higgins, J.P.; Altman, D.G.; Gøtzsche, P.C.; Jüni, P.; Moher, D.; Oxman, A.D.; Savovic, J.; Schulz, K.F.; Weeks, L.; Sterne, J.A. Cochrane Bias Methods Group; Cochrane Statistical Methods Group. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ* 2011, 343, d5928. 21.
22. Chahwan, B.; Kwan, S.; Isik, A.; van Hemert, S.; Burke, C.; Roberts, L. Gut feelings: A randomised, triple-blind, placebo-controlled trial of probiotics for depressive symptoms. *J. Affect. Disord.* 2019, 253, 317–326.
23. Chen, H.M.; Kuo, P.H.; Hsu, C.Y.; Chiu, Y.H.; Liu, Y.W.; Lu, M.L.; Chen, C.H. Psychophysiological Effects of *Lactobacillus plantarum* PS128 in Patients with Major Depressive Disorder: A Preliminary 8-Week Open Trial. *Nutrients* 2021, 13, 3731.
24. Kreuzer, K.; Reiter, A.; Birkl-Töglhofer, A.M.; Dalkner, N.; Mörtl, S.; Mairinger, M.; Fleischmann, E.; Fellendorf, F.; Platzer, M.; Lenger, M.; et al. The PROVIT Study—Effects of Multispecies Probiotic Add-on Treatment on Metabolomics in Major Depressive Disorder—A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Metabolites* 2022, 12, 770
25. Tian, P.; Chen, Y.; Zhu, H.; Wang, L.; Qian, X.; Zou, R.; Zhao, J.; Zhang, H.; Qian, L.; Wang, Q.; et al. *Bifidobacterium breve* CCFM1025 attenuates major depression disorder via regulating gut microbiome and tryptophan metabolism: A randomized clinical trial. *Brain Behav. Immun.* 2022, 100, 233–241.
26. Zhang, X.; Chen, S.; Zhang, M.; Ren, F.; Ren, Y.; Li, Y.; Liu, N.; Zhang, Y.; Zhang, Q.; Wang, R. Effects of Fermented Milk Containing *Lactobacillus paracasei* Strain Shirota on Constipation in Patients with Depression: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Nutrients* 2021, 13, 2238.
27. Pogue, J.; Yusuf, S. Overcoming the limitations of current meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet* 1998, 351, 47–52
28. Sinyor, M.; Schaffer, A.; Levitt, A. The sequenced treatment alternatives to relieve depression (STAR\*D) trial: A review. *Can. J. Psychiatry* 2010, 55, 126–135
29. Leeming, E.R.; Johnson, A.J.; Spector, T.D.; Le Roy, C.I. Effect of Diet on the Gut Microbiota: Rethinking Intervention Duration. *Nutrients* 2019, 11, 2862
30. Jiang, H.; Ling, Z.; Zhang, Y.; Mao, H.; Ma, Z.; Yin, Y.; Wang, W.; Tang, W.; Tan, Z.; Shi, J.; et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav. Immun.* 2015, 48, 186–194
31. Chen, Z.; Li, J.; Gui, S.; Zhou, C.; Chen, J.; Yang, C.; Hu, Z.; Wang, H.; Zhong, X.; Zeng, L.; et al. Comparative metaproteomics analysis shows altered fecal microbiota signatures in patients with major depressive disorder. *Neuroreport* 2018, 29, 417–425
32. Liu, J.; Fang, Y.; Cui, L.; Wang, Z.; Luo, Y.; Gao, C.; Ge, W.; Huang, T.; Wen, J.; Zhou, T. Butyrate emerges as a crucial effector of Zhi-Zi-Chi decoctions to ameliorate depression via multiple pathways of brain-gut axis. *Biomed. Pharmacother.* 2022, 149, 112861.
33. Mörtl, S.; Butler, M.I.; Holl, A.; Cryan, J.F.; Dinan, T.G. Probiotics and the Microbiota-Gut-Brain Axis: Focus on Psychiatry. *Curr. Nutr. Rep.* 2020, 9, 171–182.
34. Sanada, K.; Nakajima, S.; Kurokawa, S.; Barceló-Soler, A.; Ikuse, D.; Hirata, A.; Yoshizawa, A.; Tomizawa, Y.; Salas-Valero, M.; Noda, Y.; et al. Gut microbiota and major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis. *J. Affect. Disord.* 2020, 266, 1–13.
35. Kristensen, N.B.; Bryrup, T.; Allin, K.H.; Nielsen, T.; Hansen, T.H.; Pedersen, O. Alterations in fecal microbiota

composition by probiotic supplementation in healthy adults: A systematic review of randomized controlled trials. *Genome Med.* 2016, 8, 52

36. Flores, G.E.; Caporaso, J.G.; Henley, J.B.; Rideout, J.R.; Domogala, D.; Chase, J.; Leff, J.W.; Vázquez-Baeza, Y.; Gonzalez, A.; Knight, R.; et al. Temporal variability is a personalized feature of the human microbiome. *Genome Biol.* 2014, 15, 531

37. Ng, Q.X.; Lim, D.Y.; Chee, K.T. Reimagining the spectrum of affective disorders. *Bipolar Disord.* 2020, 22, 638–639.

38. Goh, K.K.; Liu, Y.W.; Kuo, P.H.; Chung, Y.E.; Lu, M.L.; Chen, C.H. Effect of probiotics on depressive symptoms: A meta-analysis of human studies. *Psychiatry Res.* 2019, 282, 112568

39. El Dib, R.; Periyasamy, A.G.; de Barros, J.L.; França, C.G.; Senefonte, F.L.; Vesentini, G.; Alves, M.G.O.; Rodrigues, J.V.D.S.; Gomaa, H.; Gomes Júnior, J.R.; et al. Probiotics for the treatment of depression and anxiety: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin. Nutr. ESPEN* 2021, 45, 75–90.

40. Zhernakova, A.; Kurilshikov, A.; Bonder, M.J.; Tigchelaar, E.F.; Schirmer, M.; Vatanen, T.; Mujagic, Z.; Vila, A.V.; Falony, G.; Vieira-Silva, S.; et al. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science* 2016, 352, 565–569.

41. Yano, J.M.; Yu, K.; Donaldson, G.P.; Shastri, G.G.; Ann, P.; Ma, L.; Nagler, C.R.; Ismagilov, R.F.; Mazmanian, S.K.; Hsiao, E.Y. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell* 2015, 161, 264–276.

42. Tette, F.M.; Kwofie, S.K.; Wilson, M.D. Therapeutic Anti-Depressant Potential of Microbial GABA Produced by *Lactobacillus rhamnosus* Strains for GABAergic Signaling Restoration and Inhibition of Addiction-Induced HPA Axis Hyperactivity. *Curr. Issues Mol. Biol.* 2022, 44, 1434–1451.

43. Taverniti, V.; Cesari, V.; Gargari, G.; Rossi, U.; Biddau, C.; Lecchi, C.; Fiore, W.; Arioli, S.; Toschi, I.; Guglielmetti, S. Probiotics Modulate Mouse Gut Microbiota and Influence Intestinal Immune and Serotonergic Gene Expression in a Site-Specific Fashion. *Front. Microbiol.* 2021, 12, 706135

44. Burcusa, S.L.; Iacono, W.G. Risk for recurrence in depression. *Clin. Psychol. Rev.* 2007, 27, 959–985.

45. Sung, J.J.Y.; Wong, S.H. What is unknown in using microbiota as a therapeutic? *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2022, 37, 39–4446.

46. Doron, S.; Snyderman, D.R. Risk and safety of probiotics. *Clin. Infect. Dis.* 2015, 60 (Suppl. 2), S129–S134.

47. Marcella, C.; Cui, B.; Kelly, C.R.; Ianiro, G.; Cammarota, G.; Zhang, F. Systematic review: The global incidence of faecal microbiota transplantation-related adverse events from 2000 to 2020. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2021, 53, 33–42.

48. Jorgensen, I.; Rayamajhi, M.; Miao, E.A. Programmed cell death as a defence against infection. *Nat. Rev. Immunol.* 2017, 17, 151–164.

49. Levin, B.R.; Baquero, F.; Ankomah, P.P.; McCall, I.C. Phagocytes, Antibiotics, and Self-Limiting Bacterial Infections. *Trends Microbiol.* 2017, 25, 878–892.

50. McFall-Ngai, M.; Hadfield, M.G.; Bosch, T.C.; Carey, H.V.; Domazet-Lošo, T.; Douglas, A.E.; Dubilier, N.; Eberl, G.; Fukami, T.; Gilbert, S.F.; et al. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2013, 26, 3229–3236

51. Morowitz, M.J.; Carlisle, E.M.; Alverdy, J.C. Contributions of intestinal bacteria to nutrition and metabolism in the critically ill. *Surg. Clin. N. Am.* 2011, 91, 771–785, viii52. Zhu, B.; Wang, X.; Li, L. Human gut microbiome: The second genome of human body. *Protein Cell* 2010, 1, 718–725

52. Zhu, B.; Wang, X.; Li, L. Human gut microbiome: The second genome of human body. *Protein Cell* 2010, 1, 718–725.

53. Agus, A.; Clément, K.; Sokol, H. Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders. *Gut* 2021, 70, 1174–11
54. Kim, Y.S.; Unno, T.; Kim, B.Y.; Park, M.S. Sex Differences in Gut Microbiota. *World J. Men's Health* 2020, 38, 48–60
55. Singh, R.K.; Chang, H.W.; Yan, D.; Lee, K.M.; Ucmak, D.; Wong, K.; Abrouk, M.; Farahnik, B.; Nakamura, M.; Zhu, T.H.; et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J. Transl. Med.* 2017, 15, 73.
56. Mirzayi, C.; Renson, A.; Genomic Standards Consortium; Massive Analysis and Quality Control Society; Zohra, F.; Elsafoury, S.; Geistlinger, L.; Kasselmann, L.J.; Eckenrode, K.; van de Wijkert, J.; et al. Reporting guidelines for human microbiome research: The STORMS checklist. *Nat. Med.* 2021, 27, 1885–1892.
57. Donaldson, G.P.; Lee, S.M.; Mazmanian, S.K. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016, 14, 20–32
58. Wang, P.; Ng, Q.X.; Zhang, B.; Wei, Z.; Hassan, M.; He, Y.; Ong, C.N. Employing multi-omics to elucidate the hormetic response against oxidative stress exerted by nC60 on *Daphnia pulex*. *Environ. Pollut.* 2019, 251, 22–29.