



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA  
"TOR VERGATA"**

FACOLTA' DI MEDICINA

DOTTORATO DI RICERCA IN  
FISIOLOGIA DEI DISTRETTI CORPOREI

CICLO DEL CORSO DI DOTTORATO  
XXI

Valutazione degli effetti dell'alimentazione biologica sui parametri  
metabolici.

Ilaria Stazi

A.A. 2008/2009

Docente Guida/Tutor: D.re Donato Di Pierro

Coordinatore: Prof. Antonino De Lorenzo

## CAPITOLO 1: La Dieta Mediterranea italiana di riferimento, biologica.

### **1.1 Introduzione**

### **1.2 La Dieta Mediterranea Italiana di riferimento**

*1.2.1. Cenni storici*

*1.2.2. Componenti della Dieta Mediterranea di Riferimento*

*1.2.3. Il consumo della frutta e della verdura come prevenzione dei tumori solidi dell'apparato gastroenterico.*

*1.2.4. Dieta mediterranea e malattie cardiovascolari*

*1.2.5. Effetto della dieta mediterranea tradizionale sull'ossidazione delle lipoproteine.*

*1.2.6. L'olio d'oliva e il sistema cardiovascolare*

*1.2.7. Dieta Mediterranea e Alzheimer*

*1.2.8. Importanza degli alimenti funzionali nella Dieta Mediterranea*

*1.2.9. Dieta e geni: interazioni nell' eziologia delle malattie croniche.*

### **1.3. Alimenti biologici**

***Bibliografia***

## CAPITOLO 2: Alimentazione biologica e aspetti nutrizionali

### **2.1 Introduzione**

### **2.2 Livelli di assunzione giornalieri raccomandati di energia e nutrienti per la popolazione italiana (LARN).**

### **2.3 Fabbisogno energetico**

*2.3.1 I carboidrati*

*2.3.2. Le proteine*

*2.3.3. I lipidi*

*2.3.3 Livelli di assunzione raccomandati di nutrienti (LARN)*

### **2.4 Stress ossidativo.**

*2.4.1. Target dello stress ossidativo: proteine, DNA, lipidi di membrana.*

### **2.5 Gli agenti antiossidanti.**

***Bibliografia***

## CAPITOLO 3: Funzionalità degli alimenti

### **3.1. Introduzione**

### **3.2. Definizione di alimento funzionale**

### **3.3. Regolamentazione e sicurezza**

*3.3.1 Aspetti normativi relativi all'ETICHETTATURA e agli HEALTH CLAIMS*

*3.3.2 Validazione dei claims*

*3.3.4. FDA e Claim*

### **3.4. Valutazione dell'effetto salutistico degli alimenti funzionali**

### **3.5. Il documento europeo di consenso sui “functional foods” della Comunità Europea**

#### *Bibliografia*

## CAPITOLO 4: Disegno sperimentale, materiali e metodi.

### **4.1. Introduzione**

### **4.2. Razionale dello studio**

### **4.3. Materiali e metodi**

*4.3.1. Dispendio energetico e tecniche di misura*

*4.3.2. I metodi antropometrici per la misura della composizione corporea*

*4.3.3. Impedenziometria*

*4.3.4. DXA (Dual energy X-ray Absorptiometry)*

*4.3.5. Rilevamento delle abitudini alimentari*

*4.3.6. Dosaggio ORAC*

*4.3.7. Valutazione dello stato energetico cellulare e dei livelli di MDA ematici (HPLC)*

*4.3.8. Elaborazione statistica*

### **4.4. Risultati e discussione**

#### *Bibliografia*

## CAPITOLO 5: Conclusioni

# CAPITOLO 1

## DIETA MEDITERRANEA ITALIANA DI RIFERIMENTO BIOLOGICA

### 1.1 Introduzione.

La Dieta Mediterranea riscuote sempre più attenzione per la sua relativa associazione inversa con le malattie cardiache e diverse forme di cancro. L'osservazione di fondo è derivata osservando lo stato di salute degli adulti che vivono nelle zone bagnate dal Mare Mediterraneo, a partire dall'inizio degli anni '60. Tale effetto positivo non può essere spiegato tramite una differenza nei livelli di formazione, situazione finanziaria o sistemi di sanità, semplicemente perché in questa zona negli anni 60, gli indicatori socio-economici erano molto più bassi di quelli nei paesi industrializzati. Così l'attenzione si è concentrata sulla dieta come uno dei fattori esplicativi chiave. Già nel 1960 diverse ricerche scientifiche avevano posto domande di primaria importanza, particolarmente concernenti la Dieta Mediterranea ed i suoi effetti sulla salute. L'odierna questione è invece "In quale direzione sta cambiando questa dieta?". Per potere rispondere a questo dilemma, dobbiamo conoscere che cosa è la Dieta Mediterranea. Sono almeno 16 i paesi bagnati dal Mare Mediterraneo. Le loro popolazioni variano in termini di cultura, religione, condizione economica e politica e parecchi altri fattori che possono influenzare lo stile alimentare. Tuttavia, la dieta di questi paesi mostra in comune molte caratteristiche, le quali sono concentrate intorno al consumo dell'olio di oliva, insieme ad un consumo ingente di frutta e di verdura. Quindi, una definizione globale della Dieta Mediterranea può derivare dalle osservazioni, dai rapporti e dai risultati degli studi svolti in questa zona negli anni 50 e negli anni 60.

Il primo tentativo sistematico di studiare i modelli dietetici nella regione mediterranea è avvenuto nel 1948 sull'isola di Creta. A quel tempo, il governo greco era preoccupato per le circostanze del dopoguerra ed ha invitato il fondamento del Rockefeller ad intraprendere uno studio epidemiologico per consigliare il governo su come sollevare il livello della vita della popolazione. Il rapporto di studio è stato pubblicato nel 1953 e citiamo da questo rapporto: "le olive, i grani di cereale, i legumi, la frutta, i verdi selvaggi e le erbe, insieme alle quantità limitate di carne e di latte di capra, ed ai pesci, sono costitutive l'alimentazione di base.... nessun pasto era completo senza il pane. Le olive e l'olio di oliva hanno un contributo pesante nell'introito energetico. L'alimento sembra letteralmente "nuotare" in olio., I dati inoltre hanno indicato il frequente consumo del vino. Così poi continua "Nel complesso, il loro modello e le loro abitudini alimentari erano estremamente buone, adattate alle loro risorse naturali ed economiche, così come i loro bisogni,.. La cosa interessante, tuttavia, è che chiesero ai partecipanti di indagine di giudicare la loro dieta quotidiana. Nel rapporto è accennato soltanto che una famiglia su sei giudicò la loro dieta tipica

essere soddisfacente. Viene citata un'affermazione di una famiglia: "siamo affamati più del tempo., La carne, il riso, i pesci, la pasta, il burro ed il formaggio, in quell'ordine di priorità, erano gli alimenti più voluti dai dichiaranti di indagine per migliorare la loro dieta. La carne era il primo alimento di priorità, poichè è stata accennata dal 72% del campione studiato. Quei Greci che negli anni 60 non erano soddisfatti della loro dieta, hanno scelto la carne come loro alimento favorito quando le circostanze del dopoguerra sono state sormontate.

Unendo i risultati degli studi svolti in Grecia, negli anni 50 e negli anni 60, emerge che la Dieta Mediterranea era un modello dietetico basato principalmente sugli alimenti vegetali. L'olio di oliva era usato come il maggiore, se non l'unico, lipide aggiunto. Questa dieta era bassa nell'introito degli acidi grassi saturi, contribuenti il 7% - 8% dell'introito totale di energia. L'introito totale di lipidi variava dal 25% al 40%, e secondo i dati registrati a quel periodo, la vita quotidiana della gente mediterranea ed il loro lavoro nei campi hanno permesso loro di avere un'attività fisica normale.

Venendo ora al presente e prendendo in considerazione le indagini nazionali in un confronto internazionali, anche se sono di comparabilità limitata a causa delle variabili metodologie usate, si osserva che le popolazioni del Mediterraneo hanno aumentato significativamente il loro consumo di carne e latticini, particolarmente formaggio, mentre il consumo dell'olio di oliva e delle frutta è diminuito. Negli anni 80 si è osservato un aumento netto nel rifornimento degli oli vegetali poli-insaturi in Grecia, come risultato di una campagna, molto riuscita, che parlava alla popolazione greca circa il potenziale indennità-malattia degli oli di semi. Durante questo periodo, il consumo dell'olio di oliva è diminuito in Grecia, non acutamente, ma esso è diminuito.

L'Olio di oliva fornisce quasi la totale disponibilità dei grassi aggiunti sia in Grecia che in Spagna ed in Italia. Tuttavia, l'olio di semi, è diventato sempre più popolare nel Portogallo. In Francia invece, il consumo dell'olio di oliva non è frequente. I paesi mediterranei registrano la più alta disponibilità di frutta e di verdura, ma si sono allontanati chiaramente dagli alti valori registrati negli anni 60.

La banca dati di DAFNE permette il controllo delle disponibilità alimentari all'interno delle regioni di un paese. Da uno studio degli anni '90 è emerso che a Creta la disponibilità di carne eccedeva i 160g/persona/die, mentre nei sette paesi studiati (*Seven Country Study*) all'inizio degli anni 60, il consumo della carne era 35g a persona al giorno. Inoltre gli studi nazionali intrapresi hanno mirato a mostrare come le popolazioni aderiscono alla dieta mediterranea tradizionale. Tra i primi Trichopoulou ed i suoi colleghi, in uno studio condotto negli anni '80, hanno ricostruito un disegno di dieta definito a priori, utilizzato per valutare l'aderenza alla dieta Greco-Mediterranea tradizionale. Lo studio condotto sulla popolazione anziana di alcuni paesi greci evidenziò che soltanto il 19% della popolazione esaminata inseriva nella propria dieta due o meno degli otto componenti, caratteristici del modello mediterraneo di dieta, mentre il 57% possedevano da quattro

a più degli otto componenti desiderabili. Questi risultati mostravano a quel tempo il collegamento degli anziani Greci rurali alla loro tradizionale dieta.

Lo studio EPIC, condotto da *Costacou T. et al.* e pubblicato nel 2003, dimostra come in termini di assunzione calorica non si evidenziava nessuna differenza, con la sola eccezione dell'alcool che contribuisce per il 5% della presa energetica nei maschi e soltanto per l'1% per le femmine. Tuttavia, la percentuale di energia derivata dai grassi saturi risultava essere aumentata dall'8%, riportato nel Seven Country Study, al 13%. Nella stessa pubblicazione e usando gli stessi dati, è stato possibile identificare i modelli dietetici dei partecipanti greci allo studio EPIC. Quattro modelli sono stati identificati. Il primo è stato associato con l'alta assunzione dell'olio di oliva, della verdura, dei legumi, della frutta, del pesce, secondo il modello della Dieta Mediterranea. Il secondo principalmente riflette una dieta vegetariana, con l'enfasi sugli oli di semi, piuttosto che sull'olio di oliva. Il terzo riflette una preferenza per i dolci e l'ultimo riflette una dieta tipo-occidentale. E' stata poi valutata l'associazione di questi quattro modelli con la Dieta Mediterranea precedentemente definita. Il risultato è stato un'associazione positivamente forte con il modello 1, essenzialmente indipendente dal modello 2 e 3 e negativamente collegato con il modello 4. Questi risultati danno rilievo all'interpretabilità del modello 1, il modello mediterraneo di dieta. Il modello 1 è stato associato positivamente con il genere femminile, l'età, la formazione, l'attività fisica e la condizione non-fumante, indicando che questo tipo di dieta principalmente rappresenta la scelta dei Greci contemporanei istruiti e salute-coscienti. Il modello 1 era inoltre più seguito nelle isole, che sono essenzialmente rurali, mentre i segni più bassi erano evidenti in Attica ed in Grecia del Nord, incluso le grandi città di Atene e di Thessalonica.

In generale, i modelli dietetici sono il risultato della continua interazione fra gli alimenti tradizionali e l'assimilazione di nuovi alimenti. E' accordo unanime nella comunità scientifica che la Dieta Mediterranea è salutare. Tuttavia, è importante provare a capire che cosa è ora la Dieta Mediterranea, che cosa è stata e in che senso sta cambiando. Per quanto riguarda gli sforzi delle popolazioni mediterranee, è necessario invertire il cambiamento, non solo come una necessità di promuovere la salute nelle nostre popolazioni ma anche come uno dei pochi modi di conservare la nostra tradizione. Una Dieta Mediterranea unica, di per se, non esiste, poiché è differente ed ha effetti differenti da paese a paese, ed anche da regione a regione. Capire il contributo della Dieta Mediterranea alla salute e alla longevità è complicato dal fatto che non possiamo considerare la Dieta Mediterranea come una singola entità, ma piuttosto come parecchi modelli dietetici con caratteristiche comuni che sono intrecciate con complessi stili di vita e con profili genetici mediterranei che differiscono da regione a regione e da altre parti del mondo. Il patrimonio genetico, che nell'uomo ha come configurazione predeterminata la suddivisione in 46 cromosomi, possiede unità specifiche, i geni, che determinano ogni peculiarità e caratteristica vitale e che inoltre regolano le molteplici risposte di adattamento all'ambiente esterno ed anche alla nutrizione. I nutrienti giocano un ruolo fondamentale dunque, non solo sostenendo i processi metabolici

(agendo come substrato, o coenzima, o cofattore per tali processi) ma anche nella regolazione dell'espressione genica. Le interazioni geni-nutrienti possiedono il potenziale di influenzare ogni momento della vita, il concepimento, la crescita e lo sviluppo, la durata della vita in buona salute e, addirittura, avere un ruolo tutt'altro che secondario nelle malattie che provocano la morte. L'impatto delle malattie cronico-degenerative è in rapido aumento in tutto il mondo e non è limitato soltanto ai paesi sviluppati. Al contrario di quanto si pensi, i paesi in via di sviluppo risentono in modo sempre più pesante di seri problemi di salute pubblica dovuti alle malattie croniche. Il miglioramento degli standard di vita, l'espansione e la diversificazione della disponibilità di alimenti, l'aumento dell'accesso ai servizi, hanno portato ripercussioni negative, in termini di acquisizione di modelli dietetici impropri, riduzione dell'attività fisica e aumento dell'abitudine al fumo e di conseguenza, soprattutto nelle popolazioni povere, un corrispondente incremento delle malattie croniche legate alla dieta. L'iniziale denominazione "malattie del benessere" attribuita alle malattie croniche è diventata inappropriata, poiché ormai queste patologie detengono un primato sia tra gli abitanti dei paesi poveri sia tra gli strati poveri della popolazione dei paesi ricchi.

Il ruolo della dieta, della nutrizione e dello stile di vita, quali determinanti delle malattie cronico-degenerative non trasmissibili viene concordemente accettato dalla comunità scientifica, pertanto questi fattori occupano una posizione di rilievo nelle strategie di prevenzione, poiché patologie come obesità, diabete mellito, malattie cardiovascolari (CVD, cardiovascular disease), ipertensione, ictus cerebri, e alcune neoplasie sempre più spesso stanno diventando cause significative di disabilità e morte prematura sia nei paesi in via di sviluppo sia in quelli sviluppati. Le abitudini alimentari svolgono un ruolo fondamentale nella promozione e nel mantenimento di un buono stato di salute. Le caratteristiche nutrizionali di alcuni alimenti sono correlate con la prevenzione e la terapia di numerose patologie, malattie croniche cui dieta e nutrizione si associano in maniera rilevante e che costituiscono un pesante fardello per la salute pubblica, in termini sia di costi diretti per la società che per le istituzioni. Lo scopo primario della dieta è quello di fornire i principi nutritivi di base necessari a soddisfare le esigenze nutrizionali della persona in modo tale da prevenire malattie e disturbi dovuti alla carenza di certi principi nutritivi e fornire i mattoni di base quali acqua, proteine, carboidrati, lipidi, vitamine e sali minerali, fondamentali per lo sviluppo e la crescita e/o la riparazione dei tessuti. Negli ultimi anni però, il concetto di cibo ha subito una radicale trasformazione fino al punto da attribuire agli alimenti, oltre alle classiche proprietà nutrizionali e sensoriali, anche un importante ruolo nel mantenimento di un corretto stato di salute e nella riduzione dell'insorgenza di alcuni tipi di patologie. Si è arrivati ad affermare che la dieta può aiutare non solo a raggiungere uno stato di salute e di sviluppo ottimali, ma potrebbe anche giocare un ruolo importante nel ridurre il rischio di certi disturbi e malattie.

Pertanto la moderna scienza dell'alimentazione è andata oltre i concetti classici di nutrizione ed è passata dal concetto di alimentazione "adeguata" a quello di alimentazione "positiva" o "ottimale". Gli stessi consumatori, negli ultimi decenni, hanno dimostrato un aumento dell'interesse per il rapporto esistente tra alimentazione e salute; attualmente infatti è ampiamente riconosciuto che è possibile ridurre il rischio di malattie e conservare salute e benessere seguendo uno stile di vita sano, che include anche una dieta corretta ed una adeguata attività motoria. Le continue conferme, poi, che alimenti come frutta, verdura e cereali integrali sono importanti nella prevenzione di certi tipi di malattie, e le più recenti ricerche su sostanze antiossidanti alimentari e su particolari sostanze protettive presenti nelle piante, hanno ancor più convinto i consumatori a dare importanza al tipo di prodotti da consumare. Il risultato di questa storica metamorfosi che si sta verificando attorno agli alimenti ed al concetto di nutrizione è rappresentato da una nuova categoria di prodotti chiamati *alimenti funzionali* cioè alimenti potenzialmente in grado di migliorare lo stato di salute e benessere e di ridurre il rischio, o ritardare l'insorgenza, di gravi patologie quali le malattie cardiovascolari, il cancro e l'osteoporosi. Oggi gli sforzi sono concentrati sull'identificazione e lo sviluppo di tali prodotti che, abbinati ad uno stile di vita sano, potrebbero dare un contributo concreto alla salute ed al benessere. L'Unione Europea sostiene lo sviluppo di due tipi di definizione per gli alimenti funzionali:

- correlati al "miglioramento di una funzione biologica" che fanno riferimento a specifici effetti positivi di un alimento o componente alimentare su specifiche attività fisiologiche, psicologiche e biologiche che vanno oltre il loro ruolo accertato nella crescita, nello sviluppo ed in altre normali funzioni dell'organismo. Questo tipo di dicitura non fa riferimento ad una malattia o ad uno stato patologico; ad esempio alcuni oligosaccaridi non digeribili migliorano la crescita di una determinata flora batterica nell'intestino; la caffeina può migliorare l'efficienza cognitiva.
- correlati alla "riduzione del rischio di malattia", che riguardano la possibilità di ridurre il rischio di malattia attraverso il consumo di un alimento o di un componente alimentare che potrebbe contribuire alla riduzione del rischio di una data malattia o di uno stato patologico grazie a specifici nutrienti o non nutrienti in esso contenuti (ad esempio il folato può ridurre in una donna la probabilità di avere un figlio con difetti del midollo spinale ed un apporto sufficiente di calcio può contribuire a ridurre il rischio di osteoporosi nell'anzianità).

Diventa sempre più importante capire come la dieta e le sue modificazioni inducano effetti, sia positivi sia negativi, sulla salute durante tutta la vita, come gli adattamenti alla dieta possano non solo influenzare la salute di oggi, ma anche agire nel determinare se un soggetto svilupperà o meno, nel corso del tempo, patologie quali cancro, malattie cardiovascolari o diabete. Un noto



fattore indipendente di rischio accertato per la malattia aterosclerotica cardiovascolare, ictus, patologia occlusiva arteriosa e trombosi è ad esempio l'iperomocisteinemia. L'HHcy è risultata essere un sensibile marcatore di deficit delle vitamine correlate (folato e/o vitamina B12 o vitamina B6) ed in questi ultimi anni sta sempre più emergendo la sua implicazione in un'ampia gamma di condizioni fisiologiche o patologiche, quali, ad esempio, complicanze nel corso della gravidanza e/o alla nascita, menopausa, insufficienza renale cronica, trapianto di rene, alterazioni cognitive nell'anziano, ipotiroidismo, disordini psichiatrici, diabete di tipo 1 e 2, neoplasie. La riduzione della quantità di colesterolo ed i grassi totali e saturi nell'alimentazione riduce i livelli di colesterolo LDL nel plasma, facendo abbassare il rischio di sviluppo dell'arteriosclerosi. La riduzione dell'eccessivo consumo di sali, alcol, ed un aumento del potassio e degli acidi grassi polinsaturi n-3 possono portare benefici sostanziali nella cura dell'ipertensione. Nelle persone con diabete mellito la terapia nutrizionale è associata al raggiungimento e mantenimento delle concentrazioni di glucosio nel sangue in un range di normalità ed è rivolta a ridurre o curare le complicanze a lungo termine della malattia. L'importanza della nutrizione con calcio e vitamina D in relazione con la prevenzione dell'osteoporosi e delle relative fratture. Il consumo di frutta e verdura fresche è associato con una riduzione del rischio di diversi tipi di cancro.

Alla luce delle evidenze scientifiche, che mostrano l'importanza della scelta di un regime alimentare sano ed equilibrato, possibilmente che rispetti i dettami unici della Dieta Mediterranea di Riferimento come migliore combinazione di alimenti, qualitativamente e quantitativamente, in grado di prevenire inadeguatezze nutrizionali e fornire componenti alimentari dotati di elevati effetti protettivi nei riguardi delle malattie cronicodegenerative, risulta essere di notevole interesse osservare come lo stile alimentare della Dieta Mediterranea di Riferimento, può variare l'introito di nutrienti e componenti alimentari se a parità di scelta degli alimenti la componente differenziatrice è l'origine di quest'ultimi: *alimenti di origine convenzionale o di origine biologica*. La Dieta Mediterranea di Riferimento è un modello alimentare che è tradizione, cultura ed equilibrio, ed il modello alimentare italiano di oggi conserva solo pochi aspetti della "vera" Dieta Mediterranea che si caratterizzava per una alimentazione composta da cibi naturali, senza additivi o conservanti chimici. Salvo eccezione per alcuni prodotti di cui era necessario l'approvvigionamento per la stagione invernale (carne di maiale elaborata e conservata, carni secche, oppure frutta trasformata in marmellate o conservata in luoghi riparati ma ben ventilati), tutto il resto veniva consumato praticamente fresco o nell'arco di pochi giorni. Una Dieta Mediterranea Biologica ben bilanciata e basata solo su alimenti biologici oltre a preservarci dall'assunzione di fitofarmaci e pesticidi, dai concimi azotati (che determinano la diminuzione del valore biologico delle proteine), dai concimi potassici (che abbassano il magnesio e i minerali) e dai concimi fosfatici (che danno una minore quantità di vitamine), migliora due parametri rispetto ai prodotti convenzionali: diminuisce i fattori infiammatori e aumenta i principi antiossidanti presenti nel nostro corpo. L'aumento della capacità antiossidante del sangue e l'aumento di acido

folico riducono il rischio di diabete, di malattie cardiovascolari e tumori, grazie all'abbassamento dei livelli di omocisteina e citochine infiammatorie.

## **1.2 La Dieta Mediterranea Italiana di riferimento**

### *1.2.1 Cenni storici*

In uno studio su 457.311 partecipanti (uomini e donne del programma EPIC) un alto consumo di carne rossa, principalmente carne rossa trasformata, è stato associato con un rischio aumentato di infarto miocardico mortale. Mentre è stato evidenziato come effetto protettivo il consumo di pesce, l'attività fisica, il ridotto consumo di alcool, l'aumentato consumo di frutta e verdure fresche.

Il concetto che la Dieta Mediterranea fosse un utile strumento per impedire mortalità e morbosità di malattia coronarica è iniziato in Italia. Dopo la seconda guerra mondiale venne osservato che la frequenza degli infarti miocardici erano molto più bassi nell'ospedale di Napoli che negli ospedali di Boston e quello era realmente il punto di partenza di tutti gli studi. In particolare, il ruolo preventivo della Dieta Mediterranea è stato messo in evidenza nello Studio Cooperativo Internazionale di Epidemiologia della Cardiopatia Coronarica, meglio noto come *Seven Countries Study* (Studio dei Sette Paesi), iniziato nel 1958 dalla Sezione Nutrizione - Dipartimento di Medicina Interna, Università di Perugia in collaborazione con colleghi di Finlandia, Grecia, Giappone, ex-Jugoslavia, Olanda e Stati Uniti d'America. Per le nove coorti rurali europee si è notato che quelle mediterranee (Creta e Corfù in Grecia, Crevalcore e Montegiorgio in Italia e Dalmazia nella ex-Jugoslavia) presentavano al venticinquesimo anno di riesame un tasso di mortalità per cardiopatia coronarica di 978/10.000, mentre quelle non mediterranee (Finlandia orientale ed occidentale, Slavonia e Velika Krsna nella ex-Jugoslavia) presentavano

un tasso di mortalità più che doppio (1947/10.000).

La società italiana, dopo il 1950, è passata da un modello basato sull'agricoltura e incentrato sul nucleo familiare ad un modello industrializzato-collettivo, e questo passaggio ha indotto notevoli cambiamenti nello stile di vita e nelle abitudini alimentari. *Fidanza ed altri*, hanno esaminato longitudinalmente le modificazioni dei consumi alimentari, che si sono verificati non solo nelle coorti degli uomini delle due aree rurali di Crevalcore (Bologna) e di Montegiorgio (Ascoli Piceno) ma anche in gruppi di anziani della città di Perugia e nelle famiglie di Pollica e Rofrano nel Cilento. Questo studio era finalizzato a valutare in maniera obiettiva i cambiamenti nella dieta ed alla elaborazione dell'indice di adeguatezza mediterraneo (IAM). Tale indice può essere facilmente ottenuto dividendo la somma della percentuale dell'energia totale fornita dai gruppi di alimenti definiti come "mediterranei" (pane, cereali, legumi, patate, vegetali, frutta, pesce,

vino rosso, olio vegetale) per la somma delle percentuali dell'energia totale fornita dai gruppi alimentari definiti "non mediterranei" (latte, formaggio, carne, uova, grassi animali e margarina, bevande dolci, biscotti/torte, zucchero). In seguito, nel 1960 è stato paragonato lo IAM con la dieta di riferimento seguita dai soggetti di Nicotera (Nicotera, una graziosa città arroccata su uno sperone tra le montagne che si affacciano al Mar Tirreno a circa 60 km a nord di Reggio Calabria e terza area rurale italiana inizialmente inclusa nel Seven Countries Study) mostrando alti valori di IAM, dovuti alla netta prevalenza di alimenti tipici mediterranei. Il riesame, dopo circa 30 anni, dello IAM della dieta dei soggetti di Nicotera del 1960 e di quella degli uomini delle due aree, di Crevalcore e Montegiorgio, ed inoltre dei loro giovani parenti - figli e nipoti - nello stesso intervallo di età dei soggetti esaminati all'inizio dello studio ed ormai anziani, ha evidenziato che in entrambe le aree rurali i valori di IAM erano più bassi rispetto ai valori di Nicotera e andavano abbassandosi ulteriormente con il tempo, ciò che indica un progressivo di scostamento dalla Dieta Mediterranea. La dieta dei cittadini di Nicotera del 1960 è stata considerata la Dieta Mediterranea Italiana di Riferimento.

### *1.2.2 Componenti della Dieta Mediterranea di Riferimento*

La Dieta Mediterranea di riferimento potrebbe essere descritta in 8 punti principali:

- un alto consumo di olio extravergine di oliva
- un alto consumo di legumi
- un alto consumo di cereali
- un alto consumo di frutta
- un alto consumo di vegetali
- un consumo moderato di vino, preferibilmente rosso
- un consumo moderato di formaggi, latte e derivati
- un basso consumo di carne e prodotti derivati

La Dieta Mediterranea di Riferimento caratterizzata dal consumo bilanciato di alimenti ricchi di fibre, antiossidanti e grassi insaturi, offrirebbe un approccio alternativo salutare volto ad abbassare il consumo di grassi animali e di colesterolo nella dieta ed inoltre l'appropriato bilancio tra apporto e dispendio energetico. I rapporti tra i macronutrienti energetici rispondono a quelli riconosciuti come adeguati, cioè 12-15% dell'energia totale da proteine, 25-30% da lipidi e la restante quota da carboidrati. L'energia da alcol etilico, fornito principalmente dal consumo di vino durante i pasti rientra nei valori accettabili: per l'uomo 2-3 bicchieri al giorno e per la donna 1-2

bicchieri. Le proteine sono ben ripartite tra proteine di origine animale e vegetale. I carboidrati sono rappresentati, come richiesto dal nostro organismo, prevalentemente da amido; essi sono forniti in gran parte da frumento (pane, pasta) e in quantità minore da altri cereali e da legumi secchi, mentre la quota di saccarosio, per il moderato consumo di zucchero come tale e di dolci, è decisamente bassa. I cereali e i legumi secchi hanno un ruolo equilibratore nella dieta grazie al loro potere saziante, all'elevato contenuto di carboidrati complessi, alla ricchezza in fibra, all'apporto di proteine, vitamine e minerali. Il ferro è in questi alimenti ben rappresentato. I lipidi, i prodotti della pesca e l'olio vergine di oliva sono i principali responsabili dell'apporto di acidi grassi essenziali e di acido oleico, assicurando, in parallelo a un consumo ragionevolmente modesto di latte e derivati e di altri grassi di origine animale, i rapporti percentuali tra acidi grassi polinsaturi, saturi e monoinsaturi che i Comitati di esperti suggeriscono sull'energia totale giornaliera: 15% per l'acido oleico e un altro 15% tra acidi grassi saturi e polinsaturi. La quota di energia da acido oleico (monoinsaturo) nell'ambito degli acidi grassi rappresenta infatti nella Dieta Mediterranea la quota maggiore, che può anche superare il 15% dell'energia, ma sempre nel rispetto dell'adeguatezza energetica della dieta, l'energia da acidi grassi saturi risulta non superiore al 7% dell'energia totale, cosicché il rapporto acidi grassi polinsaturi/saturi è di circa 1:1. D'altronde dai risultati epidemiologici del Seven Countries Study emerge che un elevato apporto di acido oleico è negativamente correlato con il colesterolo plasmatico e con la mortalità per coronaropatia. Nel contesto della quota di acidi grassi essenziali anche il rapporto omega-6/ omega-3 è adeguato. E' ben nota l'azione degli acidi grassi omega-3 di prevenzione e controllo non solo delle malattie cardiovascolari, ma di varie altre patologie, come cancro, artrite reumatoide, psoriasi, cataratta. Un abituale consumo di pesce, caratteristico della Dieta Mediterranea di Riferimento, permette il soddisfacimento del bisogno in acidi grassi omega-3. L'abbondanza di frutta e verdura, oltre all'apporto considerevole di nutrienti minerali e vitaminici, assicura, nell'ambito di quest'ultimi, quelli con attività antiossidante (acido ascorbico, alfa-tocoferolo, retinolo, beta-carotene). Inoltre la frutta e la verdura insieme all'olio vergine di oliva, al vino rosso, alle erbe aromatiche (origano, prezzemolo, rosmarino), all'aglio, alla cipolla, al peperoncino (ingredienti usati generosamente nella cucina mediterranea), offrono una quantità di composti fenolici con un spiccata azione antiossidante che difficilmente è possibile raggiungere con altri tipi di dieta. L'olio vergine di oliva contiene varie sostanze antiossidanti: p-idrossifeniletanolo (tirosolo), 3-4-diidrossifeniletanolo (idrossitirosolo) e loro derivati idrolizzabili, tocoferoli, beta-carotene, lignani. Frutta, verdure, pane scuro, pasta, cereali integrali, legumi secchi sono gli alimenti portatori di fibra alimentare, nella cui composizione rientrano vari componenti con caratteristiche fisico-chimiche diverse e quindi con diversi effetti fisiologici. Le pectine sono le maggiori responsabili dell'effetto ipocolesterolemizzante in quanto si legano al colesterolo e acidi biliari. Il diminuito tempo di transito intestinale riduce l'entità del riassorbimento nell'intestino tenue. Molti studi epidemiologici hanno messo in evidenza una stretta associazione tra elevati consumi di frutta e

verdura e riduzione del rischio di malattie coronariche. Infine la Dieta Mediterranea di Riferimento include un'ideale ripartizione dell'energia e dei vari nutrienti tra i pasti durante la giornata.

### *1.2.3 Il consumo della frutta e della verdura come prevenzione dei tumori solidi dell'apparato gastroenterico.*

Gli studi relativi al cancro della bocca, faringe, laringe e l'esofago, indicano che l'alto consumo della frutta è associato con una riduzione notevole del rischio, che va da un 24% a un 47%. L'effetto protettivo è meno chiaro per le verdure. Esiste una protezione, ma non è statisticamente significativa. Da un punto di vista di sanità pubblica, questi risultati possono essere tradotti in quanto guadagneremmo se la gente aumentasse il loro consumo di frutta di un dato importo. Per usare una cifra tonda è stato stimato di quanto l'incidenza di questi tumori sono ridotti se l'intera popolazione e specialmente quelle con un consumo basso, aumentassero il loro consumo di frutta di 100g al giorno. Le valutazioni scientifiche basate sugli studi di gruppo suggeriscono che ci sarebbe una riduzione del 14% - 20%.

Gli studi riguardanti le variazioni di incidenza del cancro in Europa, intrapresi su un campione di 38.000 soggetti dai 521.000 partecipanti EPIC, mostrano che l'incidenza del cancro a Murcia e Granada è circa 1/3 più basso rispetto all'Inghilterra o la Svezia. Le variazioni sono ancora più grandi per variazioni di specifici tumori, e soprattutto sono molto grandi le variazioni nella dieta. Di conseguenza, risulta sempre più importante studiare il ruolo della nutrizione nell'eziologia del cancro.

Inoltre, il consumo di frutta e di vegetali, diminuiscono il rischio del cancro al colon-retto: i risultati suggeriscono una riduzione modesta del rischio connesso con il consumo della frutta, che è statisticamente significativo. I risultati provenienti dagli studi relativi al consumo di verdure sembrano essere meno chiari, e per il momento non mostrano associazione statistica specifica con il rischio del cancro del colon-retto. Un consumo in più di 30 grammi di fibra al giorno confrontato a 15 grammi è connesso con una riduzione significativa del rischio del cancro del colon-retto di circa 40%.

Quasi 30 anni fa, *Burkitt* ha proposto l'ipotesi della fibra, basata sull'osservazione che in Sudafrica la popolazione africana ha avuto l'incidenza molto bassa del cancro del colon-retto ed un introito di fibra molto alto. Mentre la popolazione Europea ha avuto un'alta incidenza del cancro del colon-retto ed un introito di fibra basso. È stato valutato che l'introito di fibra nella popolazione africana rurale poteva essere stimato come 70-80 grammi al giorno. Così, il livello più elevato del consumo in Europa è ancora del 50% circa più basso del livello che potrebbe essere trovato in popolazioni con un'incidenza molto bassa del cancro al colon-retto.

È ormai noto a tutti che ci sono stati alcuni avanzamenti importanti nel trattamento delle malattie che hanno migliorato le aspettative di vita dei malati, ma la prevenzione rimane chiaramente la strategia più efficace. La dieta è stata considerata lungamente come una degli più importanti influenze ambientali sull'evolversi del cancro al colon-retto. *Denis Burkitt* ha ipotizzato che una dieta molto alta in introito di fibra era accoppiata con l'incidenza molto bassa di cancro colon-retto in Africa. Ha sostenuto che la fibra ha assicurato la protezione contro carcinogenesi colon-rettale. Nei modelli animali la fibra può alterare la cancerogenesi colon-rettale. Ma i roditori non sono la gente. Studi metabolici umani suggeriscono che la fibra dietetica può avere una varietà di effetti fisiologici che potrebbero essere collegati con cancerogenesi colon-rettale. Il consumo di fibra dietetica è stato indicato interessare il peso ed il tempo di transito fecale; concentrazione fecale dell'acido di bile (ed acidi di bile, specialmente gli acidi di bile secondari, sono stati implicati in cancerogenesi colon-rettale); pH fecale; produzione di acidi grassi a catena corta (considerevolmente butirato, che può avere proprietà anticancro); e per concludere, proliferazione e apoptosi in epitelio colon-rettale.

#### *1.2.4. Dieta mediterranea e malattie cardiovascolari*

I benefici della Dieta Mediterranea affiancata all'attività fisica si traducono in una diminuzione di malattie cardiovascolari. *Harris* e colleghi, in uno studio prospettico pubblicato sull'*American Journal of Clinical Nutrition*, mostrano come il consumo di cibi tipici della dieta mediterranea sarebbe associato a una riduzione della mortalità per patologie cardiovascolari e cardiopatie ischemiche. Il *Melbourne Collaborative Cohort Study* ha seguito per circa 10 anni più di 40 mila volontari di età compresa tra i 40 e i 69 anni. Mediante un questionario sono state raccolte le abitudini alimentari e sono identificati quattro schemi dietetici: 1) mediterraneo, caratterizzato dal consumo di aglio, cetrioli, olio di oliva, insalata verde, peperoni, legumi, feta, ricotta, olive, pesce al vapore e pollo bollito; 2) a base di verdura; 3) carne, regime dietetico caratterizzato dal consumo di carne impanata o in polpette, uova fritte, bacon; 4) ricco di frutta. Dall'analisi dei dati è emersa un'associazione tra il consumo di cibi tipici della dieta mediterranea e la riduzione del rischio di mortalità per cause cardiovascolari (-49%) e cardiopatia ischemica (41%) e tale effetto protettivo è rimasto tale anche in seguito ad aggiustamento dei dati tenendo conto della presenza di diabete, ipertensione e dei valori di circonferenza addominale e IMC (Indice di Massa Corporea) e anche per coloro che nella storia clinica presentavano patologie cardiovascolari. Il consumo di regimi alimentari ricchi di frutta e verdura, invece, ridurrebbero la mortalità cardiovascolare e coronarica solo in coloro che non avevano mai sofferto di problemi cardiovascolari. Il consumo di una dieta ricca di carne, invece, non è stato associato a riduzione della mortalità.

Nello studio RIVAGE, è stata paragonata la specificità della Dieta Mediterranea alle raccomandazioni generali di AHA (*American Heart Association*), raccomandazioni alimentari per la gente a rischio per malattia cardiovascolare, con l'obiettivo di studiare i loro effetti sui fattori di rischio per la malattia vascolare coronarica, la Dieta Mediterranea, ricca di MUFA (monounsaturated fatty acids; acidi grassi monoinsaturi), ha un effetto più salutare sui parametri metabolici considerati fattori di rischio per la malattia cardiovascolare, rispetto ad una dieta a bassa percentuale di grassi. La differenza principale fra il tipo di AHA e la dieta mediterranea era proprio sulla quantità di lipidi. Nella dieta mediterranea era concesso fino a 38% dei lipidi, mentre il AHA concedeva fino al 30%. La differenza si traduce dunque anche nel quantitativo di carboidrati e proteine consumate e principalmente sulla quantità di acidi grassi monoinsaturi consumati: un livello di assunzione pari a più dell' 8%-10%. Per le altre sostanze nutrienti, fu stabilito un consumo di fibra un poco più alto per la Dieta Mediterranea, 7mg di equivalenti  $\beta$ -carotene come indicatore di frutta e di verdura, e 800mg del calcio come indicazione di moderata assunzione dei latticini. Con gli indicatori nutrizionali del plasma è stato dimostrato che il beta-carotene, il licopene ed i folati sono aumentati statisticamente nella Dieta Mediterranea e non significativamente nella dieta AHA. Il gruppo che aveva mangiato secondo il modello Mediterraneo aveva mostrato un miglioramento nell'insieme del modello dietetico: era cambiato il grasso, aumentata la fibra ed il beta-carotene, ciò significa inoltre che era aumentata la frutta e le verdure come conseguenza della diminuzione del consumo di carne. Le misure dei fattori di rischio per la malattia cardiovascolare: BMI, pressione sanguigna, spessore di intima-media di carotide, glicemia, insulinemia, trigliceridi, trigliceride lipoproteina, colesterolo LDL, HDL-colesterolo; un certo numero di Apoproteine, ApoA1, ApoB, ApoB48, che è un indicatore delle lipoproteine intestinali e ApoC3 ed anche alcuni fattori di trombosì. All'entrata ed alla fine dei 3 mesi, la mattina della prova i soggetti hanno ricevuto un pasto standard e sono stati analizzati diversi parametri post-prandiali dopo 2.5 ore e 5 ore. L'insieme dei dati ottenuti dopo i 3 mesi di intervento dietetico nei due gruppi mostrano una piccola riduzione del BMI, del 4-5%, quindi un piccolo cambiamento. Per quanto riguarda il colesterolo a digiuno del plasma, nei due gruppi, una riduzione significativa di questo parametro dopo la Dieta Mediterranea o la dieta AHA-prudente è stata osservata, ma l'ampiezza di cambiamento era notevolmente più alta dopo la Dieta Mediterranea che nella dieta AHA. Effettivamente, gli uomini di entrambi i gruppi e le donne nella dieta mediterranea, mostravano una riduzione significativa, ma non le donne nel gruppo di AHA. Inoltre per il colesterolo LDL a digiuno fu trovata una riduzione significativa di questo parametro dopo 3 mesi nei due gruppi, ma l'ampiezza della riduzione del gruppo di Dieta Mediterranea era quasi doppia rispetto alla riduzione dopo la dieta di tipo AHA: gli uomini e le donne del gruppo mediterraneo hanno mostrato la riduzione significativa ma non le donne nel gruppo AHA. Per il colesterolo HDL, dopo l'intervento dietetico l'ampiezza di cambiamento era trascurabile. Per i trigliceridi a digiuno del plasma, fu osservata una riduzione significativa di circa 12% per 3 mesi di Dieta Mediterranea. Un

cambiamento più basso era osservato dopo la dieta di AHA, senza differenza significativa. Il cambiamento è stato osservato sia in uomini che in donne, ma particolarmente nelle donne del gruppo di Dieta Mediterranea. Per il livello glicemia, fu segnalata una riduzione molto piccola senza differenza nei 2 gruppi. Per l'insulinemia una riduzione è stata osservata nei 2 gruppi con più rilievo nel gruppo mediterraneo. È interessante sapere che soltanto gli uomini del gruppo mediterraneo e le donne del gruppo mediterraneo hanno mostrato una riduzione significativa di insulinemia, ma non gli uomini e le donne del gruppo AHA. Per i parametri post-prandiali, misurati prima e dopo 5 ore il pasto standardizzato si è osservato: per i trigliceridi del plasma, non c'era riduzione dell'area sotto la curva nel gruppo della dieta AHA, ma è stata osservata una riduzione di circa 15% dopo la Dieta Mediterranea, senza differenza specifica nei due sessi; per ApoB48, un indicatore standard delle lipoproteine trigliceride-ricche che collega dieta e metabolismo lipidico, c'era una riduzione significativa dopo entrambe le diete, ma con un'ampiezza più marcata dopo la dieta mediterranea sia negli uomini che nelle donne. È interessante osservare come la Dieta Mediterranea sia chiaramente migliore nell'indurre alcuni cambiamenti positivi, particolarmente per i parametri colesterolo a digiuno del plasma e colesterolo LDL, e per i trigliceridi post-prandiali, anche se entrambe le diete migliorano la condizione metabolica, particolarmente per alcuni fattori di rischio quale BMI, il colesterolo a digiuno del plasma, colesterolo LDL, trigliceridi e insulinemia a digiuno, ma anche trigliceridi post-prandiali e ApoB48.

Numerosi studi epidemiologici hanno riscontrato un effetto benefico del consumo di pesce nei confronti delle patologie e della mortalità coronarica, della morte cardiaca improvvisa e della mortalità in generale. Per verificare se tale protezione sia dovuta all'azione antiaterosclerotica degli acidi grassi omega-3 contenuti nel pesce, *Nakamura* e colleghi in un recente studio (agosto 2007) pubblicato su *Metabolism* ha ricercato un'associazione tra il consumo di pesce e lo sviluppo di aterosclerosi in 250 uomini giapponesi (età 40-49 anni), liberi da patologie cardiovascolari. Tutti i partecipanti hanno compilato un questionario relativo allo stile di vita e alle abitudini alimentari, riferito in particolare alla frequenza con cui consumavano pesce: 103 hanno dichiarato di mangiarlo 4 o più volte la settimana. La misurazione dello spessore del complesso intima-media della carotide (indicatore della presenza di malattia aterosclerotica) ha evidenziato una maggiore predisposizione nei confronti dello sviluppo di aterosclerosi in coloro che consumavano le minori quantità di pesce, rispetto ai maggiori consumatori (0,623 mm contro 0,605mm). Tale differenza nello spessore della parete carotidea è rimasto invariato in seguito a una seconda analisi dei dati che tenesse conto di alcuni fattori quali l'età, la circonferenza addominale, l'abitudine al fumo, il consumo di alcool, la presenza di diabete e l'assunzione di farmaci; mentre tenendo conto dei valori di colesterolo LDL, HDL, trigliceridi e proteina C reattiva, le differenze tra i due gruppi di consumatori svaniscono. Secondo gli autori questo risultato sta ad indicare un effetto protettivo del consumo di pesce nei confronti dell'aterosclerosi, dovuta probabilmente all'azione di tipo antinfiammatorio di alcuni componenti del pesce stesso (omega-3). Nello studio condotto dal *Gruppo Italiano per lo Studio*



*della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)*, un trial che riguardava soggetti sopravvissuti a un infarto miocardico sono stati impiegati oli di pesce. Dopo un follow-up di 3,5 anni, il gruppo che riceveva olio di pesce presentava una riduzione del 20% della mortalità totale, del 30% della mortalità cardiovascolare e del 45% di morte improvvisa. Molti studi prospettici hanno documentato una associazione inversa fra l'assunzione di acido  $\alpha$ -linoleico (elevato negli oli di semi di lino, di canola e di soia) e il rischio di malattia coronarica fatale.

Gli acidi grassi saturi aumentano il colesterolo totale e quello associato alle lipoproteine a bassa densità (colesterolo LDL), ma i singoli acidi grassi presenti all'interno di questi gruppi hanno effetti differenti. Gli acidi miristico e palmitico hanno il massimo effetto e sono abbondanti nelle diete ricche di latticini e carne. E' stato dimostrato che l'acido stearico non aumenta i livelli di colesterolo nel sangue ed è rapidamente convertito in vivo in acido oleico. Per ridurre l'incidenza della cardiopatia coronarica, i sostituti più efficaci degli acidi grassi saturi sono gli acidi grassi poliinsaturi, e in modo particolare l'acido linoleico. Questo dato è confermato dai risultati di numerosi studi clinici randomizzati di grandi dimensioni, nei quali si è visto che la sostituzione di acidi grassi saturi e trans con oli vegetali poliinsaturi determinava una riduzione del rischio di malattia coronarica.

Gli acidi grassi trans sono isomeri geometrici degli acidi grassi cis-insaturi e assumono una configurazione simile a quella degli acidi grassi saturi. L'idrogenazione parziale, processo usato per prolungare la scadenza degli acidi grassi poliinsaturi (PUFA), crea acidi grassi trans e, inoltre, rimuove i doppi legami critici negli acidi grassi essenziali necessari per la loro azione. Studi metabolici hanno dimostrato che gli acidi grassi trans rendono il profilo lipidico plasmatico ancor più aterogenico di quando non siano in grado di fare gli acidi grassi saturi, non solo aumentando di quote similari il colesterolo LDL ma anche riducendo il colesterolo associato alle lipoproteine ad alta densità (colesterolo HDL). Numerosi vasti studi di coorte hanno dimostrato che l'assunzione di acidi grassi trans aumenta il rischio di malattia coronarica. La maggior parte degli acidi grassi trans, sono forniti da oli resi "duri" attraverso processi industriali. Malgrado si stia cercando di ridurre o eliminare gli acidi grassi trans dai grassi messi in commercio e la loro diffusione in molte parti del mondo, i fast food che vendono cibi fritti e o arrostiti ne rappresentano una fonte importante e, purtroppo, in aumento.

Sostituendo gli acidi grassi saturi sia con gli acidi grassi monoinsaturi sia con gli acidi grassi poliinsaturi n-6, in studi metabolici, si ottiene una riduzione del colesterolo plasmatico totale e LDL; in questa azione, i PUFA sono leggermente più efficaci dei monoinsaturi. L'unico tra gli acidi grassi monoinsaturi che è rilevante dal punto di vista nutrizionale è l'acido oleico, abbondante nell'olio di oliva, nell'olio di canola e anche nelle noci. Il più importante acido grasso poliinsaturo è l'acido linoleico, presente in grande quantità specialmente nell'olio di soia e di girasole. I PUFA n-3 di maggiore importanza

sono l'acido eicosapentanoico e l'acido docosaesanoico che si trovano nel pesce grasso e l'acido  $\alpha$ -linoleico che si trova negli alimenti di origine vegetale. Gli effetti biologici dei PUFA n-3 sono ad ampio spettro, poiché agiscono a livello di lipidi e lipoproteine, pressione arteriosa, funzione cardiaca, compliance arteriosa, funzione endoteliale, reattività vascolare e elettrofisiologia cardiaca, inoltre esplicano effetti antiaggreganti e antiinfiammatori. I PUFA n-3 a lunga catena (acidi eicosapentanoico e docosaesanoico) producono una notevole diminuzione dei livelli sierici di trigliceridi, ma contemporaneamente aumentano quelli del colesterolo LDL. Pertanto, il loro effetto sulla malattia coronarica è probabilmente mediato da vie diverse rispetto a quella del colesterolo sierico.

#### *1.2.5 Effetto della dieta mediterranea tradizionale sull'ossidazione delle lipoproteine.*

In molti paesi, le linee guida per una sana alimentazione, suggeriscono l'importanza della riduzione dei consumi di grassi totali per ridurre l'obesità e il rischio malattie croniche. Il termine "grassi totali" però, non è molto utilizzabile considerando che grassi e oli sono due categorie distinte nel gruppo dei lipidi. Durante gli ultimi venti anni, si è molto studiato il differente ruolo dei diversi tipi di "grassi" e carboidrati sulla salute e sulle malattie. Il dibattito è ancora aperto e non può essere ignorato. E' necessario chiarire che gli effetti avversi alla salute dovuti ai grassi della dieta, sono dovuti ai grassi saturi e non ai monoinsaturi tipici dell'olio d'oliva. Per la prevenzione alle malattie cardiache è necessario ridurre i livelli di grassi saturi introdotti con la dieta, e per la prevenzione all'obesità è necessario ridurre l'apporto energetico totale. Esistono numerose evidenze sul fatto che gli antiossidanti, largamente derivati dai vegetali e dalla frutta, contribuiscono alla protezione contro le malattie cardiache, il cancro, le patologie neurodegenerative ed altre malattie, poiché sono i danni ossidativi i promotori di queste condizioni fisiopatologiche. Questo effetto protettivo è stato attribuito, almeno in parte, anche all'olio d'oliva che è il componente grasso principale della Dieta Mediterranea, ed inoltre fra gli oli d'oliva, l'olio vergine d'oliva ha il più alto contenuto di antiossidanti fenolici. Studi recenti hanno dimostrato che l'olio d'oliva ricco in polifenoli, riduce i danni ossidativi dei lipidi più di altri olii; oltre all'olio d'oliva, il consumo elevato delle verdure, frutta fresca, insieme ad un moderato consumo di vino, garantiscono un'alta presa di antiossidanti vitamine e polifenoli.

L'ossidazione dei lipidi conduce ad un cambiamento nella conformazione della lipoproteina tramite il quale LDL può meglio entrare nel monocita-macrofago promuovendo il processo aterosclerotico; tuttavia, anche se il ruolo dell'ossidazione del lipide nella malattia cardiovascolare aterosclerotica è lungamente riconosciuto, l'attinenza clinica dell'ossidazione della lipoproteina è

sotto dibattito. Il livello della lipoproteina a bassa densità ossidata, oxLDL, può svolgere un ruolo importante nell'aterosclerosi e nella malattia cardiovascolare ed è comunemente usato come indicatore per i danni ossidativi. Il tipo di dieta influenza i livelli di oxLDL ed la dieta mediterranea è connessa con il più basso livello di oxLDL del plasma. Di recente è stato evidenziato l'effetto della Dieta Mediterranea sull'ossidazione in vivo della lipoproteina LDL. Lo studio condotto, da *Montserrat et al.* e pubblicato nel giugno 2007, su 372 soggetti ad alto rischio cardiovascolare (210 donne e 162 uomini) ha evidenziato che gli individui i quali hanno migliorato la loro dieta verso un modello di Dieta mediterranea, mostravano riduzioni significative dell'ossidazione dell'LDL in vivo, paragonabili ai livelli degli individui che avevano seguito una dieta a bassa percentuale di grassi.

La riduzione dell'oxLDL promossa dalla dieta mediterranea concorda con la riduzione degli indicatori infiammatori, e con la riduzione della pressione sanguigna spiegabile almeno in parte con la riduzione del grado di ossidazione di LDL.

#### *1.2.6. L'olio d'oliva e il sistema cardiovascolare*

L'olio d'oliva è un alimento funzionale. Gli effetti benefici dell'olio di oliva sui fattori di rischio di malattie cardiovascolari sono ormai riconosciuti ed attribuiti spesso soltanto agli elevati livelli di acidi grassi monoinsaturi (MUFA). L'olio di oliva è, tuttavia, più di un alimento ricco di MUFA. I componenti secondari dell'olio d'oliva, che costituiscono solo 1-2% del contenuto totale dell'olio vergine di oliva, sono classificati in due tipi: la frazione in saponificabile, definita la frazione estratta dopo la saponificazione dell'olio tramite l'uso di solventi e la frazione solubile che include i residui fenolici. Componenti della frazione non saponificabile sono: idrocarburi (squalene), tocoferoli, alcoli grassi, alcool triterpenico, 4-metilsteroli, steroli, altri residui terpenici e pigmenti polari (clorofilla e feofitine). Grazie alle sue caratteristiche l'olio di oliva ha sicuramente un'azione salutare sull'apparato cardiocircolatorio. Questo sia in virtù della azione ipolipidemizzante dell'acido oleico, sia delle sue capacità antiossidanti che proteggono dalla ossidazione le LDL circolanti, esercitando pertanto, un effetto antiaterogeno. Ci sono poi evidenze sperimentali che indicano un effetto protettivo sia dell'acido oleico, che dei polifenoli nei confronti di alcuni tipi di tumore, non soltanto attraverso la inibizione del danno ossidativo, considerato un elemento importante nella cancerogenesi, ma anche modulando direttamente l'espressione di geni coinvolti nell'insorgenza e sviluppo di tumori.

Per poter meglio comprendere le qualità benefiche dell'olio d'oliva bisogna chiarire ciò che fa del sistema cardiovascolare un sistema a rischio di malattie. Il metabolismo delle lipoproteine LDL svolge un ruolo chiave nell'aterosclerosi e nello sviluppo di malattie cardiovascolari.

L'ossidazione dei lipidi e delle lipoproteine presenti in LDL conduce ad un cambiamento nella conformazione lipoproteina LDL tramite il quale può meglio entrare nel sistema macrofago/monocite della parete arteriosa e promuove il processo aterosclerotico. I monociti e i macrofagi oltre a promuovere l'ossidazione di LDL con produzione del radicale libero secernono citochine proinfiammatorie, quali IL-1 e TNF, che stimolano l'espressione delle molecole di adesione intercellulare-(ICAM-1), adesione cellular-vascolare (VCAM-1) e di E-selectina. I monociti circolanti sono attratti da queste molecole ed aderiscono all'endotelio, per poi da esso trasmigrare nello spazio subendoteliale. Una volta all'interno del endotelio, i monociti si differenziano in macrofagi, che a loro volta puliscono l'LDL ossidato, cellule conducenti alla formazione di placche. La risposta proinflammatory parte dai macrofagi che liberano il messaggero principale, la citochina IL6. L'IL6, dopo l'aggancio del relativo ricevitore sul fegato, promuove la secrezione della Proteina C reattiva(CRP). L' IL6 e la CRP sono i preannunciatori delle malattie cardiovascolari. Concentrazioni sieriche di CRP, IL6 e ICAM-1 sono state associate con la progressione di aterosclerosi, la misura dell'IL6 è il migliore preannunciatore della progressiva periferica aterosclerosi. Attualmente si pensa che l'LDL ossidato sia più offensivo rispetto all'LDL natale. Concentrazioni elevate LDL ossidato mostrano una relazione positiva con la severità degli eventi coronarici acuti; sono associati indipendentemente con lo spessore della carotide intima-media; ed entrambi sono i predittori per le malattie cardiovascolari nei pazienti di CHD e nella popolazione in genere.

Molti gli studi svolti, che confrontano gli effetti delle diete ricche di MUFA con quelli delle diete ricche in carboidrati o di PUFA (polyunsaturated fatty acids; acidi grassi polinsaturi) sulla predisposizione dell'LDL alla ossidazione. L'LDL ricco di oleato è risultato meno suscettibile di ossidazione che l'LDL ricco di linoleato. Rispetto alle diete ricche in carboidrati, i MUFA hanno avuto un effetto migliore, o paragonabile sulla riduzione della suscettibilità all'ossidazione dell'LDL e sono più protettive delle diete PUFA-ricche. I componenti secondari dell'olio di oliva inoltre possiedono attività antiossidante, anche se squalene o triterpeni sono stati studiati minormente, hanno mostrato l'attività antiossidante nelle circostanze sperimentali, le proprietà antiossidanti dei residui fenolici sono state studiate più estesamente. Negli studi sperimentali, i residui fenolici, come altri polifenoli pianta-derivati, mostrano proprietà antiossidanti potenti contro l'ossidazione dell'LDL. Nei modelli animali, composti fenolici dell'olio di oliva confermano le loro proprietà antiossidanti in vivo e ritardano la progressione dell'aterosclerosi. Il Tirosole (T) e l'idrossitirosole (HT), i maggiori residui fenolici dell'olio di oliva, vengono assorbiti dose-dipendentemente a partire dall'olio di oliva. Per questa motivo, possono essere usati come biomarkers del consumo dell'olio di oliva, un metodo così utile per controllare la conformità negli studi clinici. Il 98% di T e HT sono presenti nel plasma e nelle urine in forme coniugate, principalmente glucurono-coniugati. La bioattività dei composti fenolici dell'olio di oliva probabilmente è derivata dai loro metaboliti biologici. Infatti, è stato segnalato che il 3-O-

glucuronide di HT mostra attività più forte come pulitore radicale che HT in sé. I maggiori metaboliti identificati negli studi in vitro ed in vivo erano degli O-metilati derivati di HT, glucuronidi di HT e di T e glutationile di HT. La sintesi di questi metaboliti è stata recentemente descritta.

La predisposizione di LDL ad ossidazione, limitando l'osservazione solo all'LDL, dipende non solo dal suo contenuto relativo di grasso, ma dal contenuto di antiossidanti di LDL (cioè di la vitamina E e di polifenoli). I Polifenoli limitano l'aumento di LDL umano in modo dose-dipendente, amministrando il contenuto di fenoli dell'olio di oliva. L'HT ed i suoi metaboliti sono capaci di legare LDL umano dopo ingestione dell'olio di oliva. I composti fenolici che possono legare l'LDL, probabilmente effettuano la loro attività di lavaggio nell'intima arteriosa, dove l'LDL ormai ossidato si presenta in microdomini sequestrati dalla ricchezza degli antiossidanti presenti nel plasma. Le dimensioni delle particelle dell'LDL, inoltre, dipendono dall'ossidabilità della lipoproteina, suggerendo che la reazione di ossidazione è maggiormente implicata nella piccola, densa particella LDL formata. I piccoli, densi LDL sono più inclini ad ossidazione e ad entrare più prontamente nella parete arteriosa rispetto alle più grandi particelle di LDL capaci di galleggiare e acceleranti lo sviluppo di aterosclerosi. La dimensione delle particelle della lipoproteina LDL è influenzata dal grasso dietetico. Le diete a basso contenuto di grassi portano ad una diminuzione della taglia delle particelle LDL, rispetto alle diete con alti livelli di grassi. Diete con alti livelli di MUFA, basati sull'olio d'oliva, tuttavia, aumentano le dimensioni delle particelle di LDL più delle diete ricche di carboidrati, questo effetto è influenzato dai genotipi apoE. In individui con anormale metabolismo del glucosio e diabete di tipo II, il consumo di alti livelli di PUFA è associato con piccole particelle di LDL, ma non con la predisposizione all'ossidazione dell'LDL, in vitro.

Inoltre è stato dimostrato che l'olio d'oliva con i suoi componenti principali e secondari possono modulare l'infiammazione e l'attivazione dell'endotelio. In modelli di cellule endoteliali coltivate, l'acido oleico inibisce l'espressione di mRNA di VCAM-1, l'adesione del monocita ed il fattore-kappaB nucleare, fattore chiave della trascrizione. Nei modelli animali, la dieta ricca in olio d'oliva ha portato alla soppressione dell'attività delle cellule killer e dell'espressione dei recettori per l'IL 2 e transferrina. Molti studi sugli esseri umani sostengono l'effetto benefico delle diete ricche in olio d'oliva riguardo l'infiammazione, poiché l'adesione del monocita all'endotelio, sotto induzione dell'LDL, era più bassa dopo il consumo di MUFA che dopo il consumo di SFA (saturated fatty acids, acidi grassi saturi) o di PUFA in individui sani. *Yaqoob et al.* ha segnalato una diminuzione nell'espressione di ICAM-1 dalle cellule mononucleari di sangue periferico da individui sani che hanno consumato una dieta ricca in acido oleico per un periodo di 2 mesi. *Esposito et al.*, in un aggiornamento di due anni su pazienti con la sindrome metabolica, ha trovato che, oltre ad un miglioramento del rischio del profilo lipidico cardiovascolare, un intervento con la

dieta di stile Mediterraneo ha migliorato la funzione endoteliale ed i livelli degli indicatori infiammatori vascolari.

Negli studi di popolazione, è stato mostrato un rapporto inverso fra la pressione sanguigna arteriosa ed il consumo di olio d'oliva. Negli individui con ipertensione, è stato osservato l'effetto dell'olio d'oliva sulla riduzione della pressione sanguigna sistolica e diastolica, rispetto alle diete ricche in PUFA. Ed inoltre che questo effetto è dovuto alla componente fenolica. Le potenziali attività vasodilatatorie dei triterpeni, quali acido oleanolico o eritrodiole sono attualmente argomento di interesse e di studio.

### *1.2.7 Dieta Mediterranea e Alzheimer*

L'Alzheimer è una malattia complessa che di certo trova le basi in parte nelle componenti ereditarie (genetiche) in parte negli stili di vita.

Nel Novembre 2004 una notizia ANSA così riportava: “ Riscoprire la dieta mediterranea che non solo allontana i rischi cardiovascolari ma è particolarmente utile per ritardare l'apparizione di malattie degenerative mentali, come l'Alzheimer. L'appello in favore di un buon regime alimentare povero di colesterolo viene dagli scienziati europei secondo cui il 30% della popolazione rischia di sviluppare l'Alzheimer: sarebbe invece sufficiente ritardare di 10 anni la prima apparizione dei sintomi per ridurre del 90% il numero dei malati. Dalla ricerca europea sono giunte oggi precise indicazioni dell'importante relazione che c'è tra alimentazione, salute e invecchiamento. Gli scienziati stanno lavorando per mettere a punto una dieta povera di grassi in modo da ridurre non solo i rischi cardiovascolari nei cittadini europei. I risultati sono incoraggianti. E' ormai chiaro che il colesterolo è un fattore di rischio non solo per gli infarti ma anche per l'Alzheimer. La malattia, che rappresenta una vera tragedia per il malato, per la famiglia e per l'intera società, colpisce una persona su 20 che ha superato i 65 anni e una su cinque nel caso degli ottantenni. E l'Europa invecchia a gran velocità. Nel 2025 un terzo della sua popolazione avrà più di 60 anni. Di questi il 30% avrà superato i 65 anni e il 39% gli ottanta. Gli ultraottantenni saranno 35 milioni nel 2025. Le basi che gli scienziati stanno individuando, tramite una dozzina di grandi progetti di ricerca finanziati dall'Ue, serviranno a tracciare delle diete alimentari per ridurre il colesterolo che può essere considerato un precursore dell'Alzheimer. A queste conclusioni i ricercatori sono giunti sperimentando con gli animali delle diete a basso tenore in grassi. Si tratta ora di studiare come applicare queste conclusioni all'uomo. Tra gli studi portati avanti dagli scienziati europei c'è un importante progetto a cui partecipa anche l'Università di Camerino (in provincia di Macerata) per migliorare la flora batterica e quindi il transito e l'assorbimento intestinale, in modo da ridurre i problemi legati al cancro ed in particolare quello del colon. Insomma, appare sempre più evidente

la necessità di riscoprire la dieta mediterranea arricchendola di fermenti lattici per allontanare le malattie responsabili del più alto tasso di mortalità in Europa”.

*Scarmeas* e colleghi della *Columbia University Medical Center*, in uno studio pubblicato recentemente sugli *Annali of Neurology*, che ha coinvolto un campione di 2258 soggetti residenti a New York, che non presentavano alcun sintomo di demenza all'inizio della ricerca e che non consumavano rigorosamente alimenti tipici dei paesi mediterranei hanno dimostrato che l'aderenza alla tradizionale MD risulta essere associata significativamente alla riduzione del rischio di malattia Alzheimer. Le virtù di questo tipo di alimentazione contro la demenza erano state a lungo teorizzate, ma questo è il primo lavoro che ha monitorato un gruppo di persone negli anni, misurando accuratamente l'effetto della dieta sul pericolo di ammalarsi. E' ormai riconosciuto che i fattori di rischio cardiovascolare, come l'ipertensione, l'ipercolesterolemia, il diabete, sono associati a un aumento anche della frequenza della demenza di Alzheimer, oltre che della demenza cosiddetta vascolare, cioè dovuta a più o meno estesi infarti cerebrali. Quello che lo studio voleva verificare, dunque, era se l'adesione alla dieta mediterranea potesse proteggere dall'Alzheimer perché riduceva i fattori di rischio cardiovascolari oppure se agiva indipendentemente dall'effetto sulla colesterolemia, la glicemia e gli altri parametri del caso. La dieta mediterranea protegge dall'Alzheimer in modo così efficace da ridurre del 40% il rischio di contrarre tale malattia degenerativa. Ancora una volta, mostra come la dieta mediterranea abbia effetti protettivi ad ampio spettro proteggendo sia dalle malattie cardiovascolari, sia dalle malattie del cervello, anche contro il morbo di Alzheimer, la forma più diffusa di demenza senile, una malattia terribile e oggi per lo più incurabile, che colpisce le abilità cognitive del cervello e le deteriora fino a renderle in maniera irreversibile. Lo studio si è svolto mediante un monitoraggio costante di abitudini alimentari e condizioni di salute. Tutti i partecipanti sono stati seguiti per un periodo di 4 anni sia dal punto di vista medico che neurologico. Durante tale periodo il morbo di Alzheimer è stato diagnosticato a 262 persone. Il campione è stato suddiviso in nove sottocampioni, nei quali i soggetti venivano smistati a seconda della rispondenza della loro dieta con i dettami dell'alimentazione mediterranea: dal gruppo 1, in cui le scelte alimentari erano totalmente dissimili dal modello alimentare mediterraneo, fino al gruppo 9, in cui coincidevano perfettamente. A parità di fattori esterni (età, peso, fumo, ecc.), per ogni punto in più totalizzato dai soggetti, aumentava la protezione offerta dalla loro alimentazione contro il morbo di Alzheimer. Addirittura, chi aveva adottato un modello nutrizionale 'totalmente mediterraneo' vedeva ridotto del 40% il rischio di incorrere nella malattia. Anche i partecipanti con un punteggio intermedio hanno avuto dei benefici anche se in questo caso la riduzione del rischio di ammalarsi di Alzheimer era intorno al 15-21 per cento. I benefici della dieta si sono rilevati indipendenti rispetto ad altri fattori come calorie del menu, età, presenza di altre malattie, indipendentemente dal beneficio in termini di colesterolemia, o di ipertensione, la dieta mediterranea allontanava la possibilità dell'Alzheimer.

### 1.2.8 Importanza degli alimenti funzionali nella Dieta Mediterranea.

Molti dei componenti caratteristici della Dieta Mediterranea di riferimento (MD, Mediterranean Diet) sono conosciuti per avere effetti positivi sulla salute e sul benessere e possono essere utilizzati per descrivere il concetto di alimenti funzionali.

I prodotti ortofrutticoli e le noci sono tutti ricchi in fenoli, flavonoidi, isoflavonoidi, fitosteroli e residui bioattivi acido-essenziali che forniscono protezione alle malattie. I carotenoidi, l'acido folico e la fibra, abbondanti nella MD, sembrano svolgere ruoli importanti nella prevenzione della malattia coronarica. Il consumo di verdure, fonte importante di fitosteroli, è associato con una riduzione del livello del colesterolo nel siero e del rischio cardiovascolare, nelle società sviluppate dove la malattia cardiovascolare è la causa principale di morte. La frutta inoltre fornisce la fibra, così come le vitamine, i minerali, i flavonoidi e i terpeni, molti dei quali forniscono protezione contro i processi ossidativi. A causa delle sostanze fitoestrogeniche contenute, l'aumentato consumo di frutta e verdura può offrire un'alternativa a terapia di riassetto ormonale nella donne in menopausa. Nell'intestino, questi residui si trasformano in estrogeno e contribuiscono a neutralizzare la privazione ormonale tipica del periodo di menopausa. Parecchi tipi di flavone e di isoflavone purificati fra gli abituali vegetali consumati nello stile Mediterraneo hanno mostrato di possedere questa attività estrogenica.

Gli acidi grassi poli-insaturi (acido eicosapentaenoico e docosaesaenoico ) contenuti nel pesce regolano efficacemente i fattori emostatici, proteggono dalle aritmie cardiache, dal cancro e dall'ipertensione e svolgono un ruolo vitale nel mantenimento delle funzioni neurali e nella prevenzione di determinati disordini psichiatrici.

L'olio di oliva conosciuto per il relativamente alto livello di acidi grassi monoinsaturi è una buona fonte di sostanze fitochimiche, come residui polifenolici, squalene e  $\alpha$ -tocoferolo. I residui fenolici sembrano avere la proprietà di intervenire nell'ossidazione della lipoproteina LDL. Inoltre sembra avere un ruolo anche nella mineralizzazione ossea, così riducendo il rischio di osteoporosi. L'accumularsi delle evidenze scientifiche suggerisce che condire gli alimenti con l'olio extravergine d'oliva, un componente fondamentale della MD, porta ad avere beneficio di indennità alla malattia, compresa la riduzione del rischio di malattia di cuore coronarica, la prevenzione a diverse tipologie di tumori e nella modifica delle risposte immunologiche ed infiammatorie; il sapore pungente che si avverte in gola gustando un buon piatto condito con olio extravergine d'oliva dipende dall'oleocantale, un composto naturale antinfiammatorio, scoperto da *Gary Beauchamp Paul Breslin* del *Monell Chemical Senses Center*, di Philadelphia. L'oleocantale ha gli stessi effetti dell'ibuprofene uno degli antidolorifici non steroidei (NSAIDs) più usati, con effetti anche antidolorifici. Il nome sta ad indicare che trattasi di un'aldeide (ale), che deriva dall'olio d'oliva (oleo) e che è pungente (canth). Per verificare che veramente l'oleocantale fosse responsabile del sapore pungente del condimento, diverse qualità d'olio d'oliva sono state testate verificando che



maggiore era il contenuto di oleocantale in ciascuna, più forte il gusto pungente dell'olio. Inoltre sono state testate le proprietà antinfiammatorie e antidolorifiche dell'oleocantale trovandolo capace di inibire gli enzimi COX-1 e COX-2, proprio i bersagli dell'ibuprofene. Non c'è dubbio quindi che l'oleocantale sia a sua volta un antidolorifico ed ora si dovrà scoprire il suo meccanismo d'azione.

Caratteristici della MD sono anche i latticini come il formaggio e lo yogurt, che sono tollerati meglio da quegli individui che presentano la condizione di intolleranza al lattosio. In più, bisogna ricordare che i batteri dell'acido lattico conferiscono benefici probiotici, apportando miglioramenti a livello gastrointestinale e riguardanti il sistema immunitario.

L'aglio, le cipolle, le erbe e le spezie sono utilizzate nella MD come condimenti che rendono più gustose e saporite le pietanze, ma sono anche ottimi alleati nell'aumentare il valore nutritivo dell'alimento consumato. Il finocchio e l'erba cipollina, contengono grandi quantità di flavonoidi; l'aglio e la cipolla di allucina; il capero nella medicina tradizionale veniva utilizzato per trattare l'incontrollata per ossidazione lipidica poiché era noto il suo effetto diuretico ed ipotensivo: il suo estratto contiene i flavonoidi kaempferolo e quercitina e gli acidi idrocinnamici che possiedono noti effetti antinfiammatori ed antiossidanti.

I polifenoli del vino rosso possiedono attività antiossidante tale da apportare un'azione citoprotettiva i cui effetti si manifestano inducendo un cambiamento nel profilo delle lipoproteine, nella coagulazione e nel processo a cascata fibrinolitico, nell'aggregazione piastrinica, nei meccanismi ossidativi e nella funzione endoteliale. L'endotelio regola il tono vascolare circostante bilanciando delicatamente la vasodilatazione (ossido nitrico, NO) e la vasocostrizione (endoteline, fattori prodotti dall'endotelio stesso) in risposta agli stimoli. Il vino ed altri derivati dell'uva apportano un effetto vasodilatatorio endotelio-dipendente tramite l'attività NO-stimolante dei loro componenti polifenolici. Durante studi sperimentali, è stato osservato che il resveratrolo, (un polifenolo dello stilbene) possedeva la capacità di proteggere il cuore ed i reni dalla ferita di ischemia mediante la relativa attività antiossidante e la up-regolazione della produzione di NO.

Nel contesto della MD, i benefici connessi con il consumo di componenti funzionali possono essere intensificati dalle forme di preparazione delle pietanze. Ad esempio, l'aggiunta dell'olio d'oliva durante la cottura dei pomodori per il sugo aumenta notevolmente l'assorbimento del licopene, un carotenoide con note proprietà nella riduzione del rischio di determinati cancro e di malattia di cuore.

L'identificazione dei costituenti attivi della MD è cruciale per la formulazione di una guida di riferimento dietetica adatta. La ricerca relativa alle proprietà farmacologiche dei componenti secondari di questa dieta (vitamine, steroli, polifenoli, ecc.) è in crescita.

Il consorzio europeo "Local Food-Nutraceutical", nel 2005, ha raccolto 127 piante selvagge o semi-selvagge localmente consumate in tre paesi mediterranei, cioè Grecia, Italia e Spagna, per valutare le loro caratteristiche e le loro attività biologiche. Il progetto inoltre includeva

una seconda linea di ricerca, lo studio sulle concezioni locali a riguardo delle risorse dell'alimento, poiché è largamente conosciuto che alcune di esse sono di uso comune coltivate da molte generazioni. Le analisi farmacologiche condotte su estratti etanolic preparati dalla materia vegetale secca erano rivolti all'esaminazione dell'attività biologiche di questi su una vasta gamma di meccanismi considerati cruciali in patologia delle malattie croniche ed invecchiamento-relative. Sono state esaminate l'attività biologica antiossidante, di inibizione enzimatica, anti-infiammatoria, di anti-proliferazione ed anti-diabetica. In breve, le modulazioni e gli effetti osservati in vitro suggeriscono che queste piante possono contribuire a migliorare la salute delle popolazioni mediterranee rurali: il taxa delle Lamiaceae possiede un altissimo potenziale di inibizione enzimatica; considerando che il 10% degli estratti di queste piante avevano effetti citotossici/pro-apoptotici, è stato esaminato che una dozzina di estratti non tossici sopprimevano efficacemente la risposta infiammatoria Citochina-indotta e questo non risultava essere correlato con la concentrazione di sostanze polifenoliche; è stato osservato un elevato effetto inibitorio sulla proliferazione cellulare, non necessariamente collegato al contenuto polifenolico di 17 degli estratti derivati da 8 differenti famiglie di piante; effetti significativi sono stati identificati sul meccanismo di modulazione dell'attività di legame del recettore insulinico PPAR $\gamma$ , di notevole interesse il risultato relativo ad alcuni estratti di piante appartenenti al taxa delle Liliaceae che mostravano possedere un'alta o media attività sugli effetti modulatori relativi a PPAR $\gamma$ , mentre alcuni estratti appartenenti al taxa delle Lamiaceae hanno dimostrato possedere solo un basso effetto modulatorio.

### *1.2.9 Dieta e geni: interazioni nell' eziologia delle malattie croniche.*

Il nostro genoma non è cambiato molto rispetto agli ultimi 7 milioni di anni. Alcune differenze etniche possono essere riscontrate per varie caratteristiche, per esempio, è stato trovato che i bambini Africano-Americani sono più suscettibili alla malattia cardiovascolare che bambini americani bianchi. A livello tematico, un numero importante di polimorfismi genetici possono essere trovati. Per esempio, più di 200 SNPs (Singolo polimorfismo del nucleotide) sono stati trovati per quanto riguarda circa 15 proteine chiave addette al metabolismo della lipoproteina. Una certa conoscenza generale è stata ottenuta durante l'ultima decade per quanto riguarda la risposta metabolica alla dieta. Per ricapitolare, conosciamo gli effetti differenti delle proteine dell'animale e della pianta sul metabolismo dei lipidi, l'effetto dei carboidrati con differenti indici glicemici sulle risposte dell'insulina o l'ipertrigliceridemia, l'effetto della fibra solubile sul colesterolo e sugli indici glicemici/insulinici, l'effetto di grassi saturati e dell'LDL colesterolo sull'ipercolesterolemico. Tuttavia, il professionista che fa l'intervento nutrizionale in esseri umani sa molto bene che c'è sempre una variabilità interindividuale molto grande. Una minoranza dei

soggetti non mostra alcun cambiamento sulla stessa dieta ed alcuni soggetti possono mostrare una tendenza opposta. Ciò conduce al concetto generale dell'interazione fra la dieta ed i geni.

Generalmente, il nostro interesse è orientato verso i singoli polimorfismi del nucleotide (SNPs) un cambiamento molto molto piccolo nella sequenza del gene. Soltanto un singolo il nucleotide nella sequenza del gene è cambiato e questo, può cambiare la struttura primaria della proteina creata dal gene, e la frequenza dell'allele di questo cambiamento su uno o due filamenti di DNA è molto variabile. In alcuni casi, la frequenza di SNP è molto bassa - 1/1000, o persino di meno. In altri casi, la metà della popolazione può avere la cosiddetta variante secondaria nel loro DNA. Le conseguenze funzionali di questo SNP (il cambiamento nella sequenza del gene) possono essere molto differenti. Il cambiamento più importante è dovuto al fatto che un cambiamento in un nucleotide cambierà la struttura primaria della proteina. Ciò in alcuni casi, può alterare la funzione della proteina ed allora interesserà la via metabolica dove la proteina svolge un ruolo importante. In altri casi, questo SNP non è nella sequenza di cifratura del gene, ma nell'attività del promotore del gene e così modulerà fattori differenti, stimolando o reprimendo la trascrizione del gene e modulando il livello della proteina nel tessuto. Tutto questo può alterare la via metabolica interessata. In altri casi ancora, non c'è rapporto diretto conosciuto fra un dato SNP e una funzione della proteina.

Nella maggior parte della gente, i polimorfismi genetici in vari geni possono soltanto avere effetti metabolici discreti, ma significativi. Un esempio degli effetti dello SNPs sulle proteine è stato studiato sulla lipoproteina ed è il caso di apolipoprotein E, che è sulla superficie di particelle trigliceride-ricche molto grandi contenenti i chilomicroni i quali contengono sulla superficie la proteina ApoB48, un indicatore tipico per le piccole particelle dell'intestino. I polimorfismi più noti sono ai residui 112 e 158 sulla struttura primaria della proteina con tre alleli importanti, E2, E3 e E4. L'80% della popolazione ha una forma E3, mentre il 10% ha una forma E2 e il 14% ha una forma E4. Quando la forma normale, E3, è presente, l'assorbimento di LDL nel fegato è normale, l'assorbimento della particella LDL è normale ed il livello del colesterolo LDL nel plasma è normale. Quando la forma E2 è presente, stimola l'assorbimento di particelle LDL nel fegato, dovuto ad un'affinità ridotta per LDL, così facendo diminuisce il livello di LDL nel plasma. L'opposto è osservato con la forma E4, così conducendo ad un'accumulazione di LDL nel plasma e quindi causando l'ipercolesterolemia.

Il SNPs può influenzare la risposta metabolica alla dieta. Un certo numero di polimorfismi sono stati determinati nello studio di Medi-RIVAGE: ApoE, ApoB, ApoCIII, ApoAIV, proteina obbligatoria intestinale dell'acido grasso, MTP, HL e CETP. Generalmente, i soggetti di studio divisi in due gruppi, dieta prudente o dieta mediterranea mostravano una riduzione più grande di colesterolemia negli elementi portatori delle due varianti di allele ApoE3/3, che è la variante normale e allele ApoE 2/2. In aggiunta, la riduzione di trigliceridemia era più marcata se il soggetto era portatore dei due alleli e2. Non venne trovata alcun'influenza dello SNPs sulla risposta

postprandiale del trigliceride. Quindi, nei oggetti con un allele e2 e e3, cioè circa 18% della popolazione tematica, mostravano un abbassamento migliore dei trigliceridi e del colesterolo. Un altro esempio è il polimorfismo ApoA4 per quanto riguarda LDL. Venne trovata una più importante riduzione di colesterolo LDL nei portatori T. Quando vennero osservati separatamente i gruppi, gli elementi portatori di T, del gruppo della Dieta Mediterranea, mostravano una riduzione molto più grande, confrontata alla dieta a bassa percentuale di grassi. Ciò indica che gli elementi portatori la variante secondaria (15% dei soggetti del gruppo) con migliore abbassamento di colesterolo LDL erano associati con una certa interazione specifica alla Dieta Mediterranea. Un altro esempio è il polimorfismo di MTP. Abbiamo osservato che i portatori T/T mostravano una diminuzione più significativa della colesterolemia che il resto dei soggetti. Lo stesso è stato osservato per la trigliceridemia, con una riduzione tripla più bassa nei T/T omozigoti. Nel guardare i due gruppi, era notevole osservare che gli elementi portatori di T/T hanno mostrato una riduzione che era più grande nella dieta mediterranea rispetto la riduzione osservata dopo la dieta prudente-tipo. Così i soggetti con il MTPT/T (10% del gruppo) mostrano meglio l'abbassamento del colesterolo e dei trigliceridi del plasma.

In conclusione, nello studio di Medi-RIVAGE, è stato osservato che alcuni polimorfismi genetici possono essere collegati con differenti risposte metaboliche sull'intervento dietetico nel digiuno o nel postprandiale. Un dato soggetto può avere tipi differenti di SNPs e non solo uno SNP. L'interazione dieta e genoma è un campo d'emersione chiave. Dato l'enorme numero di polimorfismi potenzialmente disponibili, emerge la necessità di identificare lo SNPs chiave implicato nel metabolismo dei lipidi e nel rischio cardiovascolare. Per concludere, possiamo prevedere che la migliore conoscenza in questo campo potrebbe contribuire, nell'immediato futuro, ad identificare gruppi di popolazione specifici, i quali potrebbero trarre beneficio dalle raccomandazioni specifiche, data la loro predisposizione specifica ai componenti alimentari.

### **1.3. Alimenti biologici**

L'agricoltura moderna si è sviluppata, almeno fino all'inizio degli anni Ottanta, nella direzione del continuo aumento dei quantitativi prodotti. Per raggiungere lo scopo l'agricoltura cosiddetta convenzionale ha fatto ricorso ad un sempre maggiore inserimento di fattori esterni (fertilizzanti chimici, antiparassitari, mangimi, ecc.) in grado di esaltare le produzioni di piante ed animali e sfruttare al massimo ogni estensione di terreno, aumentando le rese. Attualmente è ancora il tipo di agricoltura più praticata.

Negli anni Ottanta matura la sensibilità collettiva nei confronti dei temi ambientali, che toccano anche la produzione agricola. Si sviluppano nuovi modelli produttivi: accanto all'agricoltura biodinamica, nata negli anni Venti in Austria, che teorizza aziende autosufficienti e

guidate da cicli cosmici, si afferma in alcune realtà l'agricoltura integrata. Il suo obiettivo è quello ottenere prodotti di alta qualità utilizzando risorse e meccanismi di regolazione naturale, in grado di non portare danno all'ambiente. Cresce il rispetto nei confronti dei diversi fattori produttivi e di conseguenza gli interventi fitosanitari diventano mirati e limitati, la fertilità originale del terreno viene ripristinata attraverso mezzi naturali, le condizioni di vita degli animali allevati migliorano.

Sull'agricoltura integrata si innesta poi l'agricoltura biologica. Inizialmente viene applicata da un ristretto numero di agricoltori ed apprezzata da un esiguo numero di consumatori, a causa del poco attraente aspetto dei prodotti biologici ( frutta e verdura di dimensioni più piccole rispetto alla norma, con aspetto opaco e spesso grinzoso) e del prezzo elevato.

Gli anni Novanta rappresentano la svolta. La produzione biologica raggiunge standard qualitativi ed estetici elevati, che appagano sempre meglio il gusto e le aspettative dei consumatori. Aumenta anche in modo considerevole la richiesta di ingredienti biologici per gli alimenti destinati alla prima infanzia. L'agricoltura biologica conosce uno sviluppo sorprendente, tanto che l'Unione Europea registra il cambio di tendenza ed emana i primi regolamenti per la sua applicazione già nel 1991. I paesi membri recepiscono le indicazioni a livello comunitario con tempi e modi diversi; l'Italia delega alle Regioni la facoltà di emanare la relativa normativa. La nuova agricoltura diventa una realtà in forte espansione in molti paesi europei. Oltre che in Italia, anche in Portogallo, Grecia, Francia e Spagna. In altre nazioni, come Austria, Finlandia e Svezia si è affermata già da tempo in modo più graduale e continua lo sviluppo già consolidato. In Italia le attività produttive biologiche nel 1997 interessavano già oltre il 4% della superficie agricola utile. Oggi stanno continuando a crescere e si prevede il traguardo del 10% nel giro di pochi anni. Attualmente le aziende che adottano il metodo biologico sono concentrate nelle regioni meridionali, in larga misura in Sicilia ed in Sardegna, mentre al Nord si sono localizzate le attività di trasformazione e sono più forti i consumi.

L'agricoltura biologica è un sistema di produzione che permette di ottenere dei prodotti senza l'utilizzo, in alcuna fase della produzione, di sostanze chimiche di sintesi tali da alterare significativamente l'habitat naturale e influire negativamente sulla salubrità delle produzioni ottenute. È quindi un modo di fare agricoltura che realizza un più corretto rapporto fra territorio e ambiente, nel rispetto della naturalità e della stagionalità di ogni coltura, utilizzando nel miglior modo possibile le energie rinnovabili, valorizzando al massimo le risorse territoriali, ambientali e naturali.

Si tratta infatti di un nuovo modo di fare agricoltura, più attento ai possibili effetti negativi sulla salute dell'uomo e sull'ambiente. Se per molto tempo l'agricoltura intensiva e chimica è stata vista come l'unico modo per riuscire a nutrire la popolazione mondiale in crescente aumento, i rischi per l'ambiente a essa legati sono diventati sempre più evidenti. I punti fondamentali attorno cui ruota l'agricoltura biologica sono:

1. esclusione dei prodotti chimici di sintesi che alterano profondamente l'ambiente e influiscono negativamente sulla salubrità delle produzioni ottenute;
2. utilizzo di piante resistenti e di insetti predatori contro i parassiti;
3. incremento e mantenimento della fertilità naturale del terreno mediante l'utilizzo di tecniche di lavorazione non distruttive, l'adozione di rotazioni colturali adeguate e di sovesci;
4. uso di fertilizzanti naturali;
5. garanzia per gli animali di una vita conforme alle esigenze specifiche delle singole specie.

Storicamente l'agricoltura biologica è il frutto di una serie di riflessioni ed è il risultato dello sviluppo di diversi metodi di produzione agricola alternativi praticati sin dall'inizio del secolo nell'Europa settentrionale. In questa sede conviene ricordare, in particolare, tre correnti di pensiero: l'agricoltura biodinamica, comparsa in Germania su ispirazione di *Rudolf Steiner*, *l'organic farming* nata in Inghilterra dalle tesi sviluppate da *Sir Howard* e l'agricoltura biologica sviluppata in Svizzera da *Hans Peter Rusch e H. Muller*. Nonostante l'esistenza e la vivacità di tali correnti di pensiero, l'agricoltura biologica è rimasta a lungo allo stato embrionale in Europa. L'agricoltura biologica comincia tuttavia a diffondersi pienamente nel corso degli anni 80, con il continuo sviluppo di questo nuovo metodo di produzione e dell'interesse dei consumatori per i prodotti biologici, non solo nella maggior parte dei Paesi europei ma anche in altre Nazioni, quali gli Stati Uniti, il Canada, l'Australia e il Giappone. Si assiste, quindi, a una significativa crescita del numero dei produttori e alla promozione di iniziative nel settore della trasformazione e della commercializzazione dei prodotti biologici. Questo contesto favorevole allo sviluppo dell'agricoltura biologica trae per lo più origine dalla preoccupazione espressa dai consumatori di poter scegliere prodotti sani e più rispettosi dell'ambiente.

Alcuni Paesi europei, fra cui Austria, Francia e Danimarca procedono al graduale riconoscimento dell'agricoltura biologica dotandosi di legislazioni adeguate al settore. Malgrado tali sforzi, tuttavia, durante questo periodo l'agricoltura biologica resta penalizzata da una mancanza di chiarezza: regna, infatti, una certa confusione tra i consumatori sul significato del concetto stesso di agricoltura biologica e delle limitazioni che essa comporta. Tale confusione deriva fondamentalmente dall'esistenza di svariate scuole e filosofie, dalla mancanza di armonizzazione della terminologia utilizzata, dalla presentazione eterogenea dei prodotti, dall'amalgama tra prodotti biologici, prodotti di qualità, prodotti naturali e in definitiva dall'assenza di un quadro legislativo in grado di ricondurre a unità il significato e le esperienze che si riconoscono nell'agricoltura biologica.

In questo contesto, l'adozione di un quadro normativo è sembrata la scelta più idonea per consentire all'agricoltura biologica di collocarsi, in maniera credibile, sul mercato dei prodotti di

qualità che da nicchia ha assunto le caratteristiche di un segmento commerciale vero e proprio. Sulla base di queste esperienze la Comunità europea si è quindi dotata di un quadro normativo in materia con l'emanazione del regolamento Cee n. 2092/91 del 24-6-1991. Tale normativa dà indicazioni specifiche per quanto concerne:

- \_ le norme di produzione;
- \_ il sistema di controllo;
- \_ l'importazione da Paesi terzi extra europei;
- \_ l'etichettatura.

Il regolamento sul metodo biologico prevede che siano effettuate le certificazioni dei prodotti ottenuti, da parte di appositi organismi riconosciuti ed autorizzati con Decreto Ministeriale del 1992 dal Ministero delle Risorse Agricole, Alimentari e Forestali. Il prodotto sulla cui etichetta presenta il marchio di uno degli otto organismi di controllo, affiancato dalla scritta "Agricoltura biologica - Regime di controllo CEE", è senza alcun dubbio biologico a differenza di quello con diciture generiche tipo ecologico, genuino e naturale.

CONVENZIONALE	BIOLOGICO
Ampio ricorso alla monocoltura	<i>Rotazione delle colture - cereali leguminose</i>
Diserbanti chimici	<i>Lavorazione del terreno e rotazioni</i>
Pesticidi di sintesi	<i>Vietato l'uso di prodotti chimici per la disinfezione del terreno</i>
Concimi chimici	<i>Esclusivamente letame o concimi organici</i>
Pesticidi di sintesi	<i>Non vengono effettuati</i>
cloruro di clorocolina o Ethephon	<i>Vietati</i>
Fumiganti ed altri antiparassitari chimici	<i>Ventilazione o refrigerazione</i>

Ad oggi, molte ricerche sperimentali che vanno ad individuare le differenze tra prodotto biologico e convenzionale, affermano che il prodotto bio ha caratteristiche migliori rispetto al convenzionale perché in particolare risulta avere :

- contenuto maggiore di sostanza secca
- contenuto di più minerali

- contenuto più elevato di antiossidanti visto che la pianta possiede un meccanismo naturale di autodifesa
- minor contenuto di grassi sugli animali
- minor contenuto di nitrati soprattutto su piante a foglia larga
- totale assenza di antiparassitari
- minor contenuto di proteine ma di qualità superiore

Molte ricerche hanno individuato che cibi biologici contengono in maniera accentuata molecole utilissime nella prevenzione di alcune malattie (cancro all'intestino, indurimento delle arterie ecc.); un esempio illuminante è quello eseguito dal dott. *Richard Dewhurst* che analizzando campioni di latte biologico ha evidenziato una maggiore concentrazione di acidi grassi Omega3 (64%) imputabile al tipo di alimentazione con cui viene allevato l'animale ( maggiore utilizzo per l'alimentazione di trifoglio).



## BIBLIOGRAFIA CAPITOLO 1

1. TRICHOPOULOU A, "Components of the mediterranean diet", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases,2003.
2. NASKA A, "Mediterranean diet at present", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases,2003.
3. RIBOLI E, "Consumption of fruits and vegetables and prevention of cancers of the digestive tract : result of EPIC study", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases,2003.
4. SCHATZKIN A, "Fibers and cancer prevention"; EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases,2003.
5. Willett W, Stampfer M, Chu N, Spiegelman D, Holmes M, Rimm E. "Assessment of questionnaire validity for measuring total fat intake using plasma lipid levels as criteria". *Am J Epidemiol*;154:1107-12. 2001
6. Wolk A, Furuheim M, Vessby B. "Fatty acid composition of adipose tissue and serum lipids are valid biological markers of dairy fat intake in men". *J Nutr*;131:828-33;2001.
7. Gordon T. "The diet-heart idea: outline of a history". *Am J. Epidemiol.*; 127:220-225. 1988
8. Fraser GE. "Associations between diet and cancer, ischemic heart disease, and all cause mortality in non-Hispanic white California Seventh-day Adventists". *Am J Clin Nutr.*; 70(3 Suppl):532S-538S. 1999
9. Hu FB, Willett WC. "Optimal Diets for Prevention of Coronary Heart Disease". *JAMA.*; 288: 2569-2578. 2002
10. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N, et al. "European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection". *Public Health Nutr.*; 5(6B):1113-24;2002.
11. LAIRON D, "Diet and genes : interactions in the aetiology of chronic diseases", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases
12. Riboli E, Hunt KJ, Slimani N, Ferrari P, Norat T, Fahey M, Charrondiere UR, Hemon B, Casagrande C, Vignat ,Overvad K, Tjonneland A, Clavel-Chapelon F, Thiebaut A, Wahrendorf J, Boeing H, Trichopoulos D, Trichopoulou A, Vineis P, Palli D, Bueno-De-Mesquita HB, Peeters PH, Lund E, Engeset D, Gonzalez CA, Barricarte A, Berglund G,n Hallmans G, Day NE, Key TJ, Kaaks R, Saracci R. "European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection." *Public Health Nutr*;5(6B):1113-24. 2002
13. GERBER M, "The RIVAGE intervention study on Mediterranean diet and risks for coronary heart disease", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases
14. Willett W. *Nutritional epidemiology*. 2nd ed. New York, Oxford University Press, 1998.

15. Kipnis V, Midthune D, Freedman LS, Bingham S, Schatzkin A, Subar A, Carroll RJ. "Empirical evidence of correlated biases in dietary assessment instruments and its implications". *Am J Epidemiol*;153:394-403. 2001
16. Wolk A, Vessby B, Ljung H, Barrefors P. "Evaluation of a biological marker of dairy fat intake". *Am J Clin Nutr*;68:291-5. 1998
17. Wolk A, Furuheim M, Vessby B. "Fatty acid composition of adipose tissue and serum lipids are valid biological markers of dairy fat intake in men". *J Nutr*;131:828-33. 2001
18. "The First Action Plan for Food & Nutrition Policy". WHO European region 2000-2005. World Health Organization (2001)
19. Robertson RM, Smaha L. "Can a Mediterranean style diet reduce heart disease?" *Circulation*.;103:1821-1822.2001
20. Singh RB, Dubnow G, Niaz MA, et al. "Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary heart disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomized single blind trial". *Lancet*.;360:1455-1461. 2002
21. Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. "Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population". *N Engl J Med*.;348: 2599-2608. 2003
22. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Antonoulas A, Zombolos S, Kogias Y, Mantas Y, et al, "Greek Study of Acute Coronary Syndromes Study Investigators. Epidemiology of acute coronary syndromes in a Mediterranean country; aims, design and baseline characteristics of the Greek study of acute coronary syndromes (GREECS)". *BMC Public Health*;5:23;2005.
23. Dell'Agli M, Busciala A, Bosisio E. "Vascular effects of wine polyphenols". *Cardiovasc Res*;63:593– 602. 2004
24. De Lorgeril M. " 'The Mediterranean-style diet' . Is it ideal for the modern world?" *Asia Pac J Clin Nutr*;13(suppl):S18. 2004
25. Ambring A, Friberg P, Axelsen M, Laffrenzen M, Taskinen MR, Basu S, et al. "Effects of a Mediterranean-inspired diet on blood lipids, vascular function and oxidative stress in healthy subjects." *Clin Sci Colch*;106:447– 8. 2004
26. Costacou T. ed altri. "Seguendo la dieta mediterranea attraverso il principale componenti ed analisi della serie di ingrannaggi nella popolazione greca., *EJCN*; 57 (11): 1378-85) 2004.
27. Trichopoulou A. ed altri., "Dieta e sopravvivenza generale in gente anziana., *BMJ*; 311: 1457-60.1995
28. Trichopoulos D, Lagiou P. Mediterranean diet and cardiovascular epidemiology. *European Journal of Epidemiology*; 19: 7–8 ,2004.
29. Martı́nez-González MA, Sańchez-Villegas A. The emergine role of Mediterranean diets in cardiovascular epidemiology monounsaturated fats, olive oil, red wine or the whole pattern? *European Journal of Epidemiology*; 19: 9–13 ,2 004.
30. Assmann G, de Backer G, Bagnara S, Betteridge J, Crepaldi G, Fernandez-Cruz A, Godtfredsen J, Jacotot B, Paoletti R, Renaud S, Ricci G, Rocha E, Trautwein E, Urbinati GC, Varela G, Williams C. International consensus statement on olive oil and the

Mediterranean diet: implications for health in Europe. The olive oil and the Mediterranean diet panel. *European Journal of Cancer Prevention* 6: 418–21 ;1997

31. Schroder H, Marrugat J, Vila J, Covas MI, Elosua R. Adherence to the traditional Mediterranean diet is inversely associated with body mass index and obesity in a Spanish population. *Journal of Nutrition*; 134: 3355–61; 2004.
32. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: the ATTICA study. *Journal of the American College of Cardiology*; 44: 152–8; 2004.
33. Riccardi G, Capaldo B, Vaccaro O. Functional foods in the management of obesity and type 2 diabetes. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 8:630–5; 2004
34. Kushi LH, Lenart EB, Willett WC. Health implications of Mediterranean diets in light of contemporary knowledge. 1.Plant foods and dairy products. *American Journal of Clinical Nutrition*; 61(Suppl): 1407S–15S; 1995.
35. Ninfali P, Mea G, Giorgini S, Rocchi M, Bacchiocca M. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition* ; 93:257–66; 2005.
36. Alberti-Fidanza A., Mediterranean Meal Patterns. *Bibl Nutr Dieta* 1990;45:59-71.
37. Alberti-Fidanza A, Alunni Paolacci C, Chiuchiù MP et al Dietary studies on two rural Italian population groups of the Seven Countries Study.1. Food and nutrient intake at the thirty-first year follow-up in 1991. *Eur J Clin Nutr* 1994;48:85-91  
Organizzazione Mondiale della Sanità Dieta, nutrizione e prevenzione delle malattie croniche. Quaderni di sanità pubblica, anno 26, settembre 2003.
38. Alberti-Fidanza A., Fidanza F., Chiuchiù M.P., Verducci G., Fruttini D., Dietary studies on two rural Italian population groups of the Seven Countries Study 3 Trend of food and nutrient intake from 1960 to 1991. *Eur. J. Clin. Nutr.*; 58: 854-860,1999.
39. De Lorenzo A, Andreoli A, Sorge RP, Iacopino L, Montagna S, Promenzio L, Serrano P. Modification of dietary habits (Mediterranean diet) and cancer mortality in a southern Italian Village from 1960 to 1996. *Ann N Y Acad Sci.*;889:224-229, 1999.
40. De Lorenzo A., Alberti A., Andreoli A, Iacopino L., Serranò P., Perriello G.: Food Habitus in a southern Italian town (Nicotera) in 1960 and 1996: Still a reference Italian Mediterranean diet? *Diab. Nutr. Metab.* 14: 121-125, 2001.
41. Fidanza F. Changing patterns of food consumption in Italy. *J. Am. Diet. Ass.* 77: 133-137, 1980.
42. Fidanza F. The Mediterranean diet in the prevention of coronary heart disease. *Diab Muer Metab*;1:169-173,1988.
43. Farchi G.Fidanza F., Mariotti S, Menotti A. Is diet an independent risk factor for mortality 20-year mortality in the Italian rural cohorts of the Seven Countries Study. *Eur J Clin Nutr*; 48: 19-29,1994.
44. Farchi G.,Fidanza F.,Grossi P., et al. Relationship between eating patterns meeting recommendations and subsequent mortality in 20 years.*Eur J Clin Nutr*;49:408-419,1995.

45. Menotti A., Kromhout D, Blackburn H, Fidanza E, et al. Food intake pattern and 25-years mortality from coronary art disease. Cross- cultural correlation in the Seven Countries Study-Eur J Epidemiol;15:507-515, 1999.
46. Fidanza F. Who remembers the true Italian Mediterranean diet? Diab Nutr Metab; 14; 229-120, 2001.
47. Panico AM, Cardile V, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle G. Protective effect of Capparis spinosa on chondrocytes. Life Sciences; 77: 2479–88, 2005.
48. Ortega RM, Palencia A, Lo´pez-Sobaler AM. Improvement of cholesterol levels and reduction of cardiovascular risk via the consumption of phytosterols. British Journal of Nutrition; 96(Suppl): 89S–93S, 2006.
49. Garritano S, Pinto B, Giachi I, Pistelli L, Reali D. Assessment of estrogenic activity of flavonoids from Mediterranean plants using an in vitro short-term test. Phytomedicine;12(1–2): 143–7, 2005.
50. Psaltopoulou T, Naska A, Orfanos P, Trichopoulos D, Mountokalakis T, Trichopoulou A. Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study. American Journal of Clinical Nutrition; 80:1012–8, 2004.
51. Trichopoulos A., Costacou, Bamia C., Trichopoulos D., “Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population”, New England journal of medicine, 2003.
52. Visioli F, Bogani P, Grande S, Galli C. Mediterranean food and health: building human evidence. Journal of Physiology and Pharmacology; 56(Suppl 1): 37S–49S, 2005.
53. Harriss LR, English DR, Powles J, Giles GG, Tonkin AM, Hodge AM, Brazionis L, O’dea K Dietary patterns and cardiovascular mortality in the Melbourne Collaborative Cohort Study Am J Clin Nutr. Jul;86(1):221-9, 2007.
54. Nakamura Y et al. Fish consumption and early atherosclerosis in middle-aged men Metabolism. Aug;56(8):1060-4, 2007.
55. RM Ortega Importance of functional foods in the Mediterranean diet Public Health Nutrition: 9(8A), 1136–1140 November 2006.
56. Mar´ia-Isabel Covas Olive oil and the cardiovascular system .Pharmacological Research 55 175–186(2007).
57. Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. Atherosclerosis;190:181–6, 2007.

# **CAPITOLO 2**

## **NUTRIZIONE E ALIMENTAZIONE BIOLOGICA**

### **2.1 Introduzione**

L'alimentazione svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dello stato di salute. Le caratteristiche nutrizionali di alcuni alimenti sono correlate con la prevenzione e la terapia di numerose patologie. Studi epidemiologici mostrano quanto le abitudini alimentari incidano sulla comparsa di numerose patologie degenerative e quanto l'azione dei radicali liberi correli con patologie quali: alcune forme tumorali così come l'artrite, la cataratta, la retinite pigmentosa e altre patologie oculari e le patologie del sistema cardiocircolatorio. Negli ultimi anni, una rapida espansione di alcuni settori scientifici e soprattutto della quantità di evidenze epidemiologiche, ottenute nella popolazione generale, ha contribuito a chiarire il ruolo della dieta nella prevenzione e nel controllo della morbilità e mortalità precoce causate dalle malattie non trasmissibili (NCD, non communicable diseases). Inoltre, si è giunti all'identificazione di alcuni fra gli specifici componenti della dieta, che contribuiscono ad aumentare le probabilità di sviluppare questo tipo di malattie, e degli interventi da attuare nel singolo individuo per modificarne l'azione. Nell'ultimo decennio, fenomeni quali industrializzazione, urbanizzazione, sviluppo economico e globalizzazione del mercato, hanno determinato un ulteriore processo di accelerazione sui rapidi cambiamenti che si sono verificati nella dieta e nello stile di vita. Ciò sta determinando un impatto significativo sullo stato nutrizionale e di salute della popolazione, soprattutto nei paesi in via di sviluppo e in quelli in fase di transizione. Nonostante il miglioramento degli standard di vita, l'espansione e la diversificazione della disponibilità di alimenti, l'aumento dell'accesso ai servizi, si sono verificate ripercussioni negative, in termini di acquisizione di modelli dietetici impropri, riduzione dell'attività fisica e aumento dell'abitudine al fumo e di conseguenza, soprattutto nelle popolazioni povere, un corrispondente incremento delle malattie croniche legate alla dieta.

Cibo e prodotti alimentari sono divenuti veri e propri beni, prodotti e scambiati in un mercato che da una dimensione essenzialmente locale, si è espanso in una sempre più globale. I movimenti nell'economia dei prodotti alimentari a livello mondiale si riflettono sulle modificazioni dei modelli dietetici, quali per esempio un aumento del consumo di diete ipercaloriche con elevato contenuto di lipidi, con maggiore presenza di acidi grassi saturi e basso contenuto di carboidrati complessi. Questi modelli si associano a una diminuzione del consumo energetico che rappresenta la conseguenza di uno stile di vita sedentario, favorito da mezzi di trasporto motorizzati, da elettrodomestici che riducono il lavoro casalingo, dalla graduale eliminazione nel luogo di lavoro di compiti manuali che richiedono attività fisica, e da un impiego del tempo libero prevalentemente dedicato a passatempi che non richiedono sforzo fisico.

A causa di questi cambiamenti nei modelli alimentari e comportamentali, le malattie croniche non trasmissibili - obesità, diabete mellito, malattie cardiovascolari (CVD, cardiovascular disease), ipertensione, ictus cerebri, e alcune neoplasie – sempre più spesso stanno diventando cause significative di disabilità e morte prematura sia nei paesi in via di sviluppo sia in quelli sviluppati, provocando un ulteriore aggravio per budget sanitari nazionali di fatto già sovraccarichi. Il ruolo della dieta nel definire l'espressione della suscettibilità genetica alle malattie non trasmissibili, la necessità di realizzare una collaborazione responsabile e creativa con interlocutori tradizionali e non tradizionali e l'importanza di prendere in considerazione tutto il corso della vita, sono tutti concetti che hanno trovato un riconoscimento in questa sede.

Prende sempre più piede l'idea che la dieta rappresenti il maggiore determinante modificabile delle malattie croniche, grazie anche al crescente sostegno, fornito dai dati scientifici, al concetto che le sue modificazioni inducono importanti effetti, sia positivi sia negativi, sulla salute durante tutta la vita. Adattamenti alla dieta possono non solo influenzare la salute di oggi, ma anche agire nel determinare se un soggetto svilupperà o meno, nel corso del tempo, patologie quali cancro, malattie cardiovascolari o diabete. Peraltro, questi concetti finora non hanno determinato cambiamenti nelle decisioni strategiche o nella pratica. In molti paesi in via di sviluppo, le politiche alimentari restano focalizzate soltanto sulla denutrizione senza che vi sia alcuna attenzione alla prevenzione delle malattie croniche.

Per ottenere i migliori risultati nella prevenzione delle malattie croniche, è fondamentale che gli interventi decisionali e le strategie politiche che vengono messi in atto, riconoscano il ruolo essenziale della dieta, della nutrizione e dell'attività fisica. Chi mangia sano gode di buona salute, prevenendo le malattie legate sia a cattive abitudini alimentari che all'uso di alimenti non salubri. Il cibo, insieme all'acqua e all'aria è una delle variabili che influenzano in modo determinante il delicato equilibrio del nostro organismo. Il nostro corpo è costituito da miliardi di cellule, che ogni giorno per vivere e compiere le loro funzioni hanno bisogno di nutrienti indispensabili, che devono ricavare dagli alimenti. In assenza o in carenza di tali nutrienti, il nostro organismo assolve con difficoltà alle sue molteplici funzioni, fino a che il suo precario equilibrio si altera, ed una cattiva abitudine alimentare può sfociare in malattia. Per coniugare salute e buona tavola bisogna ricordare che alimentarsi in modo sano vuol dire preferire prodotti non trattati ma anche frutta e verdura di stagione. I prodotti di stagione sono più gustosi perchè un frutto maturato al momento giusto ha un sapore ed un profumo che lo stesso maturato in serra non potrà mai eguagliare: inoltre nessun sistema di forzatura è in grado di assicurare il giusto grado di maturazione e di sviluppo naturale che sono i presupposti fondamentali per salvaguardare il valore nutrizionale di un alimento. Il consumatore spesso però è ancora indirizzato verso l'acquisto di frutta e verdura, apparentemente perfetta e bella da vedere anche se piena di acqua perchè ottenuta con tecniche di forzatura che ne aumentano il volume a scapito di un ridotto valore nutritivo, senza considerare che probabilmente contiene residui tossici.

L'agricoltura convenzionale grazie alle serre ed ad altri sistemi di forzatura ci ha ben abituati con un ampio assortimento di frutta e verdura che prescinde dalla produzione stagionale: è importante pensare però che seguire nell'arco dell'anno un'alimentazione variata e non fissata su pochi prodotti (se quelli che preferiamo sono sempre disponibili...) ci consente di offrire al nostro organismo un ventaglio di elementi nutritivi sicuramente più ampio: forse in questo modo rinunciando all'abbondanza dei prodotti alla quale siamo abituati ma sicuramente scegliamo la qualità.

## **2.2 Livelli di assunzione giornalieri raccomandati di energia e nutrienti per la popolazione italiana (LARN).**

I LARN nascono dalla necessità di definire, per ciascun macronutriente e micronutriente, i valori di riferimento da introdurre giornalmente per coprire i fabbisogni della maggioranza della popolazione sana. I LARN mirano dunque a trasferire conoscenze e direttive indispensabili a proteggere la popolazione dal rischio di squilibri nutrizionali e valutare l'adeguatezza del modello alimentare nazionale.

I LARN sono revisionati periodicamente, tenendo in considerazione le nuove acquisizioni scientifiche in campo biologico nutrizionale e le variazioni nelle situazioni alimentari e nutrizionali della popolazione italiana. L'ultima revisione è del 1996 ed è partita dal calcolo dei livelli di assunzione dei vari nutrienti determinati dalla dieta globale ricostruita in laboratorio sui dati di consumo di alimenti in Italia.

E' stata esaminata la letteratura scientifica internazionale riguardante le raccomandazioni; in particolare, sono stati elaborati i documenti dal *Consiglio Nazionale delle Ricerche Americano* e dal *Comitato Scientifico per l'Alimentazione della Commissione Europea*, considerando che questi sono spesso divergenti. Le raccomandazioni americane più tese a coprire le necessità nutrizionali di tutta la popolazione sana, compresa la quota in grado di prevenire o almeno di ridurre al minimo il rischio di comparsa di malattie o disturbi legati all'alimentazione, mentre quelle Europee sembrano essere più tese a coprire i fabbisogni reali della popolazione, riducendo così al minimo l'intervallo di sicurezza per la variabilità individuale ed evitando perciò di raccomandare livelli in eccesso rispetto ai bisogni, anche per evitare il ricorso a supplementazioni non strettamente necessarie. Infatti le raccomandazioni Europee utilizzano il concetto di tre differenti livelli di raccomandazione sulla base della distribuzione di frequenza dei fabbisogni individuali in una popolazione o in un gruppo di popolazione: il livello minimo, al di sotto del quale è praticamente impossibile mantenere l'integrità metabolica per la maggiore parte della popolazione; quello medio, che copre il fabbisogno del 50% degli individui della popolazione e quello cosiddetto di riferimento per la popolazione, corrispondente al fabbisogno medio più due deviazioni standard, in grado cioè di coprire i bisogni della maggior parte della popolazione.

Determinare il valore medio e la deviazione standard per tutti i nutrienti ed inserire tre differenti valori per uno stesso nutriente è difficoltoso e poco pratico, dunque la revisione dei LARN del 1996, ha stabilito un valore di riferimento per la popolazione, che in accordo con il concetto espresso dalla FAO/OMS, indica come livello di assunzione in grado di garantire adeguate riserve corporee, quello utile a soddisfare i bisogni reali del singolo piuttosto che quello che deriva dal bisogno basale medio.

E' necessario chiarire che i valori delle raccomandazioni non rappresentano il limite minimo al di sotto del quale esiste un reale rischio di malnutrizione né il livello ottimale di assunzione, quanto il livello di sicurezza valido per l'intera popolazione o per gruppi di essa e non per singoli individui.

Quindi i LARN mirano a :

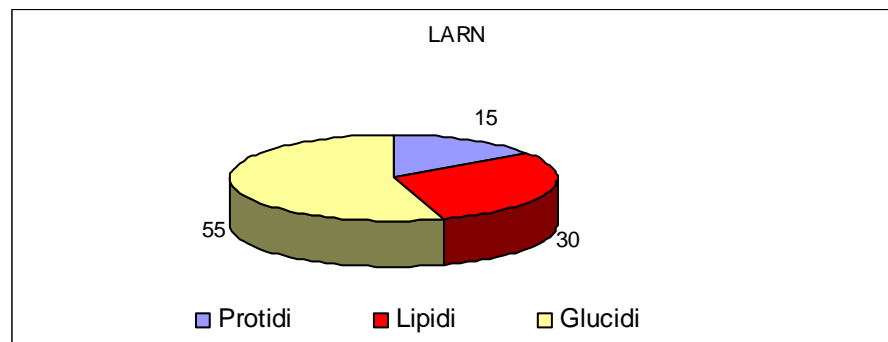
1. proteggere l'intera popolazione dal rischio di carenze nutrizionali;
2. fornire elementi utili per valutare l'adeguatezza nutrizionale della dieta media della popolazione o di gruppi di essa rispetto ai valori proposti;
3. pianificare la politica degli approvvigionamenti alimentari nazionali e l'alimentazione di comunità.

### **2.3 Fabbisogno energetico**

È noto che i fabbisogni energetici dell'organismo per lo svolgimento dei processi biologici che hanno luogo nelle cellule vengono soddisfatti, oltre che dai carboidrati, anche da proteine, lipidi e alcool. L'essenzialità del glucosio quale fonte di energia deriva dal fatto che alcuni tessuti, in particolare il sistema nervoso e la midollare del surrene, in condizioni normali utilizzano il glucosio come fonte elettiva di energia, e che inoltre gli eritrociti, essendo sprovvisti dei sistemi enzimatici associati al ciclo di Krebs, sono dipendenti dalla glicolisi per il loro metabolismo energetico. La biodisponibilità di glucosio è pertanto essenziale per il corretto funzionamento di tali tessuti, e riduzioni della glicemia comportano gravi conseguenze cliniche. È stato calcolato che per un soggetto adulto in condizioni normali sono necessari circa 180 g/die di glucosio, di qualunque origine metabolica, per soddisfare i bisogni di energia del sistema nervoso e degli eritrociti. L'uomo, come la maggior parte dei mammiferi, è capace di trasformare alcuni aminoacidi ed il glicerolo in glucosio, e non ha quindi uno specifico fabbisogno alimentare per i carboidrati, una volta garantito un sufficiente apporto di proteine e trigliceridi. Da questo punto di vista, non si può parlare per i carboidrati di essenzialità - nel senso almeno in cui il termine viene comunemente applicato ad aminoacidi, acidi grassi, vitamine e sali minerali, nel qual caso per essenzialità si



intende l'incapacità dell'organismo a sintetizzarli - ma sarebbe forse opportuno parlare di "necessarietà" . Si è infatti concordi nel sostenere che è bene che una ragionevole proporzione del fabbisogno energetico derivi dai carboidrati. Una dieta troppo ridotta in carboidrati porta infatti all'accumulo di corpi chetonici, a un eccessivo catabolismo delle proteine tessutali e alla perdita di cationi, specialmente sodio. Questi effetti possono essere prevenuti dall'ingestione di 50-100 g/die di carboidrati.



### 2.3.1 I Carboidrati

I principali carboidrati di interesse alimentare possono essere distinti, in base alla struttura chimica, in semplici e complessi. I carboidrati semplici, comunemente detti zuccheri, comprendono i monosaccaridi, quali il glucosio ed il fruttosio, e i disaccaridi, quali il saccarosio, il maltosio ed il lattosio. Gli zuccheri sono presenti naturalmente negli alimenti primari o, in forma raffinata, utilizzati come tali (saccarosio) o incorporati in alimenti e bevande (saccarosio, sciroppo di glucosio a contenuto variabile di fruttosio) per aumentarne la gradevolezza grazie al loro gusto dolce. I carboidrati complessi, o polisaccaridi, comprendono l'amido e la fibra alimentare. L'amido è costituito da polimeri di glucosio lineari (amilosio) e ramificati (amilopectina) in proporzioni variabili. L'amido è, nella dieta del soggetto adulto sano, la principale fonte di carboidrati disponibili all'assorbimento ed utilizzabili dal metabolismo cellulare. Una percentuale di amido variabile, ma comunque generalmente limitata, può non essere assimilata, e viene definita Amido Resistente. Altri carboidrati complessi non disponibili sono la cellulosa, le pectine, le emicellulose, ed una varietà di gomme e mucillagini di varia origine. Queste sostanze, insieme alla lignina (un polimero della parete cellulare vegetale non composto da carboidrati), vengono usualmente definite con il termine generale di Fibra Alimentare.

Pur non potendosi considerare un nutriente, la fibra alimentare esercita effetti di tipo funzionale e metabolico che la fanno ritenere una importante componente della dieta umana. Oltre che all'aumento del senso di sazietà e al miglioramento della funzionalità intestinale e dei disturbi ad essa associati (stipsi, diverticolosi), l'introduzione di fibra con gli alimenti è stata messa in relazione alla riduzione del rischio per importanti malattie cronico-degenerative, in particolare i tumori al colon-retto (in parte spiegata dalla diluizione di eventuali sostanze cancerogene e dalla

riduzione del loro tempo di contatto con la mucosa), il diabete e le malattie cardiovascolari (in parte per una riduzione dei livelli ematici di colesterolo).

Altre sostanze riconducibili alla struttura chimica dei carboidrati sono i polialcoli (detti anche meno correttamente alcol-zuccheri o polioli). I polialcoli sono presenti, oltre che in piccola quantità nella frutta (sorbitolo), in un numero crescente di alimenti ipocalorici o acariogeni, in particolare caramelle e gomme da masticare, dove sostituiscono in tutto o in parte gli zuccheri disponibili.

Generalmente, la quantità di carboidrati introdotti nella dieta umana è considerevolmente superiore al livello minimo di "necessarietà". Nella dieta italiana, la quota di energia soddisfatta dai carboidrati risultava nel 1980-84 pari al 46% dell'energia, (12,5% da zuccheri). La quantità ottimale di carboidrati nella dieta non è facilmente definibile, anche se l'adesione alle raccomandazioni relative ai fabbisogni in proteine e lipidi porterebbe la percentuale di energia che può derivare dai carboidrati a livelli che variano dal 55 al 65% dell'energia totale della dieta. Per questa ragione, anche in considerazione dei possibili effetti negativi collegati al crescente livello di assunzione di lipidi da parte della nostra popolazione, sarebbe opportuno raccomandare che almeno il 55% del fabbisogno energetico sia fornito dai carboidrati. Poiché parte della popolazione adulta introduce calorie dalle bevande alcoliche, una quota glucidica del 55% consente, in caso di apporto di alcol non superiore al 10% dell'energia, di introdurre le quote proteiche e lipidiche raccomandate. È auspicabile che questo obiettivo venga raggiunto grazie ad un aumento nel consumo di alimenti ricchi in fibra o contenenti amidi a lento assorbimento, mentre andrebbe contenuta la quota di energia derivante da zuccheri raffinati.

A questo proposito va ricordato che zuccheri semplici sono contenuti in numerosi alimenti primari, tra cui latte, frutta ed alcune verdure, naturalmente ricchi anche in vitamine, minerali e/o fibra alimentare. Una dieta equilibrata e ricca in fibre, basata su alimenti comuni, è quindi inevitabilmente associata ad una introduzione non marginale di zuccheri semplici. In questo contesto gli zuccheri non influenzano negativamente l'indice glicemico della dieta. Gli zuccheri contribuiscono inoltre a rendere più gradevoli ed accettabili, specie in età pediatrica, diete ricche in carboidrati. Va tuttavia notato che gli zuccheri raffinati (ed in particolare il saccarosio consumato come tale o contenuto in alimenti dolci), oltre ad aumentare la densità energetica della dieta, sono un fattore di rischio riconosciuto per la carie dentaria. Per questa ragione il livello di zuccheri semplici nella dieta non dovrebbe superare il 10-12% dell'energia giornaliera, favorendo il consumo di frutta e verdure e limitando il consumo di saccarosio. Poiché la dieta del bambino è generalmente più ricca di zuccheri semplici di quella dell'adulto, in relazione al più elevato consumo di latte, frutta, succhi di frutta ed alimenti dolci, può essere accettabile in questa fascia di età una presenza di zuccheri semplici sino al 15-16% dell'energia, ferma restando la raccomandazione della limitazione nel consumo di saccarosio ed una corretta educazione all'igiene orale.

### 2.3.2. *Le proteine*

Le proteine sono formate da catene di  $\alpha$ -aminoacidi legati tra loro dal legame peptidico e sono caratterizzate dalla proporzione e dalla sequenza con la quale questi aminoacidi si legano a formare la catena peptidica. Da queste due caratteristiche deriva la specificità - e quindi la funzione - delle migliaia di proteine presenti negli organismi viventi. Sequenza e proporzioni degli aminoacidi sono geneticamente determinate. In natura esistono centinaia di aminoacidi, e continuamente ne vengono messi in evidenza di nuovi, ma solamente venti sono coinvolti nella sintesi proteica. Anche se a livello cellulare tutti e venti questi aminoacidi devono essere contemporaneamente presenti, solo nove devono essere introdotti preformati con gli alimenti in quanto l'organismo non è in grado di sintetizzarli. Questi nove aminoacidi vengono definiti aminoacidi essenziali (AAE). Essi sono: valina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e istidina. Sono poi considerati semiessenziali cisteina e tirosina, in quanto sono in grado di risparmiare rispettivamente metionina e fenilalanina. Tutti gli altri aminoacidi possono prendere origine da una fonte anche molto semplice di azoto.

Caratteristica peculiare delle proteine è quella di andare soggette ad un continuo processo di demolizione e sintesi che va sotto il nome di turnover proteico. Il turnover consente all'organismo di modulare la sintesi delle proprie proteine in dipendenza dell'evolversi delle sue esigenze, ed è pertanto alla base delle sue capacità di adattamento. In un uomo adulto le proteine corporee ammontano a circa 12 kg. Di questi si calcola che giornalmente circa 250 g sono soggetti a turnover, quindi una quantità circa tre volte superiore a quella dei normali consumi alimentari. La continua liberazione di aminoacidi conseguente al processo di turnover ne consente l'interscambio tra i tessuti e la riutilizzazione intracellulare per la sintesi di nuove proteine. Questa riutilizzazione di aminoacidi è sotto il controllo di vari fattori metabolici e ormonali ed è influenzata dallo stato fisiologico o patologico del soggetto. Così, ad esempio, la riutilizzazione degli aminoacidi è molto efficiente in condizione di rapida crescita, nel recupero dopo una malattia e dopo episodi di aumentato catabolismo per traumi o infezioni, e di regola tutte le volte che sia richiesta una rapida sintesi di proteine. Tuttavia anche nelle condizioni di massima efficienza la riutilizzazione non è completa, perchè una frazione va persa attraverso il catabolismo ossidativo. I prodotti azotati del catabolismo, quali urea (quantitativamente il più importante), creatinina, acido urico ed altri composti azotati, sono escreti con le urine (principale via di escrezione), le feci, il sudore e la pelle. Con le feci vengono anche eliminate le proteine non digerite, quelle contenute nella flora microbica presente nell'intestino, quelle derivanti dalla continua secrezione pancreatica, biliare ed intestinale come pure le proteine cellulari rilasciate nel lume intestinale in seguito al rapido e incessante rinnovamento delle cellule della mucosa intestinale. Altre perdite di azoto si verificano attraverso secrezioni del corpo, desquamazione della pelle e crescita delle unghie e dei capelli. Le secrezioni pancreatiche, biliari e intestinali di proteine, insieme a quelle delle cellule intestinali desquamate, si configurano come una massa di proteine endogene di grandezza non trascurabile (da 20 a 80

g/giorno) Non tutte le proteine endogene sono digerite e successivamente assorbite; il residuo, unitamente alle proteine non digerite provenienti dagli alimenti e alle proteine proprie della flora microbica dell'intestino tenue, passano nel colon, dove sono fermentate dalla flora batterica. Una parte dell'azoto rilasciato nella fermentazione è riassorbito come ammoniaca, che può essere riutilizzata dal fegato per la sintesi di aminoacidi non indispensabili.

Sintesi e demolizione delle proteine continuano anche con una dieta completamente priva di proteine, attraverso il riciclaggio degli aminoacidi endogeni. In queste condizioni il processo è reso più efficiente mediante la messa in opera di meccanismi di adattamento che tendono a conseguire una più economica utilizzazione degli aminoacidi, presumibilmente attraverso un aumento del loro incanalamento verso la sintesi delle proteine ed una riduzione della loro ossidazione. Tuttavia anche in questo caso una ridotta proporzione viene incessantemente catabolizzata, ed i prodotti azotati che ne derivano vengono eliminati con le urine, come pure continuano le perdite di azoto attraverso le feci e la pelle. Questo azoto rappresenta la cosiddetta "perdita obbligatoria di azoto", che fino a non molto tempo fa costituiva la base per la definizione dei bisogni di proteine con il metodo fattoriale. Un altro aspetto importante per stabilire i bisogni in proteine è quello del rapporto tra livello di energia e livello di proteine introdotti con gli alimenti consumati. È dimostrato che più elevata è la quantità di energia, più bassa è la quantità di proteine necessaria per raggiungere l'equilibrio. Si calcola che per ogni caloria in più fornita dalla dieta la ritenzione di azoto aumenti di 1-2 mg. Questo fatto ha importanti implicazioni quando ci si basa sul bilancio dell'azoto per la definizione del fabbisogno in proteine .

La sintesi proteica è un processo che costa energia, e in tal modo condiziona il fabbisogno energetico e la efficienza di utilizzazione dell'energia, mentre dall'altro la disponibilità di energia influenza lo stato del metabolismo non solo proteico ma di tutto l'organismo. Quando si considera la quota proteica si deve quindi presupporre che la dieta sia energeticamente adeguata.

Tradurre il fabbisogno proteico in termini rigidamente numerici è molto difficile, sia per l'importanza esercitata dall'apporto di energia globale sia per i vari fattori che modificano l'utilizzazione delle proteine, dalla digeribilità alla composizione in aminoacidi, alla quota di azoto proteico globale, alle vitamine ed ai sali minerali presenti nella dieta. I valori dei bisogni in proteine sono stati ricavati dalle stime della quantità di proteine di alta qualità (proteine dell'uovo o del latte) necessaria a mantenere l'equilibrio dell'azoto in presenza di un adeguato apporto di energia. I valori così ottenuti sono stati opportunamente aumentati nel caso dei bisogni in proteine relativi alla crescita, alla gestazione ed all'allattamento. Una attenzione particolare è stata data ai problemi relativi ai primi sei mesi di vita e alla valutazione del significato della correzione per la qualità delle proteine in relazione ai bisogni in aminoacidi essenziali nelle diverse condizioni fisiologiche.

**Tabella - Livelli di assunzione raccomandata di proteine.**

	Etá (anni)	Livello di sicurezza (L.S.) (g proteine/kg peso corporeo4/die)	L.S. corretto per la qualità proteica (g/kg peso corporeo 4/die)
	0,50-0,75	1,65	2,09
	0,75-1,00	1,48	1,87
	1,5	1,17	1,48
	2,5	1,13	1,43
	3,5	1,09	1,38
	4,5	1,06	1,34
	5,5	1,02	1,29
	6,5	1,01	1,28
	7,5	1,01	1,28
	8,5	1,01	1,28
	9,5	0,99	1,25
<b>Maschi</b>	10,5	0,99	1,25
	11,5	0,98	1,24
	12,5	1,00	1,27
	13,5	0,97	1,23
	14,5	0,96	1,22
	15,5	0,92	1,17
	16,5	0,90	1,14
	17,5	0,86	1,09
<b>Femmine</b>	10,5	1,00	1,27
	11,5	0,98	1,24
	12,5	0,96	1,22
	13,5	0,94	1,19
	14,5	0,90	1,14
	15,5	0,87	1,10
	16,5	0,83	1,05
	17,5	0,80	1,01
<b>Adulto</b>		0,75	0,95
<b>Gestazione</b>			+6
<b>Allattamento</b>			+17

Fonte : LARN 1996.

### 2.2.3 I lipidi

I lipidi sono sostanze organiche praticamente insolubili in acqua, presenti nell'organismo umano per assolvere a tre funzioni fondamentali: 1) sono un'importante riserva energetica (1 g fornisce circa 9 kcal); 2) sono componenti fondamentali delle membrane cellulari in tutti i tessuti, 3) sono precursori di sostanze regolatrici del sistema cardiovascolare, della coagulazione del sangue, della funzione renale e del sistema immunitario come prostaglandine, trombossani, prostaciclina e leucotrieni .

I lipidi alimentari (oli e grassi), oltre a fornire energia, fungono da trasportatori per le vitamine liposolubili e provvedono al fabbisogno di Acidi Grassi Essenziali (AGE o EFA = Essential Fatty Acids). Chimicamente gli acidi grassi essenziali comprendono acidi grassi poliinsaturi a 18 o più atomi di carbonio, aventi il primo doppio legame in posizione 3 o 6 a partire dal gruppo metilico della catena carboniosa. Ciò è indicato con la lettera n oppure w . Sono essenziali per l'uomo perchè questi non è in grado di introdurre doppi legami in posizione 3 o 6, mentre può "desaturare" verso l'estremità carbossilica e può inoltre allungare la catena carboniosa. Essenziali sono l'acido linoleico (18:2w 6) e l'acido  $\omega$ -linolenico (18:3w 3), i quali possono essere convertiti nell'organismo in altri acidi grassi poliinsaturi della serie w 6 ed w 3 rispettivamente. La conversione di acidi grassi della serie w 6 in acidi grassi della serie w 3 e viceversa non è invece possibile.

L'importanza nutrizionale dei lipidi alimentari si esprime attraverso l'apporto quantitativo e qualitativo sia degli acidi grassi che della frazione insaponificabile che li compongono (soprattutto steroli).

Dal punto di vista qualitativo risulta determinante per le caratteristiche strutturali e funzionali del lipide la composizione acidica, cioè il contenuto in acidi grassi saturi (senza doppi legami), monoinsaturi (con un doppio legame), e poliinsaturi (con più di un doppio legame). La presenza dei doppi legami, la lunghezza della catena carboniosa, l'isomeria di posizione e geometrica condizionano le proprietà nutrizionali, fisiche e biologiche dei lipidi. Va ricordato che all'aumentare del numero dei doppi legami si abbassa il punto di fusione ed aumenta la suscettibilità ai fenomeni perossidativi.

I grassi dei cibi ad elevato tenore di acidi grassi saturi tendono a far innalzare il livello di colesterolo nel sangue ancor più di quanto non faccia l'apporto alimentare del colesterolo stesso. Fra questi alimenti rientrano soprattutto i prodotti lattiero-caseari (formaggi, latte intero, panna, burro), le carni grasse e i loro derivati e certi oli vegetali (olio di palma e soprattutto olio di cocco).

- I grassi dei cibi ad elevato tenore di acidi grassi insaturi non fanno innalzare il livello di colesterolo nel sangue. Questi alimenti sono rappresentati soprattutto da oli vegetali (di semi e di oliva), noci, nocciole, olive e pesce.

- I grassi insaturi comprendono sia i monoinsaturi che i polinsaturi.

L'olio di oliva è particolarmente ricco in monoinsaturi soprattutto acido oleico, il quale presenta due vantaggi: fa diminuire il livello nel sangue delle lipoproteine a bassa densità LDL e VLDL - che trasportano quella parte di colesterolo che tende a permanere nel sangue e a depositarsi sulle pareti delle arterie ("colesterolo cattivo") – e non modifica, o addirittura fa aumentare, i livelli di un altro tipo di lipoproteine: le HDL, che operano utilmente per rimuovere il colesterolo dal sangue e dai depositi nelle arterie e per avviarlo alla eliminazione ("colesterolo buono").

L'olio di semi è generalmente ricco in polinsaturi del tipo omega-6, efficaci anch'essi nel diminuire il livello delle LDL e delle VLDL nel sangue. I grassi del pesce sono ricchi in acidi grassi polinsaturi del tipo omega-3, capaci di far diminuire nel sangue tanto il livello dei trigliceridi quanto la capacità di aggregazione delle piastrine (ossia il rischio di trombosi), proteggendo così l'organismo dalla possibile insorgenza di malattie cardiovascolari.

Gli acidi grassi insaturi potrebbero anche svolgere un ruolo nella prevenzione di alcune forme di tumori.

- Gli acidi grassi trans tendono a far innalzare il livello di colesterolo nel sangue, favorendo inoltre l'aumento del "colesterolo cattivo" rispetto al "colesterolo buono". Sono presenti naturalmente nei prodotti ricavati dagli animali ruminanti (carni e latte) o possono formarsi durante alcuni trattamenti industriali dei grassi vegetali e quindi trovarsi negli alimenti trasformati che li contengono.

Il fabbisogno dei lipidi

Acidi grassi saturi (latticini, carni grasse, olio cocco) non più del 7-10% delle calorie totali

Acidi grassi monoinsaturi (olio extravergine d'oliva) fino al 20% delle calorie totali

Acidi grassi polinsaturi (olio di semi, pesce) circa il 7% delle calorie totali con un rapporto Omega-6/Omega-3 intorno a 5:1

**Tabella - Livelli di assunzione raccomandati di acidi grassi essenziali.**

Categoria	Età		w 6		w 3
	(anni)	% energia	g/die	% energia	g/die
Lattanti	0,5 - 1	4,5	4	0,2- 0,5	0,5
Bambini	1 - 3	3	4	0,5	0,7
	4 - 6	2	4	0,5	1
	7 - 10	2	4	0,5	1
Maschi	11 - 14	2	5	0,5	1
	15 - 17	2	6	0,5	1,5
	ò 18	2	6	0,5	1,5
Femmine	11 - 14	2	4	0,5	1
	15 - 17	2	5	0,5	1
	ò 18	2	4,5	0,5	1
Gestanti		2	5	0,5	1
Nutrici		2	5,5	0,5	1

Fonte: LARN 1996



**2.3.4. LIVELLI DI ASSUNZIONE GIORNALIERI RACCOMANDATI DI NUTRIENTI PER LA POPOLAZIONE ITALIANA (L.A.R.N.), SOCIETÀ ITALIANA DI NUTRIZIONE UMANA, REVISIONE 1996**

Categoria	Età	Peso	Proteine		Acidi grassi essenziali	Calcio	Fosforo	Potassio	Ferro	Zinco	Rame	Selenio	Iodio	Tiamina	Riboflavina	Niacina (N.E.)	Vit.B <sub>6</sub>	Vit.B <sub>12</sub>	Vit.C	Folati	Vit.A (R.E.)	Vit.D
			(g) <sup>(3)</sup>	(g) <sup>(4)</sup>																		
	(anni) <sup>(1)</sup>	(kg) <sup>(2)</sup>		W 6	w 3																	
<b>Lattanti</b>	0,5-1	7-10	15-19	4	0,5	600	500	800	7	4	0,3	8	50	0,4	0,4	5	0,4	0,5	35	50	350	10-25*
<b>Bambini</b>	1-3	9-16	13-23	4	0,7	800	800	800	7	4	0,4	10	70	0,6	0,8	9	0,7	0,7	40	100	400	10*
	4-6	16-22	21-28	4	1	800	800	1100	9	6	0,6	15	90	0,7	1,0	11	0,9	1	45	130	400	0-10
	7-10	23-33	29-42	4	1	1000	1000	2000	9	7	0,7	25	120	0,9	1,2	13	1,1	1,4	45	150	500	0-10
<b>Maschi</b>	11-14	35-53	44-65	5	1	1200	1200	3100	12	9	0,8	35	150	1,1	1,4	15	1,3	2	50	180	600	0-15
	15-17	55-66	64-72	6	1,5	1200	1200	3100	12	9	1	45	150	1,2	1,6	18	1,5	2	60	200	700	0-15
	18-29	65	62	6	1,5	1000	1000	3100	10	10	1,2	55	150	1,2	1,6	18	1,5	2	60	200	700	0-10
	30-59	65	62	6	1,5	800	800	3100	10	10	1,2	55	150	1,2	1,6	18	1,5	2	60	200	700	0-10
	60+	65	62	6	1,5	1000	1000	3100	10	10	1,2	55	150	0,8	1,6	18	1,5	2	60	200	700	10*
<b>Femmine</b>	11-14	35-51	43-58	4	1	1200	1200	3100	12/18 <sup>(7)</sup>	9	0,8	35	150	0,9	1,2	14	1,1	2	50	180	600	0-15
	15-17	52-55	56-57	5	1	1200	1200	3100	18	7	1	45	150	0,9	1,3	14	1,1	2	60	200	600	0-15
	18-29	56	53	4,5	1	1000	1000	3100	18	7	1,2	55	150	0,9	1,3	14	1,1	2	60	200	600	0-10
	30-49	56	53	4,5	1	800	800	3100	18	7	1,2	55	150	0,9	1,3	14	1,1	2	60	200	600	0-10
	50+	56	53	4,5	1	1200-1500 <sup>(5)</sup> *	1000	3100	10	7	1,2	55	150	0,8	1,3	14	1,1	2	60	200	600	10*
<b>Gestanti</b>			59	5*	1	1200	1200	3100	30 <sup>(8)</sup> *	7	1,2	55	175	1	1,6	14	1,3	2,2	70	400 <sup>(12)</sup> *	700 <sup>(14)</sup>	10*
<b>Nutrici</b>			70	5,	1	1200	1200	3100	18	12	1,5	70	200	1,1	1,7	16	1,4	2,6	90	350	950	10*

<sup>1</sup> I limiti superiori dell'intervallo di età si intendono fino al compimento del successivo compleanno (ad esempio con "1 - 3 anni" si intende da 1 anno appena compiuto fino al compimento del 4° anno). L'ultima classe di età della donna è "50 e più" poiché con la menopausa cambiano i fabbisogni di due importanti nutrienti: il calcio e il ferro. Nell'uomo l'ultima classe di età è "60 e più".

<sup>2</sup> Nei lattanti, bambini e adolescenti, gli intervalli di peso sono i valori di riferimento ripresi dalla tabella 1 del capitolo "Energia": il limite inferiore dell'intervallo corrisponde al peso delle femmine nella classe d'età più bassa, mentre il limite superiore corrisponde al peso dei maschi nella classe di età più elevata. Nell'adulto è stato riportato il peso desiderabile medio dei maschi e delle femmine nella popolazione italiana (vedi capitolo "Energia").

<sup>3</sup> Per stimare il fabbisogno in proteine, il Livello di Sicurezza (LS) è stato corretto per la qualità proteica della dieta e moltiplicato per i pesi corporei riportati nella prima colonna. Sia nei bambini che negli adulti è comunque preferibile calcolare il fabbisogno sulla base del peso dell'individuo o del gruppo di individui, utilizzando la tabella 3 del capitolo "Proteine e aminoacidi". Il valore di peso da utilizzare è quello osservato, con l'eccezione dei soggetti sottopeso e obesi per i quali va utilizzato il peso desiderabile (vedi capitolo "Energia").

<sup>4</sup> Il fabbisogno di acidi grassi w 6 aumenta dopo la 10a settimana di gravidanza.

<sup>5</sup> Nelle donne in età post-menopausale si consiglia un apporto di calcio da 1200 a 1500 mg in assenza di terapia con estrogeni. Nel caso di terapia con estrogeni, il fabbisogno è uguale a quello degli anziani maschi (1000 mg).

<sup>6</sup> Con l'eccezione del lattante, il livello di assunzione raccomandato di fosforo è uguale in grammi a quello del calcio, il che corrisponde ad un rapporto molare fosforo/calcio 1/1,3

<sup>7</sup> Il livello di assunzione raccomandato di ferro è di 18 mg nelle adolescenti mestruate e di 12 mg nelle altre.

<sup>8</sup> L'apporto di ferro in gravidanza che corrisponde alla minore morbosità e mortalità fetale e neonatale è tale da non potere essere facilmente coperto con un'alimentazione equilibrata, per cui si consiglia una supplementazione.

<sup>9</sup> Poiché la dieta è spesso carente di iodio, per la copertura dei fabbisogni si consiglia l'uso di sale arricchito con iodio.

<sup>10</sup> La niacina è espressa come niacina equivalenti in quanto comprende anche la niacina di origine endogena sintetizzata a partire dal triptofano (1 mg di niacina deriva da circa 60 mg di triptofano).

<sup>11</sup> Il fabbisogno in vitamina B6 è stato calcolato sulla base di 15 mg/g di apporto proteico e considerando che circa il 15% dell'apporto energetico è assicurato dalle proteine sia nel bambino che nell'adulto.

<sup>12</sup> Un aumento dell'apporto di folati nel periodo periconcezionale costituisce un fattore di protezione dalla spina bifida nel nascituro.

<sup>13</sup> La vitamina A è espressa in  $\mu$ g di retinolo equivalenti (R.E. = 1  $\mu$ g di retinolo = 6  $\mu$ g di betacarotene = 12  $\mu$ g di altri carotenoidi attivi)

<sup>14</sup> In gravidanza, per i noti effetti teratogeni legati ad eventuali dosi eccessive, vanno assunti supplementi di vitamina A solo dietro indicazione del medico, e comunque con dosi che non superino i 6 mg di R.E.

<sup>15</sup> Per la vitamina D, gli intervalli comprendenti lo zero indicano che il gruppo di popolazione considerato dovrebbe essere in grado di produrre un'adeguata quantità di vitamina D in seguito all'esposizione alla luce solare. Il valore più elevato dell'intervallo è la stima dell'apporto raccomandato per gli individui con sintesi endogena minima. Il valore singolo indica che è prudente, per tutti i soggetti della classe considerata, assumere (con la dieta o mediante supplementazione) la quantità indicata di vitamina D.

\* Per coprire tali fabbisogni potrà talvolta essere conveniente consumare alimenti fortificati o completare l'apporto dietetico con una supplementazione.

Fonte: LARN 1996.

## 2.4. Stress ossidativo.

Nel 1956, Denham Harman (premio nobel 1995) introdusse la teoria dei radicali liberi (Harman), che con il passare degli anni svolgono una potente e progressiva azione dannosa per l'organismo.

Il radicale libero è una molecola altamente instabile( per la presenza di un elettrone spaiato). Per raggiungere un livello maggiore di stabilità è spinto a captare un atomo di idrogeno da altre molecole, modificandone irreversibilmente la struttura chimica. I radicali liberi si formano all'interno delle nostre cellule (nei mitocondri), dove l'ossigeno viene utilizzato per produrre energia. Non tutto l'ossigeno viene consumato ma in parte va a formare queste molecole che contengono uno o più atomi di ossigeno.

Le strutture cellulari più esposte all'azione dannosa dei radicali liberi sono le strutture lipidiche, in particolare quelle che costituiscono le membrane nucleari e cellulari. Esse vengono sottoposte a destrutturazione dei loro componenti più vulnerabili, come gli acidi grassi polinsaturi; altri bersagli sono alcune molecole tissutali (lipoproteine a bassa densità (LDL), ecc.), strutture proteiche e acidi nucleici. La conseguente formazione di aldeidi e chetoni può agire su acidi nucleici e proteine aggravando il quadro e favorendo la mutagenesi e la cancerogenesi. Nel corso dei normali processi metabolici si formano radicali liberi che danneggiano i mitocondri e le membrane cellulari, queste ultime sono rinnovate ogni 5-6 giorni; nel cancro e nell'ischemia il danno ossidativo è talmente elevato, che i processi riparativi diventano insufficienti, le membrane si danneggiano in modo irreversibile; sodio e calcio penetrando nell'interno, provocano la morte della cellula ; invecchiando la velocità di riparazione dei mitocondri e delle membrane diminuisce e ne risulta un progressivo deterioramento delle loro funzioni. I radicali liberi sono bloccati incisivamente in età giovanile grazie ai meccanismi di difesa del nostro organismo, ma con il passar del tempo questi meccanismi si fanno meno efficaci. Quando la produzione di radicali prende il sopravvento si viene a determinare uno stress ossidativo, inteso come rottura dell'equilibrio tra i componenti reattivi ossidanti e i meccanismi di difesa antiossidanti, a scapito di quest'ultimi .

I più importanti radicali liberi sono l'anione superossido  $O_2^-$ , l'acqua ossigenata  $H_2O_2$  e l'ossidrile  $OH$ . Il più diffuso è l'anione superossido che è estremamente pericoloso perché distrugge l'ossido nitrico determinando ipertensione.

La produzione di radicali liberi è influenzata da diversi fattori che possono aumentarne le quantità:

1. la lunga e ripetuta esposizione alle radiazioni ionizzanti (per esempio i raggi UV)
2. l'uso o l'esposizione a sostanze chimiche (alcuni farmaci, pesticidi, inquinanti, ecc.)

3. il fumo di sigaretta
4. prolungati stress
5. un'attività fisica intensa può causarne un aumento drastico (circa 50 volte!)
6. alcune patologie come il diabete e l'ipercolesterolemia possono accentuarne la produzione
7. una dieta ipercalorica aumenta l'entità dello stress ossidativi, mentre una dieta ipocalorica lo riduce
8. l'eccessivo consumo di grassi
9. particolari tecniche di cottura degli alimenti (es. brace)

Tra le varie sorgenti endogene di radicali liberi ricordiamo:

- la membrana plasmatica, dove avviene il metabolismo dell'acido arachidonico ad opera di vari sistemi enzimatici come le prostaglandin-sintetasi, le lipossigenasi e le NADPH ossidasi che generano radicali dell'ossigeno e radicali organici centrati su atomi di carbonio e ossigeno ;
- il reticolo endoplasmatico liscio, dove il cit b5 e le rispettive reduttasi, contenenti gruppi flavinici ridotti, vanno incontro a delle reazioni di autossidazione formandomanione superossido e acqua ossigenata;
- il sistema farmaco metabolico, dove avviene la trasformazione di molti xenobiotici, che vengono resi più idrosolubili e facilmente eliminabili attraverso reazioni di ossidazione e coniugazione che danno origine a radicali liberi ;
- la membrana interna dei mitocondri, dove si trovano componenti altamente ossidabili come la NADH-deidrogenasi e l'Ubichinone che, in condizioni di bassa tensione di ossigeno, si trovano allo stato ridotto e producono intermedi reattivi dell'ossigeno (anione superossido, perossido di idrogeno e radicale idrossile), mentre in condizioni di alta tensione di ossigeno producono solo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> .

Un'altra importante fonte cellulare di specie reattive sono le numerose ossidasi presenti nella cellula, come le ossidasi perossisomiali e gli enzimi citosolici quali la xantinossidasi, l'aldeide ossidasi e la triptofano diossigenasi, che forniscono H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> direttamente o tramite la produzione di O<sub>2</sub> .

Le reazioni di tipo ossidativo, a carico dei radicali liberi possono essere rallentate o addirittura bloccate dall'azione degli antiossidanti.

#### 2.4.1. Target dello stress ossidativo: proteine, DNA, lipidi di membrana.

L'inattivazione delle proteine strutturali ed enzimatiche viene spesso attribuita ad un danno ossidativo generato dai radicali liberi. Gli aminoacidi più sensibili all'azione dei radicali liberi sono quelli contenenti gruppi tiolici (cistina, cisteina e metionina), gruppi aromatici (fenilalanina, tirosina, istidina e triptofano) e residui di prolina ed istidina. I radicali liberi causano decarbossilazione e deaminazione delle proteine. La reazione tra i radicali liberi e le proteine (PH) inizia con l'estrazione di un atomo di idrogeno dalla proteina ( $P\bullet$ ) con formazione di un sito radicalico a livello proteico, che può avvenire:

- su un atomo di carbonio  $\alpha$  della catena polipeptidica;

- a livello dei residui laterali, come ad esempio nel residuo di cisteina, dove il gruppo sulfidrilico (-SH) può essere trasformato in un radicale tiolo (-S $\bullet$ ), che successivamente dimerizza formando un disolfuro.

E' in questo modo che i gruppi sulfidrilici di molti enzimi e proteine strutturali vengono ossidati e vengono alterate le loro vie metaboliche. Le proteine radicaliche hanno un'emivita molto breve e sono degradate da enzimi proteolitici. Le proteine idroperossidi hanno un'emivita maggiore e potrebbero dare origine ad altre forme radicaliche .

Una delle conseguenze più gravi legate all'attività dei radicali liberi è quella che essi esplicano a livello del DNA . I radicali liberi producono una serie di lesioni al DNA e alle nucleoproteine agendo sul ribosio, sulle basi, sulle singole catene dell'elica, causando rotture, distorsioni della doppia elica e cross-link fra le basi azotate. Le specie reattive in grado di esplicare questa azione sono: l'ossigeno singoletto, i radicali idrossilici e alcossilici RO $\bullet$  (estremamente reattivi se generati vicino alla doppia elica), contrariamente al radicale superossido, gli idroperossidi dei lipidi e il perossido di idrogeno che non sono sufficientemente reattivi per attaccare il DNA .La trasformazione in radicale libero di una base purinica o pirimidinica, ancora situata nella sequenza di DNA, comporta una maggiore reattività con la trasformazione in un composto ossidato che darà origine ad una mutazione.Le basi pirimidiniche, che vengono attaccate in posizione 5-6 nel doppio legame, vengono trasformate in idroperossidi in presenza di ossigeno, l'attacco alle basi puriniche, dove l'ossidazione è simile a quella delle pirimidine, porta alla formazione di idroperossidi instabili. Esiste anche la possibilità che un DNA radicale libero formi un legame covalente con un'altra molecola di DNA situata sullo stesso filamento o su un cromosoma diverso.Un'altro sito d'attacco possono essere gli zuccheri, come il deossiribosio, che subisce un attacco radicalico in corrispondenza del carbonio I, dove si forma un radicale libero, e in presenza di acqua si ha il distacco della base azotata e quindi la rottura della catena.

L'attacco da parte di un radicale libero  $R\bullet$  ai lipidi poliinsaturi, presenti nelle membrane biologiche, porta all'avvio del processo di perossidazione lipidica che è un processo di deterioramento  $O_2$ -dipendente degli acidi grassi poliinsaturi. Questo processo porta alla compromissione dell'integrità delle membrane biologiche, infatti l'ossidazione dei fosfolipidi danneggia la struttura delle membrane, alterandone la fluidità, la resistenza elettrica e le proprietà di fase. L'ossidabilità degli acidi grassi cresce con il numero dei doppi legami; quelli saturi e monoinsaturi sono poco ossidabili, quelli con due o più doppi legami sono tra le molecole più ossidabili presenti nei sistemi biologici. La perossidazione lipidica è una reazione radicalica a catena che può essere suddivisa in tre fasi: iniziazione, propagazione e terminazione. Durante la fase di iniziazione, l'estrazione dell'atomo d'idrogeno dal carbonio metilenico di un acido grasso poliinsaturo (LH) porta alla formazione di un radicale libero centrato nel carbonio ( $L\bullet$ ), che, nella fase di propagazione in ambiente aerobio, reagisce con l' $O_2$  originando un radicale lipoperossilico  $LOO\bullet$ . È una reazione rapidissima, non è comunque da escludere che, in particolari condizioni, si possa avere un trasferimento dell'elettrone da parte di un'altra molecola, come uno *scavenger*, per cui si forma da  $L\bullet$  nuovamente un acido grasso in cui però la posizione del doppio legame è cambiata. Normalmente avviene però la formazione del radicale  $LOO\bullet$  che può estrarre un atomo di idrogeno da un'altro acido grasso poliinsaturo trasformandosi in idroperossido  $LOOH$ , con una struttura a dieni coniugati, e formando un nuovo radicale  $L\bullet$  che si comporta esattamente come il precedente innescando una reazione a catena. La perossidazione lipidica, da questo punto di vista, dovrebbe progredire indefinitamente a seguito di una singola iniziazione, fino al completo consumo degli acidi grassi poliinsaturi. Ciò non avviene poiché i cicli di propagazione nelle membrane biologiche sono raramente più di due o tre, in quanto gli acidi grassi poliinsaturi non sono disposti in maniera contigua, ma generalmente sono distanziati da altri acidi grassi saturi, monoinsaturi o da colesterolo che interrompono la catena, definendo in tal modo la fase di terminazione del processo di perossidazione. Gli idroperossidi, principali prodotti della reazione di un acido grasso insaturo con l'ossigeno, subiscono successivamente una serie di reazioni di frammentazione, addizione, riarrangiamento e ciclizzazione, generando diversi prodotti carbonilici volatili e non (aldeidi e chetoni), biologicamente attivi e in grado di propagare il processo perossidativo. Mentre i radicali perossilici non hanno una notevole mobilità, alcuni dei prodotti secondari, come la malondialdeide (MDA), diffondono dal sito di produzione e possono estendere il danno ossidativo. La malondialdeide è in grado infatti di reagire con i gruppi funzionali di diverse biomolecole, come i gruppi amminici e sulfidrilici, alterandone la struttura, e di formare addotti con le basi azotate degli acidi nucleici, con proteine e fosfolipidi, esplicando un potere mutageno/cancerogeno. La perossidazione lipidica nei tessuti animali è spesso associata ad una serie di condizioni patologiche e alterazioni strutturali e funzionali, nelle quali è implicato un eccesso di produzione di radicali liberi. L'ossidazione incontrollata dei lipidi è uno dei principali fattori che determina il deterioramento o l'irrancidimento dei prodotti alimentari e cosmetici nelle varie fasi di produzione



e conservazione. E' stato inoltre dimostrato che l'ingestione cronica dei prodotti della degradazione ossidativa di un acido grasso aumenta, negli animali da esperimento, la frequenza dei tumori e l'incidenza di aterosclerosi. Il controllo di questo processo risulta perciò di particolare importanza commerciale sia per garantire la qualità del prodotto che per le implicazioni sulla salute dell'uomo.

## **2.5 Gli agenti antiossidanti.**

Gli agenti antiossidanti riportano l'equilibrio chimico nei radicali liberi grazie alla possibilità di fornire loro gli elettroni di cui sono privi. Gli agenti antiossidanti possono agire singolarmente o interagire, proteggendosi a vicenda nel momento in cui vengono ossidati. Va tenuto presente che ciascun antiossidante ha un campo di azione limitato ad uno o due specifici radicali liberi.

Gli esseri viventi possiedono dei meccanismi antiossidanti precisi, ma fruiscono anche delle sostanze antiossidanti presenti nella dieta. I meccanismi endogeni sono principalmente di natura enzimatica (Lee J). Esistono degli enzimi che esplicano un'azione preventiva bloccando la formazione di radicali liberi.

I principali enzimi sono:

le superossidodismutasi (SOD), presenti nel citoplasma e nei mitocondri, che contengono manganese (Mn-SOD), rame e zinco (Cu/Zn-SOD)

la glutadione perossidasi (GPX) contenente Selenio

la glutationotransferasi

le catalasi coinvolte nella detossificazione cellulare.

Durante il metabolismo cellulare, per azione degli enzimi citoplasmatici o mitocondriali, come l'enzima superossido dismutasi (SOD, zinco dipendente), i radicali liberi prodotti vengono trasformati in perossido di idrogeno (acqua ossigenata), tossico e dannoso per le strutture cellulari. A sua volta il perossido di idrogeno, grazie all'enzima catalasi (CAT) e glutadione perossidasi (GSAPx, selenio dipendente), viene ridotto in ossigeno e acqua. L'ossigeno e l'acqua possono ora essere escreti dal corpo attraverso l'urina, il sudore e la respirazione. Gli ulteriori radicali liberi presenti possono essere resi meno attivi grazie all'azione degli agenti antiossidanti che, interagendo con l'elettrone mancante, permettono ai sistemi enzimatici della cellula di neutralizzarli.

Altri antiossidanti sono la ceruloplasmina, la transferrina e l'albumina, che sono in grado di legare ioni metallici pro-ossidanti (es. ferro e rame) riducendo il tasso di perossidazione lipidica. L'organismo poi produce tutta una serie di sostanze circolanti, finalizzate ad altre funzioni biologiche, che tuttavia possiedono una marcata attività antiossidante, come l'acido urico, bilirubina, melatonina.

Per l'uomo è fondamentale che nella dieta ci sia un apporto di sostanze antiossidanti di origine vegetale che vanno ad integrare i sistemi endogeni. Di vitale importanza sono le vitamine, come l'acido ascorbico (vitamin C), i tocoferoli (vitamina E), e le provitamine o sostanze chimiche correlate, come i carotenoidi: betacarotene (provitamina A), licopene, coenzima Q10. La vitamina A e la vitamina E sono in grado di bloccare le reazioni a catena radicaliche di propagazione. La vitamina C funge sia da "spazzino" di specie reattive, sia da rigenerante di altri antiossidanti come i tocoferoli. I livelli ematici delle vitamine E ed A, degli enzimi antiossidanti e degli acidi grassi polinsaturi, sono i parametri per cui viene analizzato lo stress ossidativi.

La concentrazione di antiossidanti nei tessuti dipende e varia in funzione dell'alimentazione.

In linea generale seguire una dieta ricca di antiossidanti è molto utile per rallentare i processi degenerativi e favorire una buona attività metabolica. Pertanto solo un'alimentazione completa ed equilibrata può garantire un'efficace azione antiossidativa.

Per garantirsi un sufficiente apporto giornaliero di antiossidanti, gli esperti consigliano un'alimentazione equilibrata ed un consumo giornaliero di almeno 5-6 etti di frutta e verdura fresche e di stagione (due etti di frutta e tre di verdura).

## BIBLIOGRAFIA CAPITOLO 2

1. ADA (American Dietetic Association) Position of the American Dietetic Association (1993) Health implications of dietary fiber. *J. Am. Diet. Assoc.* 93:1446-1447
2. American Academy of Pediatrics (1993) Carbohydrates and dietary fibre. In: American Academy of Pediatrics (ed.), *Pediatric Nutrition Handbook*, 3a ed., AAD, Committee on Nutrition, Elk Grove Village.
3. American Health Foundation (1994) Proceedings of the Children's Fiber Conference, may 24th 1994, American Health Foundation, New York.
4. BNF (British Nutrition Foundation) (1990) Complex Carbohydrates in Foods. British Nutrition Foundation, Task Force on Complex Carbohydrates in Foods (ed.), Chapman & Hall, London.
5. Calloway DH (1971) Dietary components that yield energy. *Environ. Biol. Med.*, 1: 1775-86.
6. Carnovale E, Marletta L & Miuccio F (1995) Tabelle di composizione degli alimenti, Istituto Nazionale della Nutrizione, Roma.
7. Commission of the European Community (1993) Nutrient and energy intakes for the European Community, Reports of the Scientific Committee for Foods, Thirty-first Series, Office for Official Publications of the European Community, Luxembourg.
8. FAO (1980) Carbohydrates in human nutrition. FAO Food and Nutrition Paper, n. 15.
9. Navia JM (1994) Carbohydrates and dental health. *Am. J. Clin. Nutr.* 59 (SI): 719S-727S.
10. SINU (Società Italiana di Nutrizione Umana) (1987) LARN revisione 1996-97, INN ed., Roma
11. WHO (1990) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a WHO Study Group, WHO Technical Reports n. 797, WHO, Geneva.
12. Carnovale E & Miuccio FC (1989) Tabelle di composizione degli alimenti. Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste e Istituto Nazionale della Nutrizione, Roma.
13. FAO (Food and Agriculture Organization) (1991) Protein Quality Evaluation. Report of Joint FAO/WHO Expert Consultation; FAO Food and Nutrition Paper, n. 51, FAO, Rome.
14. Fomon SJ (1991) Requirements and recommended dietary intakes of protein during infancy. *Pediatr. Res.*, 30: 391-95.
15. Fomon SJ, Bier OM, Matthews DE et al. (1988) Bioavailability of dietary urea N in breast-fed infant. *J. Pediatr.*, 113: 515-20.
16. SINU (Società Italiana di Nutrizione Umana) (1986-87) Livelli di Assunzione Giornalieri di Energia e Nutrienti per la Popolazione Italiana. (LARN). Revisione 1986-87, Istituto Nazionale della Nutrizione e Ministero dell'Agricoltura e Foreste, Roma.
17. Turrini A., Saba A & Lintas C (1991) Study of the Italian Reference Diet for monitoring Food constituents and contaminants. *Nutr. Res.* 11: 861-73.

18. WHO (1985) Energy and Protein Requirements, Report of a Joint FAO/WHO/UNU Meeting, Technical Report Series n. 724, WHO, Geneva.
19. Bonanome A & Grundy SM (1988) Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N. Engl. J. Med.*, 318: 1244-48.
20. Brenner RR (1989) Factor influencing fatty acid chain elongation and desaturation. In: Vergroesen AJ & Crawford M (eds.), *The Role of Fats in Human Nutrition*, Academic Press, San Diego, CA USA, pp.45-79.
21. Clarke JTR, Cullen-Dean G, Regelink E, Chan L & Rose V (1990) Increased incidence of epistaxis in adolescents with familial hypercholesterolemia treated with fish oil. *J. Pediatr.*; 116: 139-42.
22. Pizzoferrato L & Nicoli S (1994) Caratterizzazione della componente lipidica di diete di riferimento. In: *Agrobiotecnologie nei processi di valorizzazione dei prodotti e sottoprodotti agricoli*. R.A.I.S.A. Sottoprogetto 4. vol II, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma.
23. Varela G & Ruiz-Roso B (1992) Some effects of deep frying on dietary fat intake. *Nutr. Rev.*, 50: 256-62.
24. WHO (1990) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases , Technical Report Series 797. Geneva, WHO.
25. Bauernfeind JC (1980) The safe use of vitamin A. International Vitamin A Consultative Group, Nutrition Foundation, Washington DC.
26. Ferro-Luzzi A, Cialfa E, Leclercq C & Toti E (1994) The Mediterranean diet revisited. Focus on fruit and vegetables. *Int. J. Food Sc. Nutr.*; 45, 291-300.
27. FAO (Food and Agriculture Organization) (1988) Requirements of vitamin A, iron, folate and vitamin B12. Report of a joint Food and agriculture Organization /World Health Organization Expert Committee. FAO Food and Nutrition Series, n. 23, FAO, Rome.

#### SITI INTERNET

[www.piramidealimentare.it](http://www.piramidealimentare.it)

[www.inran.it](http://www.inran.it)

[www.aiab.it](http://www.aiab.it)

# CAPITOLO 3

## FUNZIONALITA' DEGLI ALIMENTI

### 3.1. Introduzione

Lo scopo primario della dieta è fornire nutrienti sufficienti a soddisfare le esigenze nutrizionali della persona. Sono sempre di più le prove scientifiche a sostegno dell'ipotesi che alcuni alimenti e componenti alimentari abbiano effetti benefici, fisiologici e psicologici, che vanno oltre l'apporto dei nutrienti di base. La moderna scienza dell'alimentazione è andata oltre i concetti classici, consistenti nell'evitare carenze di nutrienti e nell'adeguatezza dell'alimentazione di base, passando al concetto di alimentazione "positiva" od "ottimale". La ricerca è oggi incentrata sull'identificazione dei componenti alimentari biologicamente attivi potenzialmente in grado di ottimizzare il benessere fisico e mentale e di ridurre anche il rischio di contrarre malattie. Si è scoperto che molti prodotti alimentari tradizionali, tra cui frutta, verdura, soia, cereali integrali e latte, contengono componenti potenzialmente benefici per la salute. Oltre a questi, si stanno sviluppando nuovi alimenti che rafforzano o incorporano tali benefici componenti utili per i loro effetti positivi sulla salute o per i favorevoli effetti fisiologici. Sono diversi i fattori che hanno portato a questa evoluzione nel concetto di alimentazione:

- Aumento delle evidenze scientifiche a sostegno dell'esistenza di uno stretto legame tra alimentazione e salute; infatti un gran numero di ricerche scientifiche, condotte nell'ultimo decennio, ha evidenziato, con abbondanza di dati sperimentali, che alcuni alimenti e componenti alimentari hanno effetti positivi sulla salute;
- Aumento del numero degli anziani e della vita media che hanno anche determinato il desiderio di migliorare la qualità della propria vita;
- Aumento dei costi sanitari, fattore strettamente correlato al sempre maggior numero di persone anziane.

Tali fattori hanno spinto governi, ricercatori e professionisti del settore sanitario e dell'industria alimentare a cercare un sistema per poter gestire in modo più efficace tali cambiamenti socio-economici.

Il risultato di questa storica metamorfosi che si sta verificando attorno agli alimenti ed al concetto di nutrizione è rappresentato da una nuova categoria di prodotti chiamati *functional foods* o alimenti funzionali cioè alimenti potenzialmente in grado di migliorare lo stato di salute e benessere e di ridurre il rischio, o ritardare l'insorgenza, di gravi patologie quali le malattie cardiovascolari, il cancro e l'osteoporosi. Oggigiorno gli sforzi sono concentrati

sull'identificazione e lo sviluppo di tali prodotti che, abbinati ad uno stile di vita sano, potrebbero dare un contributo concreto alla salute ed al benessere.

### **3.2 Definizione di alimento funzionale**

Il concetto di *functional foods* ebbe origine in Giappone. Nei primi anni '80 diversi studi demografici dimostrarono che la vita media della popolazione era notevolmente aumentata parallelamente all'incremento dell'aspettativa di vita e all'aumento dei costi sanitari. Pertanto le autorità sanitarie giapponesi riconobbero la necessità di migliorare la qualità della vita di un numero crescente di anziani per poter così controllare i costi sanitari; a tal scopo furono finanziati dal governo 86 programmi specifici per la ricerca e lo sviluppo delle funzioni degli alimenti. Quindi, nel 1991 fu introdotto il concetto di alimenti specificamente sviluppati per favorire la salute o ridurre il rischio di malattie e fu coniato il termine FOSHU, cioè “Foods for Specified Health Use”; nello stesso anno furono anche stilate le norme relative ai prodotti FOSHU e tali prodotti furono ufficialmente definiti come un sottogruppo della categoria degli alimenti destinati a speciali usi dietetici.

Tuttavia, sebbene in Giappone i *functional foods* costituiscano una categoria ben distinta e definita di prodotti alimentari, negli altri Paesi la situazione non è ancora ben chiara tanto che, sebbene diverse organizzazioni, autorità nazionali e corpi accademici ed industriali abbiano proposto delle definizioni per questo tipo di prodotti, non esiste ancora una definizione universalmente accettata per i *functional foods*. Non deve comunque stupire questa grande differenza tra il mondo occidentale e quello orientale nei confronti di questa categoria di prodotti. Infatti in Oriente i cibi funzionali fanno parte da secoli della cultura di questi Paesi; nella Medicina Tradizionale Cinese, cibi dotati di effetti curativi sono descritti già dal 1000 a.C. Sin dall'antichità, i Cinesi hanno compreso che i cibi hanno effetti sia preventivi che terapeutici e che sono parte integrante della salute, un punto di vista che ora sta ottenendo crescenti consensi in tutto il mondo. In Occidente, invece, i cibi funzionali sono visti come una rivoluzione.

In generale, comunque, in accordo con la maggior parte delle definizioni date dai vari organismi, un alimento può essere considerato funzionale se dimostra, in maniera soddisfacente, di avere effetti positivi su una o più funzioni specifiche dell'organismo, che vadano oltre i normali effetti nutrizionali, in modo tale che sia rilevante per il miglioramento dello stato di salute e di benessere e/o la riduzione del rischio di malattia. I prodotti funzionali devono comunque rimanere “alimenti” come tradizionalmente li conosciamo, e non presentarsi in forma di pillole o capsule, ed inoltre devono dimostrare la loro efficacia nelle quantità normalmente consumate nella dieta. Funzionale può essere un alimento integrale naturale, un alimento a cui è stato aggiunto un componente o un alimento da cui è stato eliminato un componente, con mezzi tecnologici o

biotecnologici. Può anche trattarsi di un alimento in cui è stata modificata la natura o la biodisponibilità di uno o più componenti, o una qualsiasi combinazione di queste possibilità. Infine un alimento funzionale può essere destinato alla popolazione in genere oppure a gruppi specifici di persone che possono essere definiti, per esempio, in base all'età o alla costituzione genetica. Esempi di alimenti funzionali sono i cibi che contengono determinati minerali, vitamine, acidi grassi o fibre alimentari e quelli addizionati con sostanze biologicamente attive, come i principi attivi di origine vegetale o altri antiossidanti e probiotici che contengono colture batteriche vive dotate di proprietà benefiche.

Un altro concetto molto importante, strettamente legato a quello degli alimenti funzionali, e a cui si fa riferimento nelle normative e nelle discussioni relative ai functional foods, è quello di "claim" in generale e di "health claims" in particolare. Come definito dal Codex Alimentarius, con il termine "Claim" si intende "qualsiasi messaggio o rappresentazione, incluse quelle grafiche e simboliche, che stabilisce, suggerisce o implica che un prodotto ha particolari caratteristiche che sono in relazione con la sua origine, proprietà nutrizionali, natura, produzione, modo di lavorazione, composizione ed ogni altra qualità". La situazione relativa al termine "health claim" invece è molto più complessa e controversa tanto che diverse definizioni sono utilizzate nei diversi Paesi. Negli Stati Uniti il termine health claim fa riferimento a "qualsiasi espressione messaggio o rappresentazione, incluse quelle grafiche e simboliche, che stabilisce, suggerisce o implica che esiste una relazione tra un certo prodotto o sostanza e la capacità di riduzione del rischio di malattia.

L'Unione Europea, invece, nella direttiva 2000/13/EC, ha stabilito che è vietato attribuire a qualsiasi alimento la capacità di prevenire, trattare o curare uno stato di malattia. Di fatto, una delle maggiori difficoltà nell'informare i consumatori dei benefici e degli effetti positivi che i prodotti funzionali possono avere sulla salute o comunque su una qualche funzione dell'organismo, è rappresentata dal fatto che c'è una quantità di definizioni e di posizioni diverse riguardo a questi termini.

L'Unione Europea sostiene lo sviluppo di due tipi di claims per gli alimenti funzionali:

- TIPO A: claim correlati al "miglioramento di una funzione biologica" che fanno riferimento a specifici effetti positivi di un alimento o componente alimentare su specifiche attività fisiologiche, psicologiche e biologiche che vanno oltre il loro ruolo accertato nella crescita, nello sviluppo ed in altre normali funzioni dell'organismo.

Questo tipo di dicitura non fa riferimento ad una malattia o ad uno stato patologico; ad esempio alcuni oligosaccaridi non digeribili migliorano la crescita di una determinata flora batterica nell'intestino; la caffeina può migliorare l'efficienza cognitiva.

- TIPO B: claim correlati alla “riduzione del rischio di malattia”, che riguardano la possibilità di ridurre il rischio di malattia attraverso il consumo di un alimento o di un componente alimentare che potrebbe contribuire alla riduzione del rischio di una data malattia o di uno stato patologico grazie a specifici nutrienti o non nutrienti in esso contenuti (ad esempio il folato può ridurre in una donna la probabilità di avere un figlio con difetti del midollo spinale ed un apporto sufficiente di calcio può contribuire a ridurre il rischio di osteoporosi nell’anzianità).

### 3.3. Regolamentazione e sicurezza

Molti organismi accademici, scientifici e normativi sono attivamente impegnati nella ricerca dei fondamenti scientifici a sostegno delle proprietà dei componenti funzionali o degli alimenti che li contengono. Qualsiasi quadro normativo dovrà tutelare i consumatori da affermazioni false e fuorvianti e soddisfare le esigenze di innovazione del settore nelle fasi di sviluppo, marketing e promozione del prodotto. Considerata la complessità dell’argomento, è fortemente auspicabile che si arrivi al più presto alla definizione di una normativa adeguata; in particolare le principali aree che interessano il dibattito relativo allo sviluppo di tale normativa riguardano i seguenti temi:

- etichettatura dei prodotti alimentari: l’etichetta nutrizionale è un aspetto molto importante per la tutela del consumatore in quanto fornisce le corrette informazioni sulle caratteristiche di un prodotto alimentare; nello specifico dovranno essere definite norme ben precise relative all’etichettatura dei *functional foods* , che chiariscano quali sono i termini che possono essere usati;
- validazione scientifica dei prodotti funzionali: è chiaro quanto sia importante, sia da un punto di vista della sicurezza di un certo prodotto, sia per la tutela del consumatore, che sia scientificamente dimostrato che un certo ingrediente apporta benefici per la salute e per questo dovranno essere messi a punto idonei criteri e metodi di valutazione e di analisi.

#### 3.3.1 Aspetti normativi relativi all’ETICHETTATURA e agli HEALTH CLAIMS



Le etichette nutrizionali e gli health claims sui prodotti hanno il potere di contribuire al raggiungimento degli obiettivi legati alla salute pubblica. L'etichetta nutrizionale provvede a fornire al consumatore informazioni relative alle proprietà nutrizionali di un alimento mentre gli health claims (espressione che collega un alimento, un componente alimentare o un nutriente con uno stato di salute desiderato) danno al consumatore informazioni relative ai vantaggi, per la nutrizione e lo stato di salute, apportati da particolari alimenti o nutrienti.

A livello internazionale e nazionale, la normativa relativa all'etichettatura dei prodotti funzionali e agli health claims è ancora in fase di sviluppo e varia enormemente tra un Paese e l'altro.

Il Giappone ha aperto la strada per la regolamentazione dei prodotti funzionali e ancora oggi è l'unico Paese ad avere una chiara e ben definita legislazione in merito. Nel 1991 è stato definito il concetto di “ Foods for Specific Health Use “ ( FOSHU ). Regolamentando la legge sulla nutrizione con il decreto ministeriale n.41 del luglio 1991, e successivamente con l'emendamento n.33 del maggio 1996, l'allora Ministero della Sanità e del Welfare giapponese, ora Ministero della Sanità, Lavoro e Welfare (MHLW) aveva già iniziato a legiferare sulle etichette dei prodotti salutistici appartenenti a cinque gruppi di alimenti funzionali denominati cibi per usi dietetici speciali. In base a tale normativa, gli alimenti classificati come FOSHU devono rispondere a tre requisiti fondamentali:

1. devono esserci prove scientifiche della loro efficacia, inclusi test clinici;
2. consumo sicuro;
3. determinazione analitica dei componenti efficaci.

Dalla collaborazione tra l'Organizzazione per il Cibo e l'Agricoltura delle Nazioni Unite (FAO) e l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) è nato il *Codex Alimentarius*, un programma volto a definire gli standard per gli alimenti. L'autorevolezza di questo programma deriva dal ruolo svolto nel commercio mondiale, poiché i Paesi che stanno mettendo a punto una nuova legislazione adottano spesso, come base, gli standard del Codex. sugli alimenti funzionali.

A livello internazionale, la regolamentazione sull'etichettatura e sugli health claims è contenuta nel *Codex Alimentarius*. Lo scopo principale del Codex è quello di proteggere la salute del consumatore e di garantire lo svolgimento corretto del commercio alimentare internazionale. La commissione del Codex, denominata “ Codex Committee on Food Labelling” ha sviluppato linee guida relative alle etichette nutrizionali ed agli health claims. Per quanto riguarda l'etichettatura, le linee guida dettate dal Codex stabiliscono che l'etichetta non deve essere falsa, illusoria o ingannatoria e raccomandano inoltre che tutti i prodotti destinati a speciali usi dietetici siano provvisti di etichetta nutrizionale. Per quanto riguarda invece gli health claims tali linee guida

stabiliscono che essi sono permessi solo se sono in accordo con la politica nazionale in tema di salute, se sono supportati da prove scientifiche, se non fanno riferimento alla prevenzione di malattie, se non incoraggiano cattive pratiche dietetiche e se sono utilizzati nell'ambito di una dieta completa. C'è un consenso generale tra i legislatori nell'affermare che i benefici sostenuti dagli health claims devono essere convalidati da evidenze scientifiche, anche se questo è forse l'argomento più complesso in tema di regolazione.

Una cosa importante da sottolineare è che, come si è detto, i diversi Paesi presentano una grande varietà di approcci nella regolamentazione degli health claims; ci sono Paesi in cui gli health claims relativi alla riduzione del rischio di malattia non sono ammessi, altri in cui ne sono ammessi pochi ed altri ancora che ammettono health claims di diverso tipo.

### **Unione Europea:**

La legislazione della commissione europea dà solo indicazioni molto generali ai Paesi dell'Unione Europea. La direttiva 2000/13/EC stabilisce che l'etichettatura, la presentazione e la pubblicità dei prodotti non devono trarre in inganno il consumatore e che è proibita l'attribuzione agli alimenti di proprietà di prevenzione, trattamento e cura di malattie e stati di disagio.

A seguito della proliferazione di un gran numero di claims comparsi sulle etichette dei prodotti alimentari, ed in assenza di condizioni e provvedimenti specifici a livello europeo, sette Stati Membri (Belgio, Finlandia, Francia, Paesi Bassi, Spagna, Svezia e Regno Unito) hanno sviluppato, o stanno sviluppando, legislazioni ed altre misure normative per auto-regolarsi. Questo fatto ha portato però a diversi modi di affrontare l'argomento e a numerose discrepanze sia nella definizione dei termini usati sia nelle condizioni che garantiscono e regolano l'uso dei claims. Queste discrepanze possono creare delle barriere nel garantire un livello adeguato di protezione del consumatore e della salute pubblica e possono costituire un ostacolo al libero movimento dei prodotti ed al corretto funzionamento del mercato interno. Per questi motivi, da più parti è stata richiesta un'armonizzazione delle regole relative ai claims a livello comunitario.

Il processo di sviluppo di una regolamento della commissione Europea è incominciato nel 2000 con la pubblicazione di un "giornale Bianco" sulla sicurezza degli alimenti. In questo giornale, la commissione ha affermato che aveva stabilito di introdurre una legislazione per regolare i gli aspetti relativi ai vari claims.

Più recentemente la Commissione Europea ha adottato il Regolamento sugli health claims per i prodotti alimentari (16 luglio 2003) ma, dal momento che tale Regolamento non è ancora stato adottato dal Consiglio e dal Parlamento Europeo, non è una legislazione attualmente in vigore. Ulteriori e successive modifiche a tale Regolamento potranno essere apportate prima dell'adozione definitiva; poi, le norme definite diventeranno mandatorie per tutti gli Stati Membri dell'UE.

Nell'ultimo decennio, partendo dalla Svezia, sono state adottate diverse iniziative volte a facilitare l'utilizzo degli *health claims*, quali l'adozione di linee guida e codici di comportamento negli Stati membri dell'UE, tra cui la Svezia, l'Olanda e il Regno Unito, quest'ultimo con la “*Joint Health Claims Initiative*” (JHCI). Nella maggior parte di questi Paesi, esperti del settore, autorità disciplinari, gruppi di consumatori e scienziati hanno collaborato per definire le norme di validazione scientifica, comunicazione e presentazione degli *health claims*.

**In Italia** la situazione normativa relativa ai prodotti funzionali è simile a quella degli altri Paesi dell'Unione Europea; in particolare la legislazione non fa riferimento con precisione agli alimenti funzionali ma vengono utilizzate due leggi generali: la legge di base del settore alimentare, n. 283 del 1962 riguardante le “ norme igieniche nella produzione e la vendita di alimenti e bevande “. Tale legge regola la produzione e la vendita di sostanze destinate all'alimentazione e sancisce (ordina) il controllo delle varie fasi da parte delle autorità sanitarie competenti; il Decreto Legislativo n. 111 del 1992 “ Applicazione della Direttiva 89/398/EEC, relativa agli alimenti destinati a particolari usi nutrizionali “. Questa categoria include, fra gli altri, alimenti arricchiti con nutrienti come ad esempio, carboidrati, proteine e vitamine, o con altri tipi di sostanze comprese quelle derivanti da piante. Queste leggi quindi non hanno precisi effetti su questa materia ma, almeno finché non sarà approvata la legislazione comune europea, esse rappresenteranno i principali punti di riferimento del settore. Più recentemente, nell'aprile 2002, è stato approvato il Decreto del Presidente della Repubblica Italiana n. 57/2002 che implementa la Direttiva EC n. 21/1999 relativa ai prodotti dietetici destinati a speciali usi medici, nel quale sono specificati la loro classificazione e l'etichettatura.

**Negli Stati Uniti** gli *health claims* sono permessi fin dal 1994. Sono regolati dal “Food, Drug and Cosmetic Act” (1938) e successivamente dal “Nutrition Labeling and Education Act” (1990, implementato nel 1994). Promulgata con l'obiettivo di promuovere una corretta pratica dietetica e per proteggere il consumatore da falsi claims, in origine la regolamentazione prevedeva sette claims generici. Oggigiorno sono permessi quindici *health claims* e molti altri sono stati già presi in considerazione. Anche se le aziende possono utilizzare la comunicazione delle proprietà salutari per commercializzare i loro prodotti, l'intenzione dichiarata della FDA è far sì che gli *health claims* favoriscano il consumatore, fornendo informazioni su modelli alimentari sani che possano contribuire a ridurre il rischio di patologie come le malattie cardiache e il cancro. La FDA ha annunciato che gli *health claims* possono anche basarsi su dichiarazioni approvate da un Organismo Scientifico Federale, come i “National Institutes of Health” e i “Centres for Disease Control and Prevention”, nonché la “National Academy of Sciences”.

Diversamente da quanto stabilito dalle linee guida del Codex e da quanto previsto dalle normative dei vari Paesi della Comunità Europea, le normative vigenti negli Stati Uniti ammettono i claims relativi alla riduzione del rischio di malattia, che implicano una relazione tra componenti dietetici ed una malattia o uno stato di salute. I claims relativi alla riduzione di rischio di malattia,

tipicamente definiti health claims, richiedono l'approvazione dell'americana "Food and Drug Administration" (FDA) sulla base della totalità delle evidenze scientifiche pubbliche, prima di poter essere usati sui prodotti.

### 3.3.2 Validazione dei claims

Così come si è visto nel caso della normativa, anche per quanto riguarda la validazione scientifica ci sono differenze tra i diversi Paesi; infatti, nonostante tutti concordino sulla necessità che ci siano delle evidenze scientifiche per i prodotti associati a qualche tipo di claim, i criteri e l'iter per la validazione possono differire notevolmente tra un Paese e l'altro.

Il Giappone ha aperto la strada in questo campo. Nel 1991, è stato definito il concetto di "Foods for Specified Health Use" (FOSHU). Gli alimenti classificati come FOSHU devono essere approvati dal Ministro della Salute e da quello del Welfare, previa presentazione di evidenze esaustive e scientificamente fondate a sostegno delle proprietà di tali alimenti nell'ambito di una normale dieta.

Il procedimento di verifica dura circa un anno e le aziende che fanno richiesta di certificazione devono presentare una documentazione molto dettagliata che comprende:

- Documenti scientifici che attestino i fondamenti medici sulla base dei quali si basa il claim;
- I criteri di definizione delle dosi del componente funzionale da inserire nell'integratore alimentare;
- Informazioni che dimostrino la sicurezza dell'ingrediente;
- Informazioni sulle caratteristiche chimiche e fisiche;
- Metodiche di misurazione;
- Analisi della composizione;
- Una documentazione scientifica di carattere medico-nutrizionale che attesti quanto affermato nel *claim*.

In seguito al crescente interesse per il concetto di alimenti funzionali e per gli *health claims*, l'Unione Europea ha realizzato una Azione Concertata della Commissione Europea sulla *Functional Food Science in Europe* (FUFOSE). Il programma è stato coordinato dall'*International Life Sciences Institute (ILSI) Europe*, con l'obiettivo di stabilire e sviluppare un approccio scientificamente fondato sulle evidenze richieste a sostegno dello sviluppo di prodotti alimentari che possono avere effetti benefici su una specifica funzione biologica, migliorando lo stato di

salute e il benessere di una persona e/o riducendo il rischio di malattia. Il progetto FUFOSSE ha preso in esame sei aree scientifiche e salutistiche: crescita, sviluppo e differenziazione cellulare, metabolismo basale, difese dai composti ossidanti, alimenti funzionali e sistema cardiovascolare, fisiologia e funzionalità gastrointestinale ed effetti degli alimenti sul comportamento e sul profilo psicologico. Il documento finale è stato pubblicato sul *British Journal of Nutrition*. Questo rapporto sottolinea come gli alimenti funzionali debbano comunque restare «alimenti», come tradizionalmente li conosciamo, e dimostrare la loro efficacia nelle quantità normalmente consumate nella dieta. Funzionale può essere un alimento integrale naturale, un alimento a cui è stato aggiunto un componente, o un alimento da cui è stato eliminato un elemento con mezzi tecnologici o biotecnologici. Può anche trattarsi di un alimento in cui è stata modificata la natura di uno o più componenti, o la biodisponibilità di uno o più elementi, o una qualsiasi combinazione di queste possibilità. Può essere destinato alla popolazione in genere o a gruppi specifici di persone che possono essere definiti, per esempio, in base all'età o alla costituzione genetica.

In ausilio al progetto FUFOSSE è stato avviato un programma di Azione Concertata della Commissione Europea, il progetto *Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods* (PASSCLAIM), che si prefigge l'obiettivo di risolvere alcuni degli attuali problemi relativi alla validazione, alla conferma scientifica dei *claims* e alla comunicazione al consumatore. Il progetto parte e si sviluppa sul principio che i *claims* relativi al "miglioramento di una funzione biologica" e alla "riduzione del rischio di malattia" devono essere basati su studi articolati che utilizzino bioindicatori debitamente identificati, caratterizzati e convalidati. Il progetto PASSCLAIM mira a stabilire criteri comuni per valutare la fondatezza scientifica degli *health claims*, fornendo un quadro normativo per la preparazione di dossier scientifici a sostegno di tali *claims*. Il documento concertato PASSCLAIM aiuterà chi preparerà e regolamenterà i *claims* e ne migliorerà anche la credibilità agli occhi dei consumatori. Questa strategia integrata genererà una maggior fiducia da parte dei consumatori nella fondatezza scientifica degli *health claims*, fornendo una risposta efficace alle loro preoccupazioni.

Negli Stati Uniti l'evidenza scientifica per la validazione dei *claims* relativi ai prodotti funzionali può essere classificata in quattro aree distinte:

1. prove cliniche;
2. studi su animali;
3. studi di laboratorio sperimentali in vitro;
4. studi epidemiologici.

Solamente le evidenze scientifiche fornite da tali studi sono accettate dai corpi scientifici federali responsabili della salute pubblica. I *claims* relativi alla riduzione di rischio di malattia, cioè gli *health claims*, richiedono l'approvazione dell'FDA prima di poter essere usati sui prodotti; in

ogni caso l'FDA ha annunciato che gli *health claims* possono anche basarsi su dichiarazioni approvate da altri Organismi federali come i “*National Institutes of Health*” i “*Centres of Disease Control and Prevention*” e dalla “*National Academy of Sciences*”.

In generale comunque, la valutazione della potenzialità salutistica e/o della prevenzione di una determinata patologia rappresenta certamente la fase più delicata e critica nella valorizzazione o nello sviluppo dei prodotti funzionali. La fase iniziale della ricerca richiede, oltre ad una sufficiente conoscenza della composizione chimica dell'alimento, soprattutto l'identificazione di una interazione tra uno o più componenti dell'alimento stesso con una determinata funzione dell'organismo umano. Non sempre risulta possibile riuscire a dimostrare con rigore scientifico questa interazione e quindi il ruolo benefico che l'alimento può esercitare sull'organismo. Nel caso in cui l'alimento rivendichi la capacità di potenziare una determinata funzione dell'organismo, ad es. aumentarne le difese nei confronti di un'eccessiva produzione di radicali liberi (stress ossidativo), occorrerà stabilire una correlazione tra l'assunzione dell'alimento e la variazione di uno o più *biomarkers* che siano collegabili alla funzione da potenziare. Ovviamente sarebbe più opportuno procedere, dopo l'assunzione dell'alimento, anche alla determinazione nel plasma delle sue sostanze attive e ciò allo scopo di valutare la biodisponibilità dell'alimento funzionale. La biodisponibilità di un alimento, cioè la sua capacità di trasferire nel plasma i suoi componenti attivi, è sicuramente un buon parametro per valutare il potenziale salutistico di un alimento funzionale ma spesso non è possibile procedere alla determinazione di tale parametro per problemi connessi alla sensibilità delle metodiche analitiche utilizzate.

In letteratura sono diversi i lavori che evidenziano l'importanza sia della matrice alimentare che del processo produttivo sulla biodisponibilità dei componenti attivi degli alimenti funzionali. Peralto la forte influenza della matrice alimentare sull'assorbimento gastrointestinale delle sostanze attive, e quindi sulla loro biodisponibilità, non consente di poter utilizzare i numerosissimi dati presenti in letteratura e relativi alle attività biologiche determinate in vitro per i singoli componenti di un alimento funzionale. Infatti, pur risultando attivi in vitro, potrebbero non esercitare alcuna azione benefica quando somministrati in vivo a causa di una loro potenziale scarsa biodisponibilità. Gli alimenti funzionali, consumati nell'ambito di una dieta e di uno stile di vita equilibrato, offrono grandi potenzialità nel miglioramento della salute e/o nel contribuire alla prevenzione di determinate malattie. La questione degli *health claims* sta assumendo un'importanza crescente e vi è ampio consenso sulla necessità di un quadro normativo UE che tuteli i consumatori, favorisca il commercio e promuova l'innovazione del prodotto nell'industria alimentare. Le opportunità di ricerca in campo nutrizionale nell'analisi del rapporto tra un alimento o componente alimentare e il miglioramento dello stato di salute e del benessere, oppure la riduzione del rischio di malattia, costituiscono la sfida più impegnativa per gli scienziati di oggi e di domani. Altro tema di importanza cruciale è la comunicazione dei benefici salutistici ai consumatori al fine di fornire le conoscenze necessarie per una scelta informata.

### 3.3.4. FDA e Claim

L'FDA (*Food and Drug Administration*) regola i prodotti alimentari secondo la loro destinazione d'uso e la natura dei *claim* riportati sulle confezioni. Sulle etichette di alimenti e integratori dietetici sono permessi cinque tipi di frasi o *claim* relativi alla salute:

1. *claim* sul contenuto nutritivo: indicano la presenza di uno specifico nutriente ad un determinato livello
2. *claim* sulla struttura e la funzione: descrivono l'effetto dei componenti alimentari/dietetici sulla normale struttura o funzionalità dell'organismo
3. *claim* con indicazioni/consigli alimentari: descrivono i benefici sulla salute di ampie categorie di alimenti
4. *claim* qualificati sulla salute: rendono noto il rapporto che si sviluppa tra componenti della dieta e rischi per la salute, come approvato dalla FDA, supportati dal peso delle prove scientifiche attendibili a disposizione
5. *claim* sulla salute: confermano il rapporto tra componenti della dieta e rischi di patologie, come approvato dalla FDA e supportato da accordi scientifici significativi.

Attualmente la comunità scientifica continua le ricerche verso la comprensione dei potenziali effetti benefici degli alimenti funzionali.

E' importante ricordare che gli "alimenti funzionali" possono rivestire un ruolo importante in un programma di benessere ma nello stile di vita di un adulto sano, che comprenda una dieta bilanciata e un buon livello di attività motoria.

<b>Esempi di Componenti Funzionali</b>		
<b>Classe/Componenti</b>	<b>Fonte</b>	<b>Beneficio Potenziale</b>
<b>Carotenoidi</b>		
Beta-carotene	Vegetali e frutta di vario tipo giallo-arancione (carote, agrumi, albicocche..)	Neutralizza i radicali liberi che potrebbero danneggiare le cellule; potenzia le difese antiossidanti delle cellule
Luteina, Zeaxantina	Lattuga, piselli, zucchini estive, cavoletti di Bruxelles, spinaci	Può contribuire a mantenere una vista efficiente
Licopene	Pomodori e prodotti derivati, melone d'estate, papaia	Può contribuire a mantenere una buona funzionalità della prostata
<b>Fibre Alimentari</b>		
Fibra non solubile	Crusca, cereali integrali, ortaggi	Può contribuire a mantenere un corretto funzionamento dell'apparato digerente
Beta glucano	Crusca d'avena, fiocchi d'avena, farina d'avena	Può ridurre il rischio di patologie cardiovascolari (CHD)
Fibra solubile	Bacello di semi di psyllium, legumi, frutta	Può ridurre il rischio di CHD
Cereali	Avena, frumento, mais, orzo, riso, segale	Può ridurre il rischio di CHD e di tumore; può contribuire a mantenere livelli ottimali di glucosio nel sangue
<b>Acidi grassi</b>		
Acidi grassi monosaturi	Oli vegetali, noci	Può ridurre il rischio di CHD
Acidi grassi Polinsaturi - Omega-3, DHA/EPA	Oli vegetali, noci; pesce e olio di pesce	Può ridurre il rischio di CHD e contribuire a mantenere buone funzionalità cerebrali e visive
<b>Flavonoidi</b>		
Antocianidine	Frutti di bosco, ciliegie, uva nera	Potenzia le difese antiossidanti delle cellule; può contribuire a mantenere buone funzionalità cerebrali.
Catechine, Epicatechine	Té, cacao, cioccolata, mele, uva	Può contribuire a mantenere funzioni cardiache ottimali
Flavanoni	Agrumi	Neutralizza i radicali liberi che potrebbero danneggiare le cellule; potenzia le difese antiossidanti delle cellule
Flavonoli	Cipolle, mele, té, broccoli	Neutralizza i radicali liberi che potrebbero danneggiare le cellule; potenzia le difese antiossidanti delle cellule
<b>Isotiocianati</b>		
Sulforaphane	Cavolfiore, broccoli, cavolini, cavolo cappuccio, cavolo verde, rafano	Può migliorare la disintossicazione da composti non desiderabili e potenziare le difese antiossidanti delle cellule
FDA (Food and Drug Administration)		



<b>Esempi di Componenti Funzionali</b>		
Classe/Componenti	Fonte	Beneficio Potenziale
<b>Fenoli</b>		
Acido caffeico, acido ferulico	Mele, pere, agrumi	Potenzia le difese antiossidanti delle cellule; può contribuire a mantenere buona funzionalità visiva e cardiaca
<b>Stanoli/Steroli vegetali</b>		
Stanoli/Steroli liberi	Grano, soia, frumento	Può ridurre il rischio di CHD
<b>Prebiotici/Probiotici</b>		
Inulina, Frutto-oligosaccaridi	Cereali, cipolle, frutta, aglio, miele, porri	Può migliorare la funzionalità dell'apparato gastrointestinale
Lactobacilli, Bifidobatteri	Yogurt, altri latticini	Può migliorare la funzionalità dell'apparato gastrointestinale e l'immunità sistemica
<b>Fitoestrogeni</b>		
Isoflavoni, Genisteina	Semi di soia e alimenti a base di soia	Può contribuire a mantenere una buona funzionalità ossea, mentale e delle difese immunitarie; per le donne il mantenimento di un buono stato di salute in menopausa
Lignani	Segale, ortaggi	Può contribuire a mantenere un cuore sano e buone difese immunitarie
<b>Proteina della soia</b>		
Proteina della soia	Semi di soia e alimenti a base di soia	Può ridurre il rischio di CHD
<b>Sulfidi/Tioli</b>		
Diallil Sulfide, Allil metil trisulfide	Aglio, cipolle, porri	Può migliorare la disintossicazione da composti non desiderabili ; può contribuire a mantenere un cuore sano e buone funzioni immunitarie
Ditiolioni	Verdure della famiglia delle crocifere	Contribuiscono a mantenere buone difese immunitarie
<b>Tannini</b>		
Proantocianidine	Mirtilli, cacao, mele, fragole, uva, vino, arachidi	Può contribuire a mantenere una buona funzionalità del tratto urinario e del cuore
FDA (Food and Drug Administration)		

### 3.4. Valutazione dell'effetto salutistico degli alimenti funzionali

Negli ultimi anni il concetto di cibo ha subito una radicale trasformazione fino al punto da attribuire agli alimenti, oltre alle loro proprietà nutrizionali e sensoriali, anche un importante ruolo sul mantenimento della salute, sul benessere psico-fisico e sulla prevenzione di alcune patologie. Sicuramente diversi sono i fattori che hanno contribuito a questa evoluzione sulla nuova interpretazione dell'alimentazione e certamente un contributo importante è derivato dalle numerose ricerche scientifiche che nell'ultimo decennio hanno evidenziato, con abbondanza di dati sperimentali, il legame stretto che esiste tra l'alimentazione e la salute.

Gli alimenti funzionali sono evidenze tangibili di questa storica metamorfosi che si sta verificando attorno agli alimenti. Nonostante le diverse interpretazioni sulla loro identità, agli alimenti funzionali si richiede di espletare un effetto benefico sulla salute umana, mantenere uno stato di benessere od essere in grado di prevenire l'insorgenza di determinate patologie. La valutazione della potenzialità salutistica e/o della prevenzione di una determinata patologia rappresenta certamente la fase più delicata e critica nella valorizzazione o nello sviluppo di questi prodotti. La fase iniziale della ricerca richiede, oltre ad una sufficiente conoscenza della composizione chimica dell'alimento, soprattutto l'identificazione di una interazione tra uno o più componenti dell'alimento stesso con una determinata funzione dell'organismo umano. Non sempre risulta possibile riuscire a dimostrare con rigore scientifico questa interazione e quindi il ruolo benefico che l'alimento può esercitare sull'organismo. Nel caso in cui l'alimento rivendichi la capacità di potenziare una determinata funzione dell'organismo, ad es. aumentarne le difese nei confronti di un'eccessiva produzione di radicali liberi (stress ossidativo), occorrerà stabilire una correlazione tra l'assunzione dell'alimento e la variazione di uno o più *biomarkers* che siano collegabili alla funzione da potenziare (ad es. per lo stress ossidativo si potranno utilizzare parametri come la capacità antiossidante totale del plasma TAS, la determinazione delle concentrazioni plasmatiche dei gruppi tiolici, etc.). Ovviamente sarebbe più opportuno procedere, dopo l'assunzione dell'alimento, anche alla determinazione nel plasma delle sue sostanze attive e ciò allo scopo di valutare la biodisponibilità dell'alimento funzionale.

La biodisponibilità di un alimento, cioè la sua capacità di trasferire nel plasma i suoi componenti attivi, è sicuramente un buon parametro per valutare il potenziale salutistico di un alimento funzionale ma spesso non è possibile procedere alla determinazione di tale parametro per problemi connessi alla sensibilità delle metodiche analitiche utilizzate. In letteratura diversi lavori evidenziano l'importanza sia della matrice alimentare che del processo produttivo sulla biodisponibilità dei componenti attivi degli alimenti funzionali. Peraltro la forte influenza della matrice alimentare sull'assorbimento gastrointestinale delle sostanze attive, e quindi sulla loro biodisponibilità, non consente di poter utilizzare i numerosissimi dati presenti in letteratura e relativi alle attività biologiche determinate in vitro per i singoli componenti di un alimento

funzionale. Infatti, pur risultando attivi in vitro, potrebbero non esercitare alcuna azione benefica quando somministrati in vivo a causa di una loro potenziale scarsa biodisponibilità.

Nel caso in cui il “claim” dell’alimento funzionale riguarda la capacità di prevenire una determinata patologia, come ad es. l’effetto preventivo dei biofenoli del vino rosso nei confronti delle malattie cardiovascolari, la potenzialità salutistica può essere evidenziata o mediante studi epidemiologici (lunga durata ed elevato costo) o dimostrando l’inibizione di un processo biologico che si ritiene possa contribuire all’insorgenza della patologia, come ad es. l’inibizione dell’ossidazione delle LDL per dimostrare l’effetto protettivo nei confronti di disturbi cardiovascolari. Differente risulta il caso di prodotti, di derivazione alimentare, che risultano in grado di potenziare le difese dell’organismo nei confronti di una determinata patologia al punto tale che gli effetti positivi della loro supplementazione possano essere facilmente ed immediatamente riscontrabili dai soggetti che li assumono. Ad esempio è stato introdotto nelle farmacie un integratore alimentare contenente un estratto di una varietà di capperi di Pantelleria (*Capparis Spinosa*) che, unitamente ad altri estratti di matrice alimentare, risulta in grado di potenziare l’organismo al punto da contrastare in modo evidente gli effetti deleteri provocati dagli allergeni in soggetti allergici. In questo caso l’efficacia del prodotto può essere evidenziata dagli stessi soggetti allergici che, assumendo il prodotto, sono in grado di valutare con immediatezza i benefici della supplementazione nei confronti della sintomatologia scatenata dall’esposizione agli allergeni.

Alla luce di quanto sopra esposto, appare evidente che lo sviluppo degli alimenti funzionali dipenderà notevolmente dalla letteratura scientifica che occorrerà produrre per dare più spessore scientifico ed autorevolezza a questi prodotti che potranno svolgere un importante ruolo nella gestione della salute e del benessere dell’uomo.

### **3.5. Il documento europeo di consenso sui “functional foods” della Comunità Europea**

“Cibi funzionali e attività conosciute”:

- L’alimento funzionale deve mostrare benefici effetti su una o più funzioni dell’organismo
- Mediante le proprietà nutrizionali l’alimento funzionale deve promuovere uno stato di salute e di benessere.
- Gli alimenti funzionali non sono pillole o capsule ma parte di un normale modo di alimentazione
- Un alimento funzionale può essere un cibo “naturale”, oppure un alimento al quale, mediante trattamento tecnologico, è stato aggiunto o tolto un componente; può inoltre essere un alimento in cui uno o più componenti sono stati modificati.

- Un alimento funzionale deve essere tale per tutta la popolazione o per gruppi particolari di popolazione
- L'informazione sugli alimenti funzionali deve essere chiara nei messaggi
- Gli alimenti funzionali vanno consumati nel contesto della abituale alimentazione giornaliera

I "prebiotici", invece, sono sostanze presenti naturalmente negli alimenti che non vengono digerite durante il transito nel canale gastro-intestinale e che, giunte integre nel colon stimolano, con effetti favorevoli sulla salute, lo sviluppo di ceppi utili come i Bifidobatteri e i Probiotici.

I "simbiotici" sono alimenti funzionali che contengono sia i batteri utili che le sostanze che ne favoriscono lo sviluppo. Fra i cibi funzionali ci sono anche uova e latte arricchiti con Omega-3, sostanze non considerate come nutrienti come il licopene e la luteina, (presenti nel pomodoro e indicati per combattere i radicali liberi), i flavonoidi (presenti nella frutta e negli ortaggi, indicati come antiossidanti), i fitoestrogeni (presenti nella soia indicati per attenuare i disturbi della menopausa).

Gli "alimenti arricchiti" sono cibi in cui viene incrementata la concentrazione di un nutriente già presente nell'alimento naturale. Esempio: i fiocchi di cereali normalmente già contengono vitamine e minerali ma possono essere arricchiti ulteriormente perché il processo di raffinazione li impoverisce di questi nutrienti. L'arricchimento, in altre parole, tende a restituire quelle proprietà che possono perdersi nel corso del trattamento industriale.

Gli "Alimenti fortificati" sono cibi destinati a compensare una carenza alimentare diffusa nella popolazione. Il sale da cucina può essere fortificato con lo Iodio dato che questo minerale è essenziale per le funzioni della tiroide. L'interesse dei consumatori rispetto al rapporto tra alimentazione e salute (i rapidi progressi scientifici e tecnologici, i costi della sanità in aumento, le modifiche alle leggi sugli alimenti che riguardano etichette e claim sui prodotti, l'invecchiamento della popolazione) ha aumentato la richiesta di informazioni sugli alimenti funzionali.

<b>Alimento funzionale</b>	<b>Componente chiave</b>	<b>Potenziale beneficio sanitario</b>
Broccoli	Sulforafano	Riduzione rischio tumore
Pomodoro ed anguria	Licopene	Riduzione rischio tumore
Cipolla rossa di Tropea	Quercitina e selenio	Riduzione rischio tumore e vascolare
Aglione	Derivati solforati	Riduzione rischio tumore e cardio-vascolare
Vino e succo di uva nera	Resveratrolo e composti polifenolici	Riduzione rischio tumore e cardio-vascolare
Melone	SOD –antiossidante	Immunomodulante ed antinvecchiamento
Papaia	Antiossidanti – Licopene enzimi	Immunomodulante ed antinvecchiamento riduzione rischio Parkinsons
Melagrana e noce	Acido ellagico	Immunomodulante ed antinvecchiamento
Carota e zucca	Betacarotenoidi	Problemi di pelle e riduzione rischio tumore della prostata
Frutta e vegetali diversi	Phytochemicals	Riduzione rischio tumore e cardio-vascolare
Orzo ed Avena	Betaglucano , fibre solubili	Riduzione livelli di colesterolo
Agrumi	Bioflavonoidi –vitamina C	Riduzione problemi di vene, vasi e circolatori
Soja e proteine della soja	Isoflavoni	Riduzione dei livelli di colesterolo, riduzione rischi tumore , rischio osteoporosi e dei problemi della pelle
Pesce azzurro	Acidi grassi omega-3	Riduzione del rischio tumore e malattie cardiovascolari
Cappero (capparis spinosa)	Capparidina	Riduzione rischio allergie
Pompelmo	Naringina	Riduzione assorbimento zuccheri
Fico d'india, cladodi, nopal	Fibre ad elevato assorbimento	Riduzione assorbimento zuccheri e grassi
Mela , Tè verde, Cacao	Polifenoli	Antinvecchiamento- rischio tumore
Spinacio	Q10-ubidecarenone	Enzima respiratorio cellulare ubiquitario, anti-infarto,problemi di pelle
Origano	Flavonoidi, fitosteroli, oli essenziali	Antiossidante lipoperossidasi
Rosmarino	Flavonoidi, triterpeni, oli essenziali	Antiossidante lipoperossidasi

### BIBLIOGRAFIA CAPITOLO 3

1. Functional Food Science in Europe. (1998). *British Journal of Nutrition*, 80(1):S1-S193.
2. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document. (1999). *British Journal of Nutrition*, 81(1):S1-S27.
3. European Commission Community Research (2000) Project Report: Functional food science in Europe, Volume 1; Functional food science in Europe, Volume 2; Scientific concepts of functional foods in Europe, Volume 3. EUR-18591, Office for Official Publications of the European Communities, L-2985, Luxembourg.
4. ILSI Europe Concise Monograph: Concepts of Functional Foods. August 2002.
5. Ashwell, M. (2001). Functional foods: a simple scheme for establishing the scientific basis for all claims. *Public Health Nutrition*, 4:859-863.
6. Committee of experts on Nutrition Food Safety and Consumer's Health (1999). Ad hoc Group on Functional Food, Council of Europe.
7. Riechart RD (2002) Oilseed medicinals in natural drugs and dietary supplements - new functional foods. *Trends in Food Science and Technology*. Vol.13 issue 11 -p 353-60
8. De Deckere EAM & Verschuren PM (2000) Functional fats and spreads. In *Functional Foods* edited by Gibson GR & Williams CM CRC press Cambridge
9. Law M (2000) Plant sterol and stanol margarines and health. *British Medical Journal* 320:861-4
10. Ostlund RE Jr, Racette SB & Stenson WF (2002) Effects of trace components of dietary fat on cholesterol metabolism: phytosterols, oxysterols and squalene. *Nutrition Reviews* 60: 349-59
11. Gatti PM "Functional food : i prebiotici ed i probiotici" *Cenesthesis* 1-anno VI febbraio 2000
12. Pinto A., Cannella C, "Alimenti funzionali: alimentazione tradizionale e nuove tecnologie di produzione", *La Medicina estetica*, Anno 22, numero 3, luglio/settembre 1998.
13. "Functionale food Science in Europe" *British Journal of Nutrition*, Vol 80 Supplement 1, August 1998
14. Porrini M. "Come funzionano i functional food ? " *Cenesthesis* 3 anno VIII ottobre 2001
15. Erickson KL, Hubbard NE: probiotic immunomodulation in healt and isease. *Journal of nutrition*.130 (2 suppl S): 403S, 2000 Feb.
16. Gibson RA, Makrtides M: N-£ polynsaturated fatty acid requirements of term infants. *Am. J. Clin.Nutr.* 71 (1 suppl S): 251S-255S, 2000 Jan
17. International Food Information Council (IFIC) Foundation - 1100 Connecticut Avenue, NW - Suite 430 - Washington, DC 20036.

18. Ashwell, M. (2001). "Functional foods: a simple scheme for establishing the scientific basis for all claims." *Public Health Nutrition* 4, 859-862.
19. Diplock, A., Aggett, P., Ashwell, M. et al. (1999). "Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document." *British Journal of Nutrition* 81(No 4): S1-S27.
20. EU Commission DG SANCO (2002). "Draft proposal for regulation of the European Parliament and of the Council on nutrition, functional and health claims made on foods." Working document 1832/2002.
21. Cappelli P., Vannucchi V. *Chimica degli alimenti. Conservazione e trasformazione.* Zanichelli , Bologna. 1990.
22. Cerdeira M., Martini S. and Herrera M. (2005). Microencapsulating properties of trehalose and of its blends with sucrose and lactose. *Food Engineering and Physical Properties.* 70(6), E401-E408.
23. Charalampopoulos D., Wang R., Pandiella S. S. and Webb C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International Journal of Food Microbiology.* 79, 131-141.
24. Clydesdale F., Ph.D. (2004). *Functional Foods : Opportunities & Challenges.* *Food Technology.* 58(12), 35-40.
25. De Vuyst, L. (2000). Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology.* 38(2), 105-112.
26. Engel R. and Schubert H. (2005). Formulation of phytosterols in emulsion for increase dose response in functional foods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 6, 233-237.
27. Fernandez-Ginés J.M., J. Fàndez-Lopez, Sayas-Barberà E. and Perez-Alvarez J.A. (2005). Meat Products as Functional Foods: A Review. *Journal of Food Science.* 70 (2), R37-R43.
28. Fito P., Chiralt A., Betoret N., Gras M., Chàfer M., Martinez-Monzò J., Andrés A. and Vidal D. (2001). Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering.* 49, 175-183.
29. Gras M. L., Vidal D., Betoret N., Chiralt A. and Fito P. (2003). Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation. Interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering.* 56, 279-284.
30. Hasler Clare M., Ph.D. (2000). The changing face of Functional Foods. *Journal of the American College of Nutrition.* 19 (5), 499S-506S.
31. ILSI Europe. (1999). Scientific concepts of Functional Foods in Europe- Consensus Document. *British Journal of Nutrition.* 81, S1-S27.
32. Jiménez Colmenero F. (1996). Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science & Technology.* 7, 41-48.
33. Jiménez Colmenero F., Carballo J. and Cofrades S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science.* 59, 5-13.
34. Krasaekoopt W., Bhandari B. and Deeth H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal.* 13, 3-13.

35. Kwak N.-S. and Jukes D.J. (2001). Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. *Food Control*. 12, 99-107.
36. Kwak N.-S. and Jukes D.J. (2001). Functional foods. Part 2: the impact on current regulatory terminology. *Food Control*. 12, 109-117.
37. Maragkoudakis P. A., Miaris C., Rojez P., Manalis N., Magkanari F., Kalantzopoulos G. and Tsakalidou E. (2006). Production of traditional Greek yoghurt using *Lactobacillus* strains with probiotic potential as starter adjuncts. 16, 52-60.
38. Moreau R. A., Whitaker B. D. and Hicks K. B. (2002). Phytosterols, phytostanols, and their conjugates in foods: structural diversity, quantitative analysis, and health-promoting uses. *Progress in Lipid Research*. 41, 457-500.
39. Newton I. and Snyder D. (1997). Nutritional aspects of long-chain omega-3 fatty acids and their use in bread enrichment. *Cereal Foods World*. 42(3), 126-131.
40. Ohr L.M. (2002). Circulating hearth-smart news. *Food Technology*. 56(6), 109-115.
41. Piironen V. and Toivo J. and Lampi A. M. (2000). Natural sources of dietary plant sterols. *Journal of Food Composition and Analysis*. 13, 619-624.
42. Quilez J., Garcia-Lorda P. and Salas-Salvadò J. (2003). Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions. *Clinical Nutrition*. 22(4), 343-351.
43. Riaz M. N. (1999). Soybeans as functional foods. *Cereal Foods World*. 44(2), 88-92.
44. Thompson G. R. and Grundy S. M. (2005). History and development of plant sterol and stanol esters for cholesterol-lowering purposes. *The American Journal of Cardiology*. 96(1A), 3D-9D.
45. Wang J., Rosell C. M. and de Barber C. B. (2002). Effect of the addition of different fibres on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*. 79, 221-226.
46. Ziemer C. J. and Gibson G. R. (1998). An overview of Probiotics, Prebiotics and Synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. *International Dairy Journal*. 8, 473-479.

SITI INTERNET:

Concepts of Functional Foods, ILSI Europe Concise Monograph Series, 2002

<http://europe.ilsa.org/passclaim>

International Food Information Council Foundation - <http://www.ific.org>

<http://bakingmanagement.bakery-net.com/articles>

<http://italia.danone-institute.com/downloads/Bottazzi-vol-compl.pdf>

<http://www.agro.nl/nrlo/>

[http://www.eufic.org/it/quickfacts/functional\\_foods.htm](http://www.eufic.org/it/quickfacts/functional_foods.htm)

<http://www.heartfoundation.com>

<http://www.inran.it>

<http://www.aiab.it>



# CAPITOLO 4

## DISEGNO SPERIMENTALE

### 4.1. Introduzione

Durante il normale ciclo vitale cellulare si generano radicali liberi, quelle specie chimiche capaci di una esistenza indipendente, in cui un elettrone non appaiato occupa un orbitale atomico o molecolare esterno, e si trova quindi ad un livello energetico elevato che può risultare di elevata reattività ed instabilità. La formazione dei radicali liberi avviene non solo nei più importanti processi fisiologici come la respirazione cellulare, in cui si verificano reazioni di trasferimento elettronico, e l'invecchiamento, ma anche in numerosi processi patologici quali i danni causati da radiazioni ionizzanti ed eccitanti, la perossidazione dei lipidi insaturi di membrana, il processo infiammatorio, la trasformazione neoplastica, l'insorgenza dell'ateroma, le lesioni da ischemia e le ripercussioni. In tutte le cellule che utilizzano come vie metaboliche quelle aerobiche, le specie reattive principalmente prodotte sono quelle dell'ossigeno, principali responsabili delle reazioni radicaliche cellulari in fisiopatologia.

I radicali liberi rimangono nei limiti fisiologici finché non si innesca uno "stress ossidativo" dovuto allo sbilanciamento tra il pool di sostanze ossidanti e le difese antiossidanti, ovvero quando le sostanze ossidanti prevalgono e/o le sostanze antiossidanti si riducono.

I sistemi antiossidanti deputati alla detossificazione dai radicali liberi sono essenzialmente di due tipi: enzimatici e non enzimatici. I sistemi enzimatici includono la superossido dismutasi (SOD), la catalasi (CAT) e la glutatione perossidasi (GSH-Px). Fra i sistemi non enzimatici, sostanze antiossidanti, le molecole più importanti sono il glutatione, l'alpha-tocoferolo (vitamina E), l'acido ascorbico (vitamina C) ed il beta-carotene. L'alterazione dell'attività o la carenza di uno di questi, senza variazioni compensatorie degli altri, può rendere le membrane cellulari vulnerabili al danno da radicali liberi. Il danno indotto esita nella perossidazione delle membrane lipidiche, che ne rende instabili la struttura, la fluidità, la permeabilità ed altera la trasduzione del segnale, determinando alterazioni recettoriali e del DNA mitocondriale e nucleare. Gli acidi grassi polinsaturi, che sono i maggiori costituenti dei fosfolipidi di membrana, sono altamente suscettibili all'insulto dei radicali liberi ed all'autossidazione tanto da formare perossiradicali e composti intermedi. L'esistenza di perossiradicali all'interno delle membrane cellulari determina una instabilità di membrana, alterandone la fluidità e la permeabilità ed interferendo sui meccanismi di trasduzione del segnale. Gli idroperossidi possono ulteriormente decomporsi in altre specie tossiche (aldeidi, compresa la malondialdeide) che possono danneggiare le cellule adiacenti, gli enzimi ed i

recettori legati alle membrane, causare cross-linking tra i vari tipi di molecole e determinare rotture di membrana, citotossicità, mutagenicità e cambiamenti enzimatici. Mentre i radicali perossilici non hanno una notevole mobilità, alcuni dei prodotti secondari, come la malondialdeide (MDA), diffondono dal sito di produzione e possono estendere il danno ossidativo. La malondialdeide è in grado infatti di reagire con i gruppi funzionali di diverse biomolecole, come i gruppi amminici e sulfidrilici, alterandone la struttura, e di formare addotti con le basi azotate degli acidi nucleici, con proteine e fosfolipidi, esplicando un potere mutageno/cancerogeno.

Gli studi scientifici degli ultimi anni, partendo dal presupposto che il mantenimento di adeguati livelli ematici di antiossidanti sia alla base della prevenzione dagli effetti nocivi dei radicali liberi, hanno messo in evidenza l'importanza della biodisponibilità da fonti naturali. Partendo quindi dal presupposto che il cibo è da considerarsi il primo farmaco solo nel caso che sia in grado di apportare tutti i macronutrienti ed i micronutrienti dei quali l'organismo ha bisogno per gli scopi essenziali alla vita, è oggi sempre più frequente il riscontro di carenze di tali elementi dovute a una varietà di cause, sia legate ad una alimentazione non equilibrata, sia agli stimoli nocivi da parte dell'ambiente e ai processi industriali che manipolando gli alimenti e che possono ridurre la presenza degli elementi essenziali. Il mantenimento dell'omeostasi degli antiossidanti ematici è fondamentale per il ruolo che queste sostanze chemio-protettive svolgono nei meccanismi cellulari deputati a controllare lo stress ossidativo visto il coinvolgimento dei radicali liberi nella eziopatogenesi di molte malattie, da quelle infiammatorie croniche a quelle degenerative, compresa la patologia neoplastica.

Questa attenzione sulla biodisponibilità da fonti naturali ci ha portato ad intraprendere gli studi in oggetto su soggetti volontari, con stile e abitudini di vita omogenei ed in un contesto alimentare equilibrato, alimentati con alimenti di origine biologica, sfruttando in tal modo le potenzialità intrinseche dell'alimento "bio", confrontandole con quelle dell'alimento di origine convenzionale. L'importanza di tale studio, è sia quello di considerare gli effetti nutrizionali su una popolazione sana e la possibilità, utilizzando tali informazioni, di estendere le indagini a pazienti affetti da patologie su base infiammatoria o che riconoscono nell'infiammazione cronica una possibile componente eziopatogenetica, entrando quindi nell'ottica della nutrizione. Ogni antiossidante è in grado di espletare la sua attività secondo meccanismi diversi e con una diversa efficienza a seconda della sua struttura chimica e dell'ambiente in cui si trova. Per questo motivo una valutazione integrata del potenziale antiossidante può essere persino più importante della concentrazione dei singoli antiossidanti. Da qui l'esigenza di valutare la Capacità Antiossidante Totale di un alimento (TAC); cioè la capacità di un alimento di preservare un substrato ossidabile, inattivare una specie radicalica o ridurre un ossidante nell'unità di tempo.

Abbiamo studiato l'efficacia dell'alimentazione biologica, su soggetti sani e su soggetti nefropatici tramite l'acquisizione dei più comuni parametri biochimico clinici, lo studio della composizione corporea, la determinazione della *Total Antioxidant Capacity* (TAC) degli alimenti e

della TAC ematica. In aggiunta a tali determinazioni abbiamo svolto indagini di biochimica miranti alla valutazione dello stato redox ed energetico e della malondialdeide (MDA) quale indice della lipoperossidazione.

#### **4.2. Razionale dello studio**

Lo studio ha avuto per oggetto il confronto fra alimenti prodotti con metodi di agricoltura biologica e tradizionale, ed il loro effetto sui parametri metabolici, con particolare attenzione alla capacità totale antiossidante plasmatica, alla valutazione dello stato energetico e della MDA, dei soggetti partecipanti allo studio. A tale scopo è stata inoltre effettuata l'analisi ORAC degli alimenti, provenienti da agricoltura convenzionale e biologica, consumati dai soggetti volontari partecipanti allo studio in oggetto.

Lo studio è stato suddiviso in 2 parti: studio A e studio B.

Lo studio A è stato eseguito su 9 soggetti di sesso maschile di età compresa tra i 30 e i 70 anni, clinicamente sani, non fumatori, non sottoposti ad alcuna terapia farmacologica con le stesse abitudini alimentari e stile di vita (l'omogeneità di abitudini alimentari e di stile di vita sono state garantite dal fatto che i soggetti di studio sono stati arruolati all'interno di una stessa comunità, provvista di un servizio mensa). I soggetti selezionati hanno consumato per 14 giorni prodotti provenienti da agricoltura convenzionale, e per i successivi 14 giorni prodotti provenienti da agricoltura biologica. I soggetti inclusi nello studio hanno sottoscritto il consenso informato per tutte le fasi di studio.

Lo studio è stato così suddiviso:

- Tempo iniziale  $T_0$ :
  1. Visita medica comprendente anamnesi patologica individuale e familiare, esame obiettivo e compilazione della cartella clinica
  2. Misurazione della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca
  3. Antropometria (peso, statura, circonferenze, pliche)
  4. Misura del dispendio energetico
  5. Bioimpedenza
  6. Composizione corporea

7. Analisi biochimiche cliniche: emocromo, omocisteina, glicemia basale, insulina basale, Folati, Vitamina B12, trigliceridi, colesterolo totale, lipoproteine ad alta densità (HDL), lipoproteine a bassa densità (LDL), Tireoproteina (TSH), Triiodotironina libera (FT3), Tiroxina libera (FT4)
  8. Determinazione della capacità antiossidante ematica (metodica ORAC)
  9. Prescrizione di un regime alimentare nutrizionalmente adeguato, utilizzando alimenti prodotti con tecniche di agricoltura convenzionale, per un periodo di 14 giorni. La razione alimentare del campione prescelto è stata suddivisa in cinque pasti
- Tempo T<sub>1</sub>, dopo 14 giorni di alimentazione “convenzionale”:
    1. Analisi biochimiche cliniche: emocromo, omocisteina, glicemia basale, insulina basale, Folati, Vitamina B12, trigliceridi, colesterolo totale, lipoproteine ad alta densità (HDL), lipoproteine a bassa densità (LDL), Tireoproteina (TSH), Triiodotironina libera (FT3), Tiroxina libera (FT4)
    2. Analisi immunologiche: determinazione delle citochine infiammatorie plasmatiche
    3. Determinazione della capacità antiossidante ematica (metodica ORAC)
  - Tempo T<sub>2</sub>, dopo 14 giorni di alimentazione “biologica”:
    1. Analisi biochimiche cliniche: emocromo, omocisteina, glicemia basale, insulina basale, Folati, Vitamina B12, trigliceridi, colesterolo totale, lipoproteine ad alta densità (HDL), lipoproteine a bassa densità (LDL), Tireoproteina (TSH), Triiodotironina libera (FT3), Tiroxina libera (FT4).
    2. Determinazione della capacità antiossidante ematica (metodica ORAC)

Lo studio B è stato eseguito su 17 soggetti, affetti da insufficienza renale cronica (IRC), di età compresa tra i 30 e 70 anni, al fine di valutare gli effetti della “dieta biologica” sui parametri metabolici. In base ai criteri di inclusione ( creatininemia tra 1,5 e 2,5; iperomocisteina; non fumatori; privi di diabete o patologie dismetaboliche; regime dietetico), il numero effettivo dei soggetti analizzati è stato di 7.

Lo studio è stato suddiviso in tre tempi:

Al tempo 0:

- Visita medica comprendente anamnesi patologica individuale e familiare, esame obiettivo e compilazione della cartella clinica. Misurazione della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca.
- Antropometria (peso, statura, circonferenze, pliche)
- Misura del dispendio energetico
- Bioimpedenza
- Composizione corporea
- Analisi biochimiche cliniche: emocromo, omocisteina, glicemia basale, insulina basale, Folati, Vitamina B12, trigliceridi, colesterolo totale, lipoproteine ad alta densità (HDL), lipoproteine a bassa densità (LDL), Tireoproteina (TSH), Triiodotironina libera (FT3), Tiroxina libera (FT4)
- Prescrizione di un regime alimentare nutrizionalmente adeguato, utilizzando alimenti prodotti con tecniche di agricoltura convenzionale, per un periodo di 14 giorni. La razione alimentare del campione prescelto è stata suddivisa in cinque pasti

Al Tempo T<sub>1</sub>, dopo 14 giorni di alimentazione “convenzionale”:

- Analisi biochimiche cliniche: emocromo, omocisteina, glicemia basale, insulina basale, Folati, Vitamina B12, trigliceridi, colesterolo totale, lipoproteine ad alta densità (HDL), lipoproteine a bassa densità (LDL), Tireoproteina (TSH), Triiodotironina libera (FT3), Tiroxina libera (FT4)
- Determinazione della capacità antiossidante ematica (metodica ORAC)
- Valutazione (HPLC) dello stato redox ed energetico cellulare e della malondialdeide (MDA) quale indice della lipoperossidazione
- Prescrizione di un regime alimentare esclusivamente “biologico”, con le stesse ricette utilizzate nelle settimane di “convenzionale”, uguali per tutti i soggetti in esame: durata 14 giorni.

Al Tempo T<sub>2</sub>, dopo 14 giorni di alimentazione “biologica”:

- Analisi biochimiche cliniche: emocromo, omocisteina, glicemia basale, insulina basale, Folati, Vitamina B12, trigliceridi, colesterolo totale,

lipoproteine ad alta densità (HDL), lipoproteine a bassa densità (LDL), Tireoproteina (TSH), Triiodotironina libera (FT3), Tiroxina libera (FT4)

- Determinazione della capacità antiossidante ematica (metodica ORAC)
- Valutazione dello stato redox ed energetico cellulare e della malondialdeide (MDA) quale indice della lipoperossidazione (HPLC).

### **4.3. Materiali e Metodi**

#### *4.3.1. Dispendio energetico e tecniche di misura*

L'organismo umano si trova in uno scambio di calore continuo con l'ambiente che lo circonda. L'energia è fornita all'organismo, sotto forma di legami chimici, attraverso gli alimenti. Gli alimenti forniscono all'organismo l'energia necessaria per compensare la spesa energetica, mediante la combustione dei carboidrati (1 g di carboidrati fornisce 4 kcal), dei lipidi (1 g = 9 kcal), delle proteine (1 g = 4 kcal) e dell'alcol (1 g = 7 kcal). Per mantenere l'omeostasi metabolico-energetica in una persona sana (bilancio energetico stabile), le calorie assunte con gli alimenti (calorie esogene) devono essere bilanciate dalla quantità totale di energia spesa: in caso contrario, il peso corporeo subirà una variazione. L'obiettivo di un attento programma nutrizionale deve essere quello di bilanciare il livello di stress metabolico di un soggetto, di prevenire la perdita di proteine viscerali e tissutali (massa magra) e di evitare una iper o ipo-nutrizione.

Il dispendio (o spesa) energetico totale giornaliero (TDEE, Total Daily Energy Expenditure) può essere suddiviso in tre componenti principali.

1. Il metabolismo di base (BMR, Basal Metabolic Rate, o RMR);
2. La termogenesi dieto-indotta (DIT, Diet-Induced Thermogenesis);
3. La termogenesi indotta dall'attività fisica (WIT, Work-Induced Thermogenesis).

Il BMR rappresenta, per definizione, il minimo dispendio energetico misurabile mentre il soggetto è in stato di veglia. Questa misurazione viene effettuata in condizioni altamente standardizzate ed è definita come la spesa energetica di un individuo a completo riposo fisico e psico-sensoriale mentre è disteso su un lettino, sveglia da poco tempo (circa mezz'ora), in stato termoneutrale (22-26 °C), 12-14 ore dopo l'assunzione dell'ultimo pasto. Il soggetto, inoltre, deve aver goduto di un sonno definito "riposante" e non deve essere portatore di alcun genere di

patologia. Il termine basale suggerisce il concetto che l'energia spesa da un individuo in queste condizioni dovrebbe corrispondere al suo minimo dispendio energetico. In realtà, durante il sonno (fase non-REM) la spesa energetica (SMR, Sleeping Metabolic Rate) può essere inferiore al BMR di circa il 5-10%.

La DIT viene definita come l'aumento della spesa energetica basale in risposta all'assunzione di un pasto. In un individuo medio, che abbia un'alimentazione normale, la termogenesi dieto-indotta rende conto di circa il 10% del dispendio energetico totale giornaliero.

La WIT è la spesa energetica necessaria per compiere qualunque tipo di attività fisica. La sua entità è determinata dal tipo, dalla durata e dall'intensità del lavoro eseguito. L'attività fisica può provocare un notevole aumento del dispendio energetico. Per un individuo che conduce un tipo di vita sedentaria, la termogenesi indotta dall'attività fisica è responsabile del 20-30% del dispendio energetico totale giornaliero, ma può essere inferiore nel soggetto ospedalizzato (10-15%), o al contrario, raggiungere il 50% ed oltre (per esempio in un atleta) del dispendio energetico totale giornaliero.

CALORIMETRIA INDIRETTA - Nel presente studio è stata utilizzata la metodica della calorimetria indiretta per la valutazione del metabolismo basale di tutti i soggetti analizzati. Il metodo ha previsto l'utilizzo di una canopia che circonda la testa del soggetto: l'aria espirata viene diluita all'interno della canopia ed aspirata da una pompa mediante un flusso di aria costante. La calorimetria indiretta (CI) permette di valutare il dispendio energetico calcolando, tramite la misura del consumo d'ossigeno ( $VO_2$ , ml/min) e della produzione di anidride carbonica ( $VCO_2$ , ml/min), il calore (o energia) prodotto dall'organismo nell'unità di tempo. Se assumiamo che tutto l'ossigeno consumato venga utilizzato dall'organismo per ossidare i substrati energetici e che tutta l'anidride carbonica prodotta sia eliminata a livello polmonare, è allora possibile calcolare l'EE dell'individuo. La produzione di energia viene, quindi, calcolata misurando lo scambio dei gas respiratori ( $VO_2$  e  $VCO_2$ ) associati con l'ossidazione dei quattro principali macronutrienti: carboidrati (QR 1.000), lipidi (QR 0.710), proteine (QR 0.835), ed alcol (QR 0.667). Dal  $VO_2$  è possibile poi risalire all'EE, conoscendo l'equivalente calorico per un litro di ossigeno.

#### 4.3.2. *I metodi antropometrici per la misura della composizione corporea*

I metodi antropometrici si basano su semplici misurazioni come il peso, l'altezza, alcune circonferenze, diametri e pliche che i vari ricercatori hanno verificato come utili alla valutazione della composizione corporea delle popolazioni misurate.

Il peso - Il peso è la variabile antropometrica più comunemente rilevata e l'accuratezza della sua misurazione è in generale buona. Per la misurazione il soggetto in studio ha indossato soltanto

capi di abbigliamento intimo, senza scarpe; i piedi sono stati posizionati al centro della piattaforma ed il peso si è ugualmente distribuito su di essi. Il peso è stato registrato ai più vicini 100 g.

La statura - La statura è stata misurata con la stadiometro fisso, uno strumento costituito da una tavola verticale incorporante un metro ed una orizzontale da portare a contatto con il punto più alto del capo. Al momento della misurazione il soggetto era scalzo, i piedi poggiavano su di una superficie piana sistemata ad angolo retto rispetto alla tavola verticale dello stadiometro ed il peso era ugualmente distribuito su di essi. La testa si trovava nel piano orizzontale di Francoforte<sup>1</sup>; le braccia pendevano liberamente ai lati del tronco con il palmo delle mani rivolto verso le cosce; i calcagni, uniti, poggiavano contro il basamento della tavola verticale ed i margini dei piedi formano un angolo di circa 60°. La misura è stata approssimata al più vicino 0.1 cm.

Circonferenza della vita - Le misure sono state prese con un metro anaelastico a livello della vita, la parte più stretta dell'addome. Il soggetto era in posizione eretta, l'addome era rilassato, le braccia pendevano ai lati del corpo e i piedi erano uniti. La misura è stata approssimata al più vicino 0.1 cm. L'errore tecnico di misurazione intra ed inter-operatore è stato rispettivamente di 1.31 e 1.56 cm.

Circonferenza dei fianchi - Le misure sono state prese con un metro anaelastico in modo da rilevare la circonferenza massima dei glutei, avendo cura di non comprimere la cute. Il soggetto era in posizione eretta, l'addome era rilassato, le braccia pendevano ai lati del corpo e i piedi erano uniti. La misura è stata approssimata al più vicino 0.1 cm.

Il rapporto vita/fianchi - A secondo della distribuzione del grasso corporeo, si possono distinguere tre tipi di obesità: Androide, Intermedia e Ginoide. La distribuzione adiposa può essere identificata con il Rapporto tra Circonferenza della Vita e la Circonferenza dei Fianchi (Waist/Hip Ratio, WHR). Per maggiore precisione, il rapporto vita/fianchi (RVF) assume dei range differenti a seconda che si applichi agli uomini o alle donne.

#### **Donne**

RVF > 0.85 obesità androide

RVF < 0.78 obesità ginoide

$0.79 \leq \text{RVF} \leq 0.84$  obesità intermedia

#### **Uomini**

RVF > 1.0 obesità androide

RVF < 0.94 obesità ginoide

$0.95 \leq \text{RVF} \leq 0.99$  obesità intermedia



L'Indice di Massa Corporea (BMI) - L'Indice di Massa Corporea (BMI = Body Mass Index) è stato calcolato dividendo il peso, espresso in chilogrammi, per il quadrato della statura espressa in metri, applicando la seguente formula:

$$\text{BMI} = \text{peso (kg)}/\text{statura (m)}^2$$

#### 4.3.3 Impedenziometria

L'impedenziometria (BIA, Bioelectrical Impedance Analysis) (Schoeller D. A.) misura la resistenza del corpo al passaggio di una corrente elettrica. La BIA è stata utilizzata allo scopo di misurare numerosi aspetti della composizione corporea, incluso l'acqua totale corporea (TBW, Total Body Water), l'acqua intracellulare (ICW, Intra Cellular Water), l'acqua extracellulare (ECW, Extra Cellular Water), la massa magra (FFM, Fat Free Mass), la massa cellulare metabolicamente attiva (BCM, Body Cell Mass) e il grasso corporeo (FM, Fat Mass). L'errore di misura della metodica impedenziometrica sulla percentuale di massa grassa corporea è risultato pari a circa il 10% del peso corporeo.

Per la BIA a tutto corpo effettuata con modalità distale, gli elettrodi sono stati così sistemati (Lukaski et al., 1985): i) iniettori: sulla superficie dorsale della mano e del piede ai metacarpi e metatarsi distali rispettivamente; ii) sensori: tra le prominenze distali del radio e dell'ulna e tra il malleolo mediale e laterale della caviglia.

Esempi di equazioni per il calcolo della TBW (donne obese di nazionalità italiana, De Lorenzo):

$$\text{TBW} = 0.69 [ \text{HC}^2 / (4\pi * \text{Z}_{100}) ] + 19.671$$

$$\text{TBW} = a (V/\text{Z}_1) + b [V(\text{Z}_1 * \text{Z}_{100})(\text{Z}_1 - \text{Z}_{100})] + c$$

*Dove: TBW è l'acqua totale corporea,*

*H è la statura del soggetto (cm),*

*C è la circonferenza fianchi (cm),*

*Z<sub>1</sub> è l'impedenza a 1 kHz,*

*Z<sub>100</sub> è l'impedenza a 100 kHz,*

*V è pari a  $\text{HC}^2/4\pi$ ,*

*SEE (Standard Error of Estimate) è l'errore standard.*

Anche la massa muscolare può essere misurata con l'impedenziometria utilizzando una equazione diretta:

$$\text{Massa muscolare} = 103.39 * \text{H}^2/\text{Z} * 2754.74 * \text{Sex} - 47.42 * \text{Età} + 4278.85 \quad (\text{A.De Lorenzo})$$

In questa formula H è la statura espressa in metri; la voce Sex è assunta pari a 1 per i maschi e pari a 0 per le femmine; l'età è espressa in anni; Z è il valore dell'impedenza corporea.

#### 4.3.4 DXA (*Dual energy X-ray Absorptiometry*)

La Dual energy X-ray Absorptiometry (DXA) è una tecnica relativamente nuova, inizialmente utilizzata per la determinazione della densità minerale ossea e successivamente impiegata anche nell'analisi dei tessuti molli, massa lipidica (FM) e massa alipidica (FFM). Nella misura della massa lipidica corporea, si ritiene che il 40-45% dei pixel2 contiene massa minerale ossea e che il restante (circa la metà del volume corporeo) è rappresentato dai tessuti molli.

Il sistema DXA consta di un piano di rilevazione in cui sono inseriti i sensori per il rilevamento dell'attenuazione; a tale piano viene applicato un carrello mobile che scorre longitudinalmente e che trasporta l'emettitore di energia che a sua volta può scorrere su binari in modo trasversale mediante un motore di precisione. L'attenuazione che un tessuto biologico oppone ad un fascio incidente di radiazioni è funzione dello spessore, della densità e della composizione chimica del tessuto stesso. La metodica DXA per lo studio della massa lipidica ed in generale dei tessuti molli si basa sul principio che tali tessuti determinano una attenuazione costante alla emissione di due definite radiazioni energetiche di 40 kV e 70 kV (raggi X). Il fenomeno dell'attenuazione si basa sull'effetto fotoelettrico e sull'effetto Compton. Per mezzo di un computer idoneo si determina il moto longitudinale e trasversale dell'emettitore, l'acquisizione dei dati di attenuazione rilevati e la successiva elaborazione dei dati per la stampa o la lettura dei risultati della composizione corporea. L'errore di tale metodica è stato valutato intorno al 3-4% per la massa lipidica corporea e dipende prevalentemente da stati di alterata idratazione e dallo spessore antero-posteriore corporeo (quest'ultimo se maggiore di 20 cm comporta un errore superiore a quello definito). La riproducibilità della misura dipende invece dalla risoluzione adottata (numero di punti scansionati per cm<sup>2</sup> di area corporea); tale riproducibilità risulterebbe ottimale per misurazioni che consentono l'analisi di 5-10 punti per cm<sup>2</sup>. La tecnica DXA risulta un metodo preciso ed accurato per la misura della massa lipidica corporea totale e distrettuale.

#### 4.3.5. *Rilevamento delle abitudini alimentari*

Per il rilevamento delle abitudini alimentari si può utilizzare la tecnica della storia dietetica, che permette la registrazione per ricordo degli alimenti assunti in precedenza mediante valutazione quantitativa. L'intervista viene eseguita da personale esperto ed i dati vengono registrati su un apposito formulario ove si indicano il consumo giornaliero, settimanale, o mensile degli alimenti. Il soggetto in esame riferisce sulla sua dieta abituale per un periodo di tempo che va da 6 mesi ad 1 anno. La valutazione quantitativa viene eseguita con l'ausilio di un atlante fotografico dove sono riportati fedelmente i più comuni alimenti e ricette consumati in Italia, presentati in 3 differenti porzioni, indicate con A, B e C. L'individuo intervistato, quindi, viene invitato ad indicare se le

---

porzioni degli alimenti e delle ricette consumate corrispondono alle 3 porzioni (A, B e C) riportate nell'atlante, o a porzioni intermedie, inferiori o superiori.

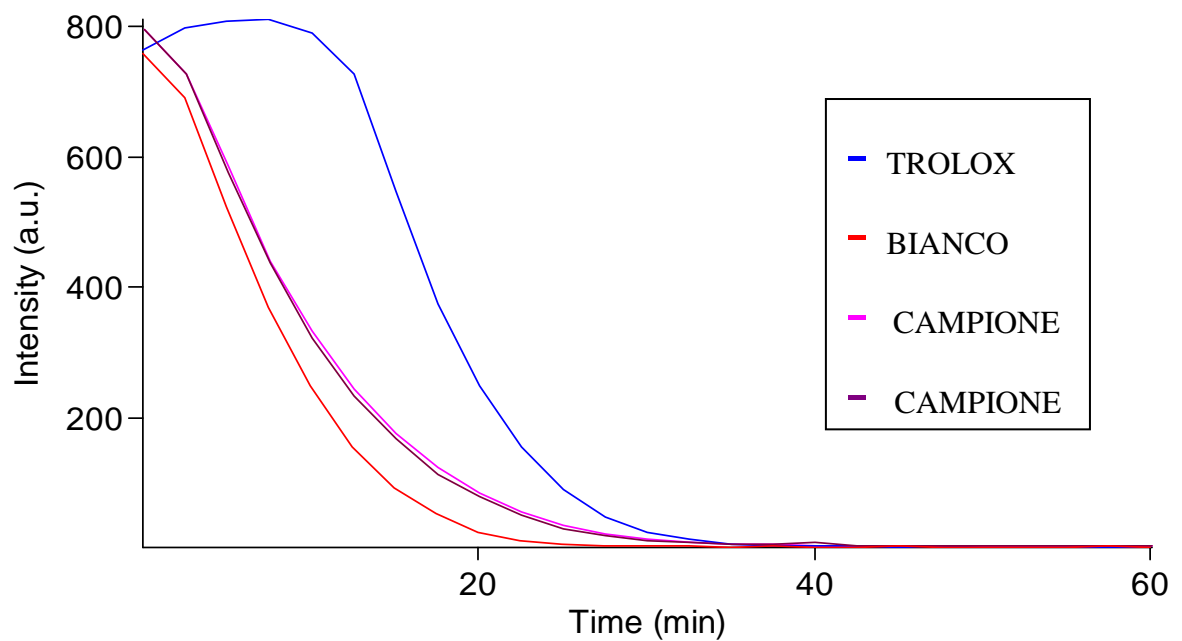
Grazie ad un programma elaborato recentemente (INDALI), è possibile in tempo reale, ottenere la quantità e le varie frequenze di consumo dei singoli alimenti e ricette. Per ogni ricetta, infatti, è possibile conoscere la quantità dei vari ingredienti, essendone stata valutata la composizione chimica. Il metodo, pur basandosi su una memoria remota e sulla valutazione individuale della quantità, offre il vantaggio di essere applicato su un gran numero di persone. Dall'elaborazione statistica successiva sarà possibile stilare tabelle dei consumi giornalieri e mensili dei nutrienti assunti e verificare l'adeguatezza delle assunzioni rispetto ai valori di riferimento per la popolazione italiana.

#### 4.3.6. *Dosaggio ORAC*

Preparazione dei campioni di siero - 20 µl di sangue venoso sono miscelati con 10 ml di tampone fosfato 75 mM in una falcon da 15 ml (diluizione 1:500), preventivamente posta in ghiaccio coperta con carta di alluminio. La miscela è centrifugata a 1300 rpm a 4°C. Il sovranatante è aliquotato in eppendorf da 1,5 ml e conservato a -80°C fino al momento dell'analisi. Il dosaggio ORAC è stato utilizzato per determinare la capacità totale antiossidante plasmatica.

Il dosaggio ORAC - La determinazione del campione è in doppio e necessita l'analisi contemporanea di un bianco, non contenente antiossidanti, e di uno standard (TROLOX), secondo i volumi e la sequenza riportati nella tabella 5.2 (le quantità sono in µl), in maniera tale da ottenere un intervallo di riferimento per il campione in esame. Si tratta di un metodo molto sensibile che utilizza la beta-ficoeritrina (beta-PE), come proteina indicatrice (marker di fluorescenza) e un'azocomposto solubile in acqua, il 2,2'-azobis(2-amidinopropano) dicloridrato (AAPH), che si decompone termicamente, formando a velocità costante radicali perossidici acquosi. I radicali perossidici sono in grado di strappare omoliticamente un radicale idrogeno dalla beta-PE, modificandone la struttura e provocando il decadimento di fluorescenza. La velocità di decadimento della fluorescenza della beta-PE in presenza di specie radicaliche dell'ossigeno (ROO°) è confrontata alla capacità antiossidante di uno standard di riferimento, il TROLOX (acido 6-idrossi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carbossilico) un analogo idrosolubile della vitamina E. Il dosaggio ORAC misura, dunque, il decremento tempo-dipendente nella fluorescenza della proteina marker beta-PE, in presenza di radicali perossidici come indice del danno ossidativo generato dalle specie reattive. La beta-PE reagisce con i radicali dell'ossigeno oltre 100 volte più lentamente della maggior parte degli antiossidanti biologici. Perciò, tutti gli altri antiossidanti attivi sono completamente ossidati prima che lo sia la beta-PE, facilitando così la misura della capacità antiossidante del campione in esame. In ogni caso, la beta-PE è oltre 60 volte più reattiva di altre proteine non antiossidanti, che dunque

non interferiscono nell'analisi. Finché gli antiossidanti sono in grado di catturare i radicali, essi proteggono il marker di fluorescenza dal decadimento; terminato l'effetto degli antiossidanti, i radicali reagiscono con la beta-ficoeritrina che perde fluorescenza. Il tempo di decadimento della fluorescenza è proporzionale alla quantità ed alla attività degli antiossidanti presenti nel campione. Con il metodo ORAC, si può calcolare sia la capacità antiossidante dei componenti idrosolubili (Aqueous ORAC), che di quelli liposolubili (Lipid ORAC); addizionando le due quantità si ottiene il valore di ORAC totale del prodotto. La determinazione della giusta concentrazione è effettuata con prove consecutive a partire da diluizione 1:100 del campione. Rispetto all'intervallo di lettura Bianco-Trolox si procede nella eventuale ulteriore diluizione, se la curva di decadimento del campione risulta essere uguale o maggiore a quella dello standard di riferimento; oppure si studia una diluizione minore, nel caso la curva di decadimento del campione risulti essere uguale o inferiore a quella del Bianco.



Le curve di decadimento della fluorescenza sono ottenute mediante letture spettrofluorimetriche, (con eccitazione a 546 nm ed emissione a 565 nm per i campioni di siero e quelli alimentari; mentre eccitazione 540 nm ed emissione 565 nm per i composti fenolici dell'olio) ripetute ad intervalli di 2,5 minuti per 60 minuti.

Le aree sotto le curve sono calcolate mediante la formula:

$$A = t/2 (f_0 + f_1 + f_2 + f_3 + f_4 + \dots + f_n)$$

Dove: A è l'area sotto la curva di decadimento della fluorescenza;

t è l'intervallo di tempo di lettura;

$f_0, f_1, f_2, f_3 \dots f_n$  sono le intensità di fluorescenza rispettivamente ogni 2,5 minuti fino al totale decadimento della beta-PE (fino a

quando la percentuale di variazione scende al di sotto del 2 %).

I risultati finali sono calcolati usando la formula:

$$mMTrolox\ Equivalenti = 20 \times k (A\ campione - A\ bianco) / [(A\ Trolox - A\ bianco) \times 1000]$$

dove  $k$  è il fattore di diluizione

$A$  è l'area sotto la curva di decadimento della fluorescenza

(1 unità ORAC = 1  $\mu$ M di equivalenti Trolox)

- **REATTIVI**

- **TAMPONE FOSFATO 75 MM:** sciogliere 13,06 grammi di  $K_2HPO_4$  in 900 ml di  $H_2O$ . Portare a pH 7,00 con  $H_3PO_4$  (diluito 1/10) e quindi al volume finale di 1000 ml.

- **B-FICOERITRINA:** sciogliere 1 mg di proteina in 14,7 ml di tampone fosfato e conservare a +4°C. La soluzione di lavoro (34 mg/l) si ottiene diluendo 1:2 la soluzione madre.

- **AAPH (2,2-AZOBIS-2 AMIDINO PROPANO DICLORURO) 160 MM:** sciogliere 217mg in 5 ml di tampone fosfato.

- **TROLOX 20  $\mu$ M:** 5 mg di trolox in 20 ml di tampone fosfato per ottenere la soluzione madre. Diluire 1:50 sempre con tampone per ottenere una soluzione finale di 5  $\mu$ g/l e aliquotare in eppendorf. Conservare a - 80°C.

- **METODICHE ESTRATTIVE** - I campioni di alimenti somministrati sono stati processati freschi, in condizioni da ridurre il più possibile l'esposizione del campione alla luce e ridurre al minimo la perdita di potere antiossidante. Quindi la lavorazione richiede una certa velocità di esecuzione e che i contenitori siano tutti coperti da alluminio.
- **FRUTTA, VERDURA E LEGUMI** - Ogni campione è ottenuto miscelando in parti uguali almeno tre alimenti acquistati in tre diversi supermercati della zona. I campioni di frutta e verdura sono privati delle parti edibili, tagliati in piccoli pezzi, frullati con un frullatore Braun Multimix MX32. Il frullato ottenuto è aliquotato in falcon da 15ml ricoperte di carta d'alluminio, dove è pesato 1 g di campione frullato che viene sottoposto a quattro estrazioni successive. L'estrazione dei composti idrosolubili è effettuata aggiungendo alle falcon 4 ml di  $H_2O$  bidistillata e ponendole in agitazione in bagno agitato a 200 rpm per 15 minuti a temperatura ambiente e successivamente centrifugandole a 3500 rpm per 10 minuti. Il surnatante è trasferito in Falcon da 15 ml e conservato in frigo. Al residuo polposo sono aggiunti altri 2 ml di acqua bidistillata e la procedura di estrazione è ripetuta. I surnatanti recuperati dalle due estrazioni sono riuniti. Il volume totale è misurato e l'estratto aliquotato in eppendorf da 2ml, nuovamente centrifugato a 10000rpm per 5 minuti, al fine di

allontanare eventuali particelle solide e trasferito in eppendorf da 1,5 ml. Per l'estrazione della frazione liposolubile, il residuo polposo è riestratto due volte con 4 ml e 2 ml di acetone. Anche in questo caso l'estratto acetone è riunito, trasferito in eppendorf e mantenuto a -80°C in attesa di essere analizzato.

- BEVANDE - Ogni campione è ottenuto miscelando tre o quattro diverse marche di succhi di frutta, tè, caffè, vini, birra mentre per i super-alcologici, l'aceto di vino e la camomilla è utilizzata un'unica marca. Nel caso di cola e birra l'anidride carbonica è allontanata utilizzando un agitatore magnetico. Tè nero, verde e camomilla sono preparati tramite infusione di una bustina di circa 2g in acqua bollente per circa 5 minuti. Il caffè solubile è preparato solubilizzando circa 2g in 40 ml di acqua bollente, l'espresso è acquistato in un bar locale, mentre il caffè moka è preparato miscelando 3 diversi tipi di caffè preparati con la classica macchina da caffè. I campioni sono opportunamente diluiti con acqua bidistillata e un'aliquota 1,8 ml è centrifugata a 10000 rpm per 5 minuti. Il surnatante è recuperato e trasferito in eppendorf da 1,5 ml. Gli estratti sono conservati a -80°C fino al momento dell'analisi. L'analisi dei campioni alimentari è stata effettuata con la metodica ORAC, rispettando quanto detto precedentemente, sul metodo e sull'esecuzione, per l'analisi dei campioni ematici.

#### 4.3.7. Valutazione dello stato energetico cellulare e dei livelli di MDA ematici (HPLC)

I campioni di sangue ottenuti dai soggetti in studio sono stati prelevati in tubi contenenti EDTA, e mantenuti in ghiaccio per tutto l'operazione di preparazione dell'estratto da analizzare. Il sangue intero è stato sottoposto a deproteinizzazione usando HClO<sub>4</sub> 1,2 M (1:2 v/v), successivamente neutralizzato con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e analizzato usando il metodo HPLC per la determinazione diretta della MDA, dei nucleotidi, dei coenzimi nicotinici, delle basi azotate, e dell'acido ascorbico. Le concentrazioni di MDA sono determinate su 100µL di estratto perclorico ematico attraverso la metodica ion-pairing HPLC, utilizzando un sistema HPLC con colonna KROMASIL 250x4,6 mm, diametro particelle 5µm e tetrabuttilammonio idrossido come accoppiante ionico. La separazione dei diversi metaboliti è ottenuta attraverso l'eluizione a gradiente di due tamponi di composizione diversa: il tampone A, 10 mM idrossido di tetrabuttilammonio, 10 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,25% di metanolo, pH 7; il tampone B, 2,8 mM idrossido di tetrabuttilammonio, 100mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 30 % metanolo, pH 5,5. Il gradiente è così composto : 10 min 100% tampone A; 3 min 90% tampone A; 10 min 70% tampone A; 12 min 55% tampone A; 15 min 45% tampone A; 10 min 25 % tampone A; 5 min 0% tampone A. Il flusso di eluizione è 1,2 mL/min e la temperatura della colonna è mantenuta costante a 23 °C.

L'apparato HPLC consiste di una Pompa Surveyor LC (Thermo Finnigan Italia, Rodano, Milano, Italia) connessa con un sistema rilevatore Surveyor PDA Detector (ThermoFinnigan Italia) a

200-800 nm. L'acquisizione e l'analisi dei dati è effettuata usando il programma ChromQuest (thermoQuest Italy). La comparazione delle aree, del tempo di ritenzione e dello spettro di assorbimento dei picchi nel cromatogramma, con quelli degli standards, permette di identificare i differenti metabolici e di calcolarne la concentrazione.

È possibile simultaneamente identificare i diversi nucleotidi e loro derivati, la malondialdeide, così come ottenere informazioni riguardanti il metabolismo energetico ed il danno da perossidazione.

La carica energetica potenziale, ECP (Energy Charge Potential) è calcolata secondo la relazione:

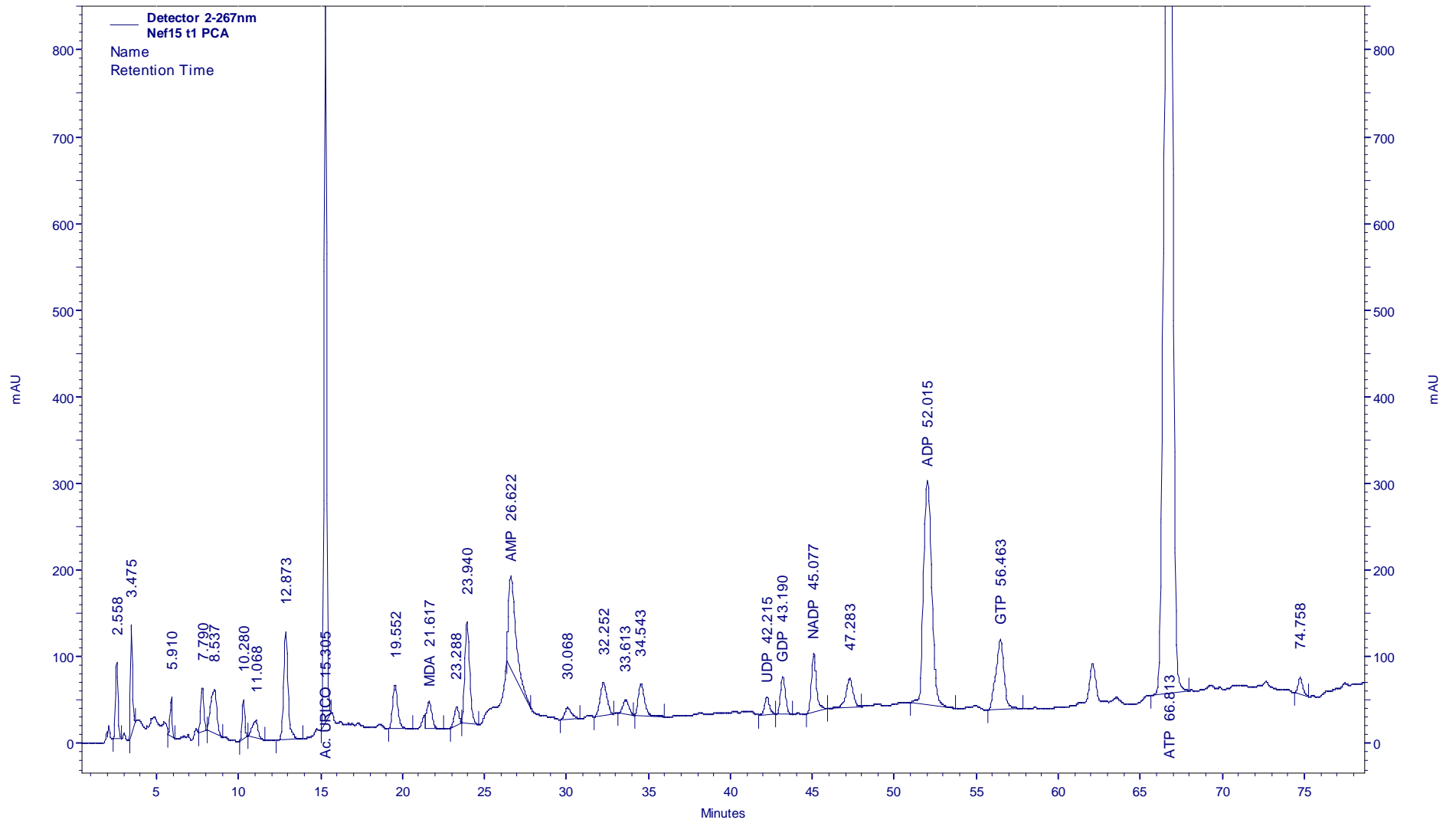
$$ECP = \frac{ATP + 0.5 ADP}{\Sigma NT} \quad \text{dove} \quad \Sigma NT = (ATP + ADP + AMP)$$

#### 4.3.8. *Elaborazione statistica*

Per la misura della variabilità dei parametri è stata utilizzata la deviazione standard ed i valori sono stati espressi come media  $\pm$  deviazione standard. Per il confronto tra i gruppi è stato utilizzato il test di significatività di Student (t test). I parametri relativi alla composizione corporea sono stati comparati fra i gruppi attraverso il metodo One Way ANOVA (ANalysis Of VAriance), test parametrico per la disuguaglianza delle medie delle popolazioni. Le differenze sono state considerate significative se  $p < 0,05$ . Il confronto fra gli alimenti di origine biologica e convenzionale è stato calcolato mediante il test di Mann Whitney; altamente significative le differenze se  $p < 0,01$ , e significative se  $p < 0,05$ . L'elaborazione statistica è stata effettuata utilizzando il programma SPSS (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA).

**Cromatogramma a 267 nm, campione ematico di paziente nefropatico**





#### 4.4. Risultati e discussione

In base alla rilevazione delle abitudini alimentari dei soggetti esaminati, è stata creata una lista di alimenti da utilizzare durante il periodo di studio, sia per gli alimenti “biologici” che “convenzionali”.

- FRUTTA E VERDURA: mele, pere, fragole, limoni, arance, mandarini, banane, lattuga, pomodori, pomodori pelati, zucchine, aglio, cipolle, patate, sedano, carote, bieta, broccoletti, cavolo, prezzemolo, basilico.
- LEGUMI: piselli, fagioli, lenticchie, ceci.
- CEREALI E DERIVATI: farina tipo 00, pasta alimentare, riso, pasta all'uovo, biscotti secchi, pane semintegrale.
- CARNI: vitello, petti di pollo, coniglio, bistecche di maiale.
- LATTE E DERIVATI: yogurt di pecora, pecorino stagionato, caciotta, crema latte con erba cipollina.
- UOVA
- VINO ROSSO
- OLIO EXTRAVERGINE DI OLIVA
- ACETO DI MELE
- ZUCCHERO DI CANNA
- MARMELLATA: marmellata di susine, marmellata di pesche.
- MIELE

Per gli alimenti si riscontra, nella gran maggioranza dei casi, valori di ORAC degli alimenti “biologici” superiori rispetto ai “convenzionali”. In particolare per i fagioli, piselli, arance, pomodori, banane, sedano, carote e patate. Per il latte di origine biologica è dell'11% più elevato rispetto a quello di origine “convenzionale”, mentre per il vino di origine biologica il valore ORAC è più elevato del 51%. Inoltre, appare interessante notare come per il pomodoro fresco si osservi un valore di capacità totale antiossidante del “biologico” superiore rispetto al “convenzionale” (biologico +69%), mentre per i pomodori in scatola l'aumento risulti essere talmente esiguo (biologico +4%). Questa differenza di valori di ORAC nel pomodoro fresco e in scatola è probabilmente da imputare alle varie fasi di lavorazione del prodotto (a partire dai procedimenti di trasformazione della materia prima, fino alla conservazione del prodotto finito) che ne alterano il potere antiossidante.

Gli alimenti di origine biologica mostrano possedere in generale un potere antiossidante maggiore rispetto a quelli di origine convenzionale, eccetto alcune eccezioni, quali: lattuga, pera, finocchio e mandarino che risultano avere un potere antiossidante inferiore rispetto ai corrispettivi di origine convenzionale. Particolare attenzione è stata posta a capire se frutta e verdura proveniente dalla coltivazione biologica o convenzionale potessero modulare la capacità antiossidante ematica e lo stress ossidativo dei soggetti in esame. Dopo 15gg di alimentazione biologica nei soggetti sani, si è osservato un aumento della capacità antiossidante totale ematica del 21% rispetto ai valori relativi alla dieta con alimenti “convenzionali”. Nei soggetti nefropatici si è osservato un aumento del 16%, rispetto alla dieta “convenzionale”.

Nelle condizioni sperimentali di invariate abitudini alimentari e stili di vita, cambiamenti significativi relativi alla composizione corporea non sono avvenuti dopo i 14 gg di alimentazione biologica anche se si è potuta osservare la tendenza ad un miglioramento relativo all’aspetto metabolico ed idroelettrolitico, in entrambi i gruppi di studio.

Dall’analisi dei parametri di composizione corporea del gruppo A è risultato un aumento dell’ECW di circa il 12 % giustificato dell’attività aumentata della pompa ATPasica e quantificato con l’aumento di circa il 12% del rapporto Na/K scambiabile; si è potuto osservare inoltre un aumento della BCM di circa il 3% corrispondente all’aumento del 3% circa dell’ICW. Inoltre riguardo ai valori ematici si è osservata una riduzione di circa il 32% del fosforo.

**Tabella Parametri di composizione corporea dei soggetti SANI (gruppo A) al T1 e al T2.**

SOGGETTI SANI		Tempo 1		Tempo 2	
BCM	(kg)	35,81	± 4,94	36,78	± 3,55
BCM	%	57,20	± 4,72	54,83	± 4,22
TBW	(l)	44,75	± 4,39	49,90	± 6,87
TBW	%	52,01	± 4,62	55,56	± 5,56
ECW	(l)	19,77	± 3,49	22,47	± 4,71
ECW	%	42,60	± 4,29	44,73	± 3,80
ICW	(l)	26,61	± 3,70	27,43	± 2,86
ICW	%	57,40	± 4,29	55,26	± 3,81
GRASSO	(kg)	27,63	± 11,41	23,71	± 12,04
GRASSO	%	29,61	± 6,85	24,79	± 7,96
MAGRO	(kg)	62,62	± 7,25	67,34	± 7,94
MAGRO	%	70,37	± 6,83	75,21	± 7,96

Abbreviazioni: T1, tempo 1, alimentazione convenzionale; T2, tempo 2, alimentazione biologica; BCM, body cell mass, massa metabolicamente attiva; TBW, total body water, acqua totale corporea; ECW, extra cellular water, acqua extracellulare; ICW, intra-cellular water, acqua intracellulare. I dati sono espressi come media ± DS. Differenze significative sono analizzate con il metodo del Test di Student, P value ≤ 0,05 è considerato essere significativo.

**Tabella Capacità antiossidante alimenti analizzati.**

ALIMENTO	CONVENZIONALE (UNITA' ORAC)		BIOLOGICO (UNITA' ORAC)		-%
	MEDIANA	RANGE	MEDIANA	RANGE	
Aglio	4288	117	6361	87	48**
Arancia	1500	83	2677	93	79**
Banana	343	27	566	64	65**
Carota	194	45	278	97	43**
Fagioli cotti	84	35	346	52	312**
Fragola	1411	62	1535	69	9*
Lattuga	1261	166	1014	135	-20**
Limone	2508	90	2672	80	7*
Mela	757	137	1018	78	34**
Patata	498	7	706	85	42**
Passata di pomodoro	342	33	356	98	4
Pera	411	220	309	97	-25**
Piselli	147	70	275	108	87**
Pomodoro	68	121	792	164	69**
Sedano	443	200	692	67	56**
Vino rosso	5220	467	7875	273	51**
Zucchine	1290	248	1490	101	15**
Latte	326	131	361	64	11*
Broccoletto	447	43	1070	101	139**
Finocchio	253	56	170	46	-33**
Cipolla	361	60	690	69	91**
Mandarino	2030	206	1890	199	-7*
Cavolo	210	55	330	40	57**

\*P<0,005; \*\*P<0,01 Mann Whitney Test

**Tabella di riferimento**

ALIMENTO	TOTAL-ORAC uMTE/100g
Aglio	5346
Arancia	726
Banana	813
Carota	663
Fagioli cotti	290
Fragola	3541
Lattuga	855
Limone	1225
Mela	2204
Piselli	524
Pomodoro	546
Sedano	497
Vino rosso	5034
Finocchio	307
Cipolla	1021
Mandarino	1620
Cavolo	508

Elaborata da : **Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of selected Foods – 2007** <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata>

Per quanto riguarda il gruppo B, ovviamente il miglioramento del quadro metabolico e dell'equilibrio idroelettrolitico dei soggetti studiati mostra un andamento diverso e più complesso per la presenza della patologia che in particolar modo influenza e complica l'analisi del quadro: la BCM risulta aumentata di circa il 18% ma questo dato non è veritiero poiché risulta discordante la diminuzione dell'ICW di circa l'8% e l'aumento dell'ECW di circa il 10%, quindi è più probabile considerare un'aumento della BCM pari a 8-10% circa, avvalorato dall'aumento di circa l'8% dell'attività della pompa ATPasica che concorda con l'andamento dell'ICW. Il fosforo ematico è risultato diminuito del 12% circa.

Da questa situazione più complessa nasce l'esigenza di approfondire lo studio analizzando il metabolismo cellulare, lo stato redox ed energetico cellulare, mediante la determinazione della concentrazione dell'ATP, ADT, AMP ed il calcolo dell'ECP. Contemporaneamente è stata inoltre determinata la concentrazione della MDA.

**Tabella Parametri di composizione corporea dei NEFROPATICI (gruppo B) al T1 e T2.**

NEFROPATICI		Tempo 1		Tempo 2	
BCM	(kg)	36,33	± 4,90	29,86	± 8,09
BCM	%	61,69	± 5,59	52,73	± 11,16
TBW	(l)	45,93	± 4,05	45,86	± 5,62
TBW	%	54,77	± 6,33	56,36	± 6,22
ECW	(l)	17,80	± 2,69	19,86	± 4,71
ECW	%	38,73	± 4,82	43,44	± 10,07
ICW	(l)	28,13	± 3,31	26,00	± 6,09
ICW	%	61,27	± 4,82	56,56	± 10,07
GRASSO	(kg)	25,86	± 8,75	22,56	± 8,03
GRASSO	%	29,80	± 7,36	27,17	± 8,60
MAGRO	(kg)	58,96	± 6,35	59,34	± 8,49
MAGRO	%	70,19	± 7,37	72,83	± 8,60

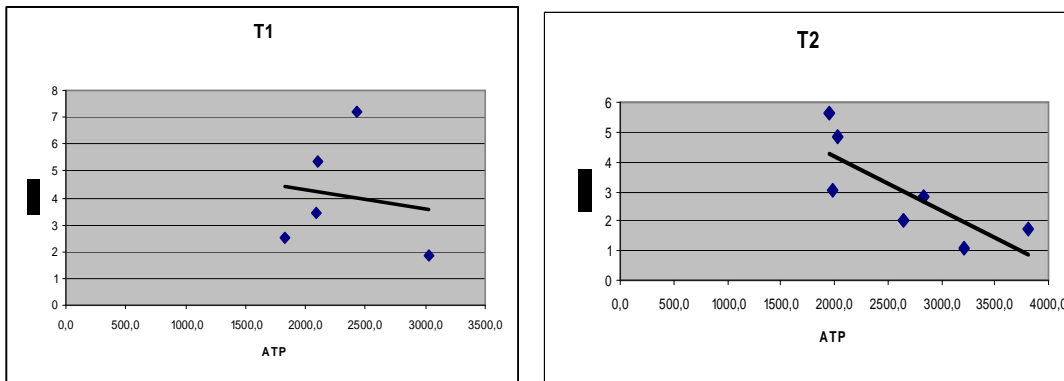
Abbreviazioni: T1, tempo 1, alimentazione convenzionale; T2, tempo 2, alimentazione biologica; BCM, body cell mass, massa metabolicamente attiva; TBW, total body water, acqua totale corporea; ECW, extra cellular water, acqua extracellulare; ICW, intra-cellular water, acqua intracellulare. I dati sono espressi come media ± DS. Differenze significative sono analizzate con il metodo del Test di Student, P value ≤ 0,05 è considerato essere significativo.

Nei pazienti affetti da IRC si è osservato che mangiare biologico per la durata di due settimane ha apportato un miglioramento della TAC del 16% con una significativa diminuzione dei valori di MDA, (il marker della per ossidazione lipidica) del 36% circa. Questa diminuzione sembra essere correlata direttamente allo stato metabolico energetico e redox della cellula che risulta essere migliorato.

La diminuzione della fosforemia ematica (12%), di grande rilevanza in pazienti uremici, può essere in parte da collegare all'aumentata fosforilazione dell'AMP e ADP a beneficio di una più alta concentrazione di ATP(+27%) come risulta evidente dopo i 14 gg di alimentazione biologica. Da imputare all'aumento della concentrazione di ATP a spese di una diminuzione del fosforo ematico è inoltre il miglioramento della Carica Energetica Potenziale (3%). Infatti gli eritrociti, come anche altri tipi di cellule, mostrano differenti meccanismi di difesa contro il danno indotto dai radicali liberi; fra questi si conoscono difese di tipo enzimatico, che richiedono energia sotto forma di ATP (come la catalasi, la superossido-desmutasi, la glutatione-perossidasi) e difese non enzimatiche (come l'azione riducente del glutatione e gli antiossidanti derivanti dal tipo di alimentazione). E' chiaro dunque che l'aumento della TAC grazie alla alimentazione di tipo biologica ha determinato un aumento delle difese non-enzimatiche. Per questo motivo non attivando gli enzimi antiossidanti si è ottenuto un risparmio energetico (ATP), un maggiore consumo di fosforo inorganico ed in generale un'aumentata carica energetica potenziale.

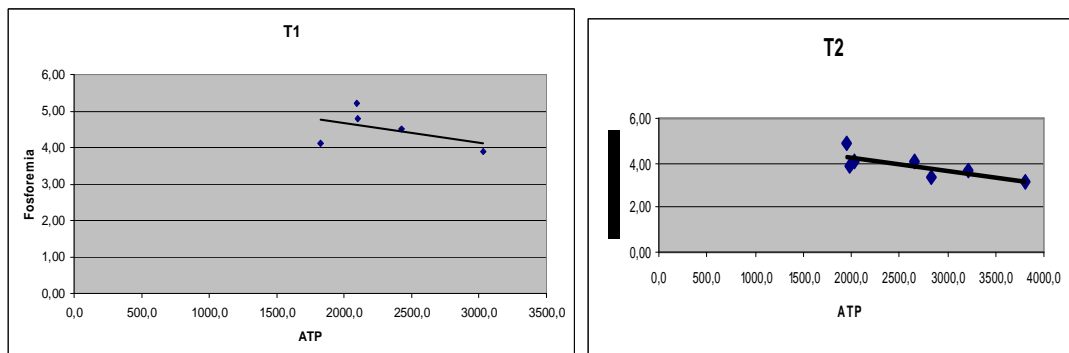
Inoltre è da osservare come l'aumento di ATP e di ECP abbiano portato a delle variazioni anche a livello del metabolismo elettrolitico. Analizzando i valori del rapporto Na/K scambiabili, ottenuti con esame impedenziometrico, si osserva un aumento generale di circa l'8%, che rappresenta una stima degli scambi di membrana e quindi dell'attività ATPasica che consuma energia. Questo aumento è in accordo con la diminuzione dell'ICW del 8% ed un aumento di quella Extracellulare di circa il 10% .

All'aumentare dell'ATP si osserva una diminuzione della MDA, che dopo l'alimentazione biologica diviene significativa:



(Al t2 il coeff.correl. lineare è -0,79)

All'aumentare dell'ATP si osserva una diminuzione del fosforo:



al T1 il Coeff. Corr. al T2, di - 0.77.

L'indagine svolta sull'influenza dell'alimentazione biologica su soggetti sani tramite l'acquisizione dei più comuni parametri biochimico clinici, lo studio della composizione corporea, la determinazione della Total Antioxidant Capacity (TAC) degli alimenti e della TAC ematica, ha evidenziato che i criteri di coltivazione biologica possono rappresentare un considerevole sostegno per la prevenzione ed il controllo di malattie cronico degenerative su base nutrizionale ed inoltre che una dieta a base esclusiva di prodotti di origine biologica, rispetto a prodotti di agricoltura convenzionale, apporta una maggiore quantità di principi antiossidanti (circa il 21% in soggetti sani). Gli effetti nutrizionali osservati sulla popolazione sana comprendevano anche un evidente cambiamento della distribuzione della BW (Body Water) ed una significativa diminuzione dei livelli di fosfati ematici, senza variazione dei livelli di calcio ematico.

Come per i soggetti sani anche per i soggetti uremici, è stato possibile concludere che l'alimentazione biologica induce un maggior apporto di antiossidanti che incrementano la



capacità antiossidante ematica totale. Allo stesso modo si è osservato un cambiamento di distribuzione della BW ed un'ingente diminuzione dei livelli di fosfati ematici. Inoltre la diminuzione dello stress ossidativo dovuto alla perossidazione lipidica (quantizzato mediante il dosaggio del marker MDA) sembra essere direttamente correlato allo stato metabolico energetico e redox della cellula. La nostra attenzione quindi si è focalizzata sull'aspetto biochimico metabolico in cui la degradazione degli alimenti, genera anche la driving force (energia trainante) dei processi metabolici. Ovvero sul fatto che le reazioni cataboliche degli alimenti sono eso-energetiche (+ E) e con crescita di entropia (+ S); esse vengono accoppiate con reazioni di sintesi (anaboliche), quali ad es. la sintesi endo-energetica dell'adenosinotri-fosfato (ATP), che funziona da accumulatore di energia. L'energia accumulata da ATP successivamente viene spesa la dove vi sia un lavoro necessario per ottenere una nuova organizzazione molecolare.

Il danno indotto dalla perossidazione delle membrane lipidiche ne rende instabili la struttura, la fluidità e la permeabilità; l'aumento della TAC comporta certamente un cambiamento delle attività dei sistemi di protezione cellulare, inducendo una spesa energetica minore per le difese enzimatiche contro il danno da radicali lipo-perossilici con conseguente aumento di energia potenzialmente utilizzabile (circa 3%), che influisce positivamente sullo stato metabolico energetico e redox della cellula. Allo stesso tempo una diminuzione del 12% del fosforo inorganico può essere giustificato in parte (3%) dall'incremento del ECP ed in parte (8%) dall'aumento della attività ATPasica per gli scambi di membrana. Anche la permeabilità di membrana risulta migliorata ed in concomitanza con l'effetto positivo sul fronte metabolico energetico e redox cellulare, ipotizziamo che tutti questi fattori diano come risposta finale una diminuzione del 36% del danno da perossidazione.

#### BIBLIOGRAFIA CAPITOLO 4

1. Di Renzo L, Di Pierro D, Bigioni M, Sodi V, Galvano F, Cianci R, La Fauci L, De Lorenzo A. (2007) Is antioxidant plasma status in humans a consequence of the antioxidant food content influence? *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* May-Jun;11(3):185-92.
2. Janet Rodríguez b,1, Donato Di Pierro a,1, Magda Gioia a, Susanna Monaco a, René Delgado b, Massimiliano Coletta a, Stefano Marini a(2006).Effects of a natural extract from *Mangifera indica* L, and its active compound, mangiferin, on energy state and lipid peroxidation of red blood cells *Biochimica et Biophysica Acta* 1760;1333–1342.
3. Giuseppe Lazzarino, Donato Di Pierro, Barbara Tavazzi, Loredana Cerroni, and Bruno Giardina. (1991) Simultaneous Separation of Malondialdehyde, Ascorbic Acid, and Adenine Nucleotide derivatives from Biological Samples by Ion-Pairing High-Performance Liquid Chromatography' *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY* 197,191-196.
4. Talluri A, Liedtke R, Mohamed EI, Maiolo C, Martinoli R, De Lorenzo A(2003).The application of body cell mass index for studying muscle mass changes in health and disease conditions. *Acta Diabetol.* Oct;40 Suppl 1:S286-9.
5. De Lorenzo A, Deurenberg P, Pietrantuono M, Di Daniele N, Cervelli V, Andreoli A.How fat is obese? *Acta Diabetol.* 2003 Oct;40 Suppl 1:S254-7
6. Pietrobelli A, Andreoli A, Cervelli V, Carbonelli MG, Peroni DG, De Lorenzo A. Predicting fat-free mass in children using bioimpedance analysis. *Acta Diabetol.* 2003 Oct;40 Suppl 1:S212-5.
7. Halliwell B (1997) Antioxidant and human disease: a general introduction. *Nutr. Rev.* 55:44-49
8. Cohen JH, Kristal AR, Standford JL (2000) Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 92:61-68.
9. Mastromatteo A, Labate A, Cappello V, et al (2003) Indagine preliminare sulla concentrazione dei radicali liberi nel siero di pazienti con cataratta avanzata. *Oftalmologia sociale* 4:20-26
10. Stefek M, Kyselsova Z, Rackova I, Krizanova L (2005) oxidative modification of rat eye lens proteins by peroxy radicals in vitro:protection by the chain-breaking antioxidants stobadine and Trolox. *Biochim Biophys Acta* 1741 (1-2) 183-190.
11. Polidori MC, Frei B, Cherubini A et al (1998) Increased plasma levels of lipid hydroperoxides in patients with ischemic stroke. *Free Radic Biol Med* 25 (4-5)561-567
12. Rodrigo J, Fernandez AP, Serrano J et al (2005) The role of free radicals in cerebral hypoxia and ischemia. *Free Radic Biol Med* 39 (1)26-50.
13. Yang T, Devaraj S, Jialal I (2001) Stress ossidativo e aterosclerosi *Journal of Clinical Ligand Assay* (Ed. italiana )24:13-24.
14. Harman D (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 11(3)298-300.

15. Prior RL (1988) Antioxidant capacity and Health Benefits of fruits and vegetables. Blueberries, the leader of the Pack. Presentation given at the North American Blueberry Council (NABC) meeting in Portland, Oregon in February.
16. Wickens AP (2001) Aging and free radical theory. *Respir Physiol* 128: 379-391.
17. Chevion S, Moran DS, Heled Y et al (2003) Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proc Natl Acad USA* 100(9) 5119-5123.
18. Lee J, Koo N, Min DB (2004) Reactive Oxygen Species, aging and antyoxidative neutraceuticals. *Comprehensive Rev In Food Sci Food Safety* 3:21-23.
19. Decker EA (1988) Antioxidant mechanisms. In: Akoh CC, Min BD, editors. *Food lipids, chemistry, nutrition and biotechnology*. New York: Marcel Dekker. P 397-401.
20. Halliwell B (1996) Uric acid: an example of antioxidant avaluation. In: Cadenas E, Packer L editors. *Handbook of antioxidants*. New York Marcel Dekker 243-256.
21. Stocker R (2004) Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal* 6 (5) 841-849
22. Taysi S, Ucuncu H, Elmastas M et al (2005) Effect of melatonin on lipid peroxidation, glutathione and glutathione-dependent enzyme activities in experimental otitis media with effusion in guinea pigs. *J Pineal Res* 39 (3) 283-286.
23. Boff J, Min DB (2002) Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods. *Comp Rev Food Sci Safety* 1: 58-72.
24. Kruk J, Hollander-Czytko H, Oettmeir W et al (2005) Tocopherol as singlet oxygen scavenger in photosystem. II *J Plant Physiol* 162 (7) 749-757.
25. Buettern GR, Jurkiewicz BA (1996) chemistry and biochemistry of ascorbic acid. *Handbook of antioxidants*. In: Cadenas E, Packer L eds. Mercel Dekker, New York 91-115.
26. Cao g, Alessio HM, Culter RG (1993) Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med* 14 303-311.
27. Cao G, Prior RL (1999) Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. *Meth Enzymol* 299 50-62.
28. Frei B, Stocker, Ames BN (1988) Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 85 9748-9754.
29. Cao G, Prior RL (1988) Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem* 44 1309-1315.
30. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL (2001) Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* 49(10)4619-4629.
31. Ninfali P, Mea G, Giorgini S et al (2005) Antioxidant capacity of vegetables, species and dressing relevant to nutrition. *Br J Nutr* 93(2) 257-266.

## CAPITOLO 5

### CONCLUSIONI

L'evidenza dei potenziali benefici salutistici derivanti dal consumo di prodotti vegetali, frutta e ortaggi nonché prodotti derivati (es. tè, olio di oliva, vino, etc.), è ampiamente documentata dalla letteratura scientifica degli ultimi dieci anni; svariati studi epidemiologici hanno infatti evidenziato come il regolare consumo di alimenti di origine vegetale sia correlato ad una diminuzione del rischio associato all'insorgenza di vari tipi di patologie da stress ossidativo tra cui: alcuni tipi di cancro, malattie coronariche, infarti, ipertensione, cataratta, diabete, malattie neurodegenerative, diverticolosi e obesità. La frutta e la verdura, abbondantemente rappresentate nella Dieta Mediterranea Salutare, offrono un considerevole contributo in vitamine e minerali, intervengono nel controllo della densità energetica della dieta, forniscono fibra ed una notevole varietà di componenti antiossidanti. Una dieta ricca di frutta e verdura, oltre all'apporto considerevole di nutrienti minerali e vitaminici, assicura, nell'ambito di questi ultimi, quelli con attività antiossidante (acido ascorbico,  $\alpha$ -tocoferolo, retinolo,  $\beta$ -carotene). Inoltre la frutta e la verdura insieme all'olio vergine di oliva, al vino rosso, alle erbe aromatiche, (origano, prezzemolo e rosmarino), all'aglio, alla cipolla, al peperoncino (ingredienti usati generosamente nella cucina mediterranea), offrono una quantità di composti fenolici, con spiccata azione antiossidante che difficilmente, è possibile raggiungere con altri tipi di dieta. L'adozione di una Dieta Mediterranea Salutare permette di soddisfare i livelli raccomandati di energia e nutrienti, gli effetti benefici determinati sono imputabili non solo al ridotto apporto di grassi (in particolare di grassi saturi) ma soprattutto all'alto contenuto in antiossidanti naturali (vitamine E e C, polifenoli, carotenoidi, etc.).

Ogni antiossidante è in grado di espletare la sua attività secondo meccanismi diversi e con una diversa efficienza a seconda della sua struttura chimica e dell'ambiente in cui si trova. Per questo motivo una valutazione integrata del potenziale antiossidante può essere persino più importante della concentrazione dei singoli antiossidanti. Da qui l'esigenza di valutare la Capacità Antiossidante Totale di un alimento (TAC); cioè la capacità di un alimento di preservare un substrato ossidabile, inattivare una specie radicalica o ridurre un ossidante nell'unità di tempo. Un'alta attività antiossidante conferisce, in via teorica, un 'valore aggiunto' ad un alimento. In pratica, però, la TAC misurata in un sistema alimentare o in un sistema modello, spesso non corrisponde a quanto accade in un sistema biologico. Capire quali sono le motivazioni di queste differenze è fondamentale, così come è importante conoscere quali metodologie possono permettere la reale valutazione dell'effetto antiossidante di un alimento,

anche in vista di possibili *health claims*. Infatti, sebbene alcuni alimenti mostrino un'alta attività antiossidante *in vitro*, ciò non implica che la possano espletare anche in vivo, in quanto non tutte le molecole vengono assorbite allo stesso modo a livello intestinale e quindi non sono ugualmente biodisponibili. La misura della TAC è stata applicata anche *in vivo*, in quanto fornisce informazioni sull'entità cumulativa delle difese antiossidanti di una matrice biologica. La sua applicazione è mirata a comprendere il ruolo che l'alimentazione, grazie al quotidiano apporto di molecole antiossidanti, svolge nella protezione dal danno ossidativo e dalle patologie cronico-degenerative ad esso connesse.

Il valore ORAC può essere utile per capire le "potenzialità" antiossidanti dell'alimento, ma data l'impossibilità di valutare l'accessibilità e l'efficacia delle molecole redox in situ, fornisce un'informazione limitata. È importante quindi che la validazione della terapia antiossidante si sviluppi attraverso un percorso ben definito che includa studi sperimentali nell'uomo, attraverso protocolli e marcatori biologici perfettamente standardizzati che utilizzino marcatori biologici dell'attività antiossidante e del danno radicalico, le due facce del mondo redox, allo scopo di fornire un'informazione corretta e scientificamente valida al consumatore permettendo di utilizzare al massimo le potenzialità dell'alimento per un'efficace azione preventiva.

Per mantenere lo stato di salute, l'organismo richiede una costante protezione contro il danno ossidativo e quindi che la quotidiana assunzione di alimenti contenenti antiossidanti prevenga l'ossidazione a livello biologico e fornisca protezione verso le malattie degenerative causate dallo stress ossidativo. L'ossidazione indotta da due categorie di composti chimici, radicali ed ossidanti, determina infatti la perdita di funzionalità di molecole importanti a livello cellulare (lipidi, proteine e DNA). A livello metabolico gli antiossidanti della dieta rappresentano un meccanismo di difesa contro gli stress ossidativi ma anche altre molecole, tra cui diversi enzimi, sono in grado di catalizzare reazioni che determinano l'inattivazione di radicali e ossidanti (catalasi, perossidasi e superossidodismutasi). Antiossidanti endogeni (sistemi enzimatici) ed esogeni (antiossidanti di origine vegetale = phytochemicals) cooperano all'interno di un sistema (network antiossidante) alla modulazione del bilancio ossidativo reagendo con radicali e ossidanti o riducendo antiossidanti precedentemente ossidati, quindi consumati. Da questa classificazione in sistema endogeno ed esogeno, si potrebbe dedurre che gli alimenti possono influenzare l'entità delle difese antiossidanti solo mediante un aumento della concentrazione degli antiossidanti esogeni. Nella realtà questo non è vero, in quanto alcuni micronutrienti potrebbero, ad esempio, aumentare l'attività degli enzimi antiossidanti.

Inoltre un ulteriore problema è la concentrazione delle molecole antiossidanti che possono determinare un effetto biologico, ossia la "dose efficace". Mediamente la concentrazione di alcuni componenti antiossidanti nell'alimento è relativamente bassa, ma poiché l'alimento deve comunque essere inserito in una dieta corretta non si può ovviare a

questa bassa concentrazione aumentando le quantità di consumo. Un alimento non può essere considerato “funzionalmente antiossidante” se richiede un consumo superiore a quello prevedibile in un’alimentazione bilanciata. Quindi il ricorso agli integratori alimentari potrebbe sembrare una risoluzione del problema, in quanto essi possono essere fonti concentrate di alcune sostanze. Se questo è vero da un lato, dall’altro non tiene conto del fatto che l’integratore è una matrice semplice, mentre l’alimento è una matrice complessa, che contiene non una, ma spesso moltissime molecole potenzialmente antiossidanti, in grado di agire in sinergia.

Diversi studi clinici condotti “integrando” la dieta con antiossidanti di sintesi, tra cui vitamine (E e C) e  $\beta$ -carotene, hanno evidenziato come alcuni antiossidanti, assunti nella forma di supplemento dietetico, possano determinare effetti controversi ed in alcuni casi persino negativi. Recenti analisi statistiche dei dati ottenuti dai diversi studi scientifici, suggeriscono in maniera sempre più autorevole che la supplementazione con antiossidanti di sintesi non sia in grado di mimare l’effetto protettivo esercitato dagli alimenti di origine vegetale. Alcuni degli studi dove è stato evidenziato un effetto protettivo degli antiossidanti di sintesi, sono stati condotti su popolazioni in carenza nutrizionale o con livelli plasmatici di antiossidanti ridotti. La supplementazione con antiossidanti di sintesi sembrerebbe quindi diventare efficace in soggetti in carenza di antiossidanti e non in individui con un corredo ossidoriduttivo adeguato: una possibile soluzione che tiene conto dei fattori “concentrazione e sinergismo d’azione” è data dagli alimenti funzionali, che mantenendo la matrice complessa dell’alimento presentano un contenuto di uno o più componenti maggiore di quello riscontrabile nei comuni alimenti simili.

Con la presente ricerca sono stati isolati marcatori appropriati dello stress ossidativo, nonché della capacità totale antiossidante, adeguati a diagnosticare le variazioni metaboliche indotte da alimenti “convenzionali” e “biologici”. Il dosaggio di questi “*markers*” è stato in grado di fornire un’indicazione precisa sui diversi effetti che la dieta “biologica” potrebbe comportare sul metabolismo in generale e sullo stato energetico cellulare.

I risultati ottenuti da questa ricerca indicano un diverso effetto sull’organismo dei prodotti di origine biologica rispetto ai “convenzionali”: l’effetto è decisamente più salutare. I dati hanno dimostrato che una dieta a base esclusiva di prodotti biologici, rispetto a prodotti di agricoltura convenzionale, apporta una maggiore quantità di principi antiossidanti. L’aumento della capacità totale antiossidante plasmatica nonché la conseguente diminuzione dei livelli di MDA e quindi dello stress da lipoperossidazione, potrebbe contribuire a ridurre il rischio di malattie cardiovascolari e cronico degenerative.

L’aderenza allo “Stile di vita Mediterraneo” risulta essere già di per sè funzionale e direttamente correlato sia ad un abbassamento del tasso di mortalità che a elevati livelli

plasmatici di capacità antiossidante, quindi l'effetto protettivo determinato deriva dalla grande varietà dei composti bioattivi presenti, dalla loro interazione in vivo, ma soprattutto che la loro quantità è maggiore se l'origine degli alimenti è biologica. Estremamente importante è che la popolazione venga sensibilizzata e sia portata a conoscenza dei vantaggi che questi prodotti possono apportare alla nostra salute ed al nostro benessere, qualora integrati in uno stile di vita salutare. Comunque, dato il numero limitato di individui esaminati non possono essere tratte conclusioni in termini assoluti. Sono necessarie pertanto ricerche più estese che includano un numero di individui, statisticamente significativi della popolazione, un maggior numero di variabili ed ulteriori confronti tra metodiche.

I criteri di coltivazione biologica possono rappresentare un considerevole sostegno per la prevenzione ed il controllo di malattie cronico-degenerative su base nutrizionale. La prevalenza delle malattie cronico-degenerative, su base nutrizionale nei paesi sviluppati, è motivo di preoccupazione sotto il profilo sanitario, economico e sociale.