



RAPPORTI ISTISAN 15|36

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

Pandemie del terzo millennio

A cura di S. Gessani e A. Geraci



PATOLOGIE

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Pandemie del terzo millennio

A cura di

Sandra Gessani (a) e Andrea Geraci (b)

(a) Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare

(b) Dipartimento del Farmaco

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

Rapporti ISTISAN

15/36

Istituto Superiore di Sanità
Pandemie del terzo millennio.
A cura di Sandra Gessani e Andrea Geraci
2015, ii, 87 p. Rapporti ISTISAN 15/36

Questo rapporto raccoglie i contributi principali relativi a un corso residenziale che si è tenuto presso l'Istituto Superiore di Sanità nel 2014. Questo evento ha rappresentato il primo corso tenutosi sul territorio nazionale che ha riguardato i nuovi approcci molecolari e integrati per la diagnosi e il trattamento di alcune patologie croniche, caratterizzate dal denominatore comune dell'infiammazione, definite come pandemie del terzo millennio. Il corso ha avuto come obiettivo primario quello di fornire una visione aggiornata e integrata dei meccanismi molecolari coinvolti nella fisiopatologia di malattie che vanno dall'ipertensione alla sindrome metabolica, dalla disfunzione endoteliale all'aterosclerosi, dall'osteoporosi all'infertilità di coppia, dalle malattie neurodegenerative al cancro, al fine di programmare interventi di prevenzione primaria a forte impatto sui costi sanitari diretti e indiretti.

Parole chiave: Medicina molecolare; Processi patologici; Medicina integrata; Stile di vita

Istituto Superiore di Sanità
Third millennium pandemics.
Edited by Sandra Gessani and Andrea Geraci
2015, ii, 87 p. Rapporti ISTISAN 15/36 (in Italian)

This report collects the main contributions relative to a residential course held at the Istituto Superiore di Sanità (the National Institute of Health in Italy) in 2014. This event was the first course held in Italy that dealt with new molecular and integrated approaches for diagnosis and treatment of some chronic diseases, characterized by the common denominator of inflammation, defined as pandemics of the third millennium. The course had as its primary objective to provide an updated and integrated vision of the molecular mechanisms involved in the pathophysiology of some diseases from hypertension to metabolic syndrome, endothelial dysfunction to atherosclerosis, osteoporosis, infertility, from neurodegenerative diseases to cancer, in order to plan interventions of primary prevention with a strong impact on both the direct and indirect health care costs.

Key words: Molecular medicine; Pathologic processes; Integrative medicine; Life-style

Si ringraziano Rosario Internullo e Veronica Michetti per aver curato l'*editing* e la parte grafica del presente rapporto, e Rossella Di Nallo per il prezioso supporto tecnico.

Per informazioni su questo documento scrivere a: sandra.gessani@iss.it, andrea.geraci@iss.it.

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Gessani S, Geraci A (Ed.). *Pandemie del terzo millennio*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2015. (Rapporti ISTISAN 15/36).

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Gualtiero Ricciardi*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 114 (cartaceo) e n. 115 (online) del 16 maggio 2014

Direttore responsabile della serie: *Paola De Castro*
Redazione: *Paola De Castro* e *Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori, che dichiarano di non avere conflitti di interesse.

INDICE

Introduzione

Sandra Gessani, Andrea Geraci 1

PARTE GENERALE

Dallo stress molecolare allo stress psico-sociale

Dalla genomica alla lipidomica: l'aspetto molecolare in medicina e prevenzione

Carla Ferreri..... 5

Pandemie del terzo millennio: il ruolo della redoxomica

*Eugenio Luigi Iorio, Giovanni Scapagnini, Simona Tafuri,
Vincenzo Mastellone, Francesca Ciani* 10

Lipoproteine plasmatiche a bassa densità nella patogenesi dell'insulino-resistenza

Beatrice Scazzocchio, Ilaria Del Gaudio, Roberta Masella 14

Dieta, infiammazione e cancro: il ruolo chiave del tessuto adiposo

Manuela Del Cornò, Gloria Donninelli, Sandra Gessani..... 20

Interazioni tra microbioma e sistema immune: effetti promuoventi la salute in oncologia

Andrea Del Buono..... 26

Pandemia dismetabolica: obesità, insulino-resistenza e patologia oncologica

Armando D'Orta 30

Medicina integrata nelle malattie non trasmissibili

Andrea Geraci..... 35

PARTE APPLICATIVA

Benessere animale e interventi nutrizionali per le patologie del terzo millennio

Alimentazione e benessere animale

*Vincenzo Mastellone, Raffaella Tudisco, Francesca Ciani, Serena Calabrò,
Danila d'Angelo, Monica Isabella Cutrignelli, Maria Elena Pero, Eugenio Luigi Iorio,
Pietro Lombardi, Federico Infascelli* 45

Attività antiossidante e stress ossidativo nella riproduzione femminile animale

*Francesca Ciani, Natascia Cocchia, Vincenzo Mastellone, Pietro Lombardi,
Maria Elena Pero, Eugenio Luigi Iorio, Danila d'Angelo, Simona Tafuri* 49

Alimentazione, nutraceutica e fitoterapia: una nuova frontiera fra tradizione e innovazione

Rosaria Ferreri 53

Infertilità di coppia: una nuova pandemia? <i>Sara Pinto Provenzano, Daniela Domenica Montagna, Lamberto Coppola</i>	58
Strategie di protezione molecolare nelle patologie dermatologiche e nell'invecchiamento cutaneo <i>Mariuccia Bucci</i>	62
Pandemia cardio-vascolare: dalla disfunzione endoteliale all'aterosclerosi. Quale prevenzione? <i>Maria Bianchi, Maria Grazia Roccia, Carolina Jahaira Aracena, Massimo Fioranelli</i>	66
Pandemia ossea <i>Gianfranco Pisano</i>	72
Trattamento delle patologie oculari del terzo millennio: speranza o realtà? <i>Decio Capobianco</i>	76
Approccio molecolare nelle patologie neurodegenerative <i>Lucia Chico, Annalisa Lo Gerfo, Gabriele Siciliano</i>	80

INTRODUZIONE

Sandra Gessani (a), Andrea Geraci (b)

(a) *Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Il presente rapporto è costituito da una selezione dei contributi dei docenti del corso “Le pandemie del terzo millennio” tenutosi presso l’Istituto Superiore di Sanità durante il 2014.

Questo evento formativo è nato dalla recente esigenza di approfondire gli aspetti molecolari di una serie di condizioni morbose non trasmissibili, che costituiscono oggi una vera e propria pandemia che, secondo l’ultimo rapporto dell’Organizzazione Mondiale della Sanità, ha provocato nel 2012 circa 38 milioni di decessi su un totale di 56, cioè il 68% del totale. Tali patologie, solo apparentemente indipendenti tra di loro, sono legate da una serie di denominatori comuni. Infatti, nella patogenesi di molte di queste sono state riscontrate perturbazioni dell’equilibrio ossido-riduttivo e acido-base, dell’assetto lipidico della membrana cellulare e l’insorgenza di infiammazione cronica di basso grado che generano una forte compromissione dei flussi di informazione e/o energia fino alla malattia conclamata.

L’interesse crescente per approcci più molecolari e integrati per la prevenzione, la diagnosi e il trattamento di malattie così diffuse ha stimolato lo sviluppo di nuove strategie analitiche e focalizzato l’attenzione sugli aspetti molecolari/cellulari piuttosto che di tessuto/organo, nonché dei fattori ambientali, psico-sociali e degli stili di vita che possono sia contribuire all’insorgenza di tali patologie ma anche avere un ruolo importante nella loro prevenzione e trattamento. Ad esempio, uno stress psicologico è sicuramente un fattore importante che può perturbare l’omeostasi del sistema immunitario, mentre l’alimentazione può influenzare positivamente o negativamente lo stato infiammatorio, ossidativo, l’equilibrio acido-base e la composizione lipidica delle membrane cellulari. Ciò indica la necessità di valutare l’essere umano nella sua complessità, partendo dalle singole molecole e cellule fino ad arrivare al rapporto mente-corpo inserito in un determinato ambiente fisico e sociale. La medicina molecolare, così come l’integrazione di aspetti psico-sociali, ambientali, stili di vita e della risposta individuale, offre pertanto una nuova prospettiva di valutazione clinica e diagnostica delle patologie umane, nonché uno strumento efficace per la promozione della salute, attraverso la valutazione dello stato molecolare dell’individuo.

Questo rapporto si prefigge di dare un contributo alla crescita scientifico-culturale e multidisciplinare nell’ambito della medicina molecolare promuovendo la diffusione di nuovi approcci preventivi/diagnostici/terapeutici integrati, con il fine ultimo di ridurre il divario tra gli avanzamenti scientifici e il trasferimento delle conoscenze alla pratica clinica.

Il rapporto è suddiviso in una parte generale che illustra i nuovi approcci molecolari (lipidomica e redoxomica), i meccanismi di patogenesi e alcuni aspetti di prevenzione (alimentazione e stili di vita), e in una parte applicativa con esempi relativi ad alcune patologie prevalenti nel terzo millennio.

PARTE GENERALE
Dallo stress molecolare allo stress psico-sociale

DALLA GENOMICA ALLA LIPIDOMICA: L'ASPETTO MOLECOLARE IN MEDICINA E PREVENZIONE

Carla Ferreri

Istituto per la Sintesi Organica e la Fotoreattività, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Bologna

Genomica e post-genomica

L'avanzamento delle conoscenze nelle scienze della vita e il perfezionamento delle metodiche analitiche hanno permesso di entrare sempre più nel "micro" ambiente che costituisce un organismo vivente, raggiungendone il livello molecolare di osservazione. Costituito nella sua parte più infinitesimale da molecole, l'essere vivente organizza e regola le interazioni molecolari, al fine di rendere efficienti le attività di cellule, organi, tessuti e apparati, ovvero dell'intero corpo umano.

Il DNA, quale molecola chiave per la conservazione e la trasmissione del patrimonio genetico, ha attratto fortemente l'interesse della ricerca scientifica. Con la decodifica della sequenza del genoma umano, sono state evidenziate a livello molecolare le modificazioni di singole unità del DNA (nucleotidi) dette *Single Nuclear Polymorfism* (SNP), caratterizzanti il corredo genetico di ciascun essere umano. Gli SNP si ritrovano in media ogni 100-300 nucleotidi, per cui si stima che esistano circa 10 milioni di SNP nel genoma umano.

L'analisi del genoma umano effettuata nello studio *Genome Wide Association Study* (GWAS) (1) si è concentrata su qualche centinaio di SNP allo scopo di identificare fattori di rischio per le malattie più diffuse nelle popolazioni. Pertanto, lo scopo principale del GWAS è quello di raggiungere una capacità di predizione del rischio di malattie in soggetti portatori di un dato SNP e di identificarne i fattori associati che possono influenzare la suscettibilità alla malattia, in modo da orientare la prevenzione e anche le terapie. Uno dei primi successi del GWAS è stato l'identificazione del gene *Complement Factor H* come fattore di rischio per la degenerazione maculare senile (2). Successivamente, sono state trovate associazioni tra la presenza di particolari SNP e la risposta a terapie farmacologiche, che aprono il campo alla farmacogenomica, così come tra SNP e lo sviluppo di alcune malattie come la fibrosi cistica, caratterizzata dalla presenza della mutazione del gene *Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR) (3). È importante inoltre sottolineare che l'associazione della maggior parte di SNP con un reale sviluppo di malattia e il collegamento ai vari fattori esterni, compresa la nutrizione, è ancora dibattuta e richiede analisi più approfondite. Un catalogo degli studi GWAS pubblicati è disponibile sul sito web del *National Human Genome Research Institute* dei *National Institutes of Health* statunitensi (4).

La genomica è stata la prima e più popolare delle discipline "omiche" dedicate allo studio del patrimonio molecolare degli esseri viventi racchiuso nel DNA. Si è più recentemente accertato che le informazioni genetiche hanno sì un ruolo fondamentale per lo sviluppo e il destino degli individui, ma non si tratta di informazioni stabili. Difatti sono stati individuati meccanismi di attivazione e di silenziamento delle informazioni contenute nei geni, collegati e regolati dall'ambiente e dalla nutrizione. È nata così la cosiddetta era post-genomica e più propriamente è nata la disciplina dell'epigenetica (5, 6). L'epigenetica si basa su alcune importanti assunzioni:

- il corredo genetico è specifico per l'individuo ma diversi meccanismi di regolazione rendono l'espressione dei geni modulabile e adattabile alle circostanze di vita cellulare;
- la regolazione dell'espressione genica avviene attraverso modifiche conformazionali del tratto cromosomico (detto *remodeling* della cromatina);
- l'attivazione/repressione di specifiche regioni del DNA è regolata attraverso modificazioni chimiche a carico degli istoni e dei nucleotidi, in particolare con l'acetilazione-deacetilazione degli istoni e con la metilazione-demetilazione della citosina.

Modificazioni epigenetiche possono verificarsi in risposta a diversi stimoli ambientali, tra i quali riveste un ruolo importante la dieta. Eventi di questo tipo sono stati messi in evidenza mediante esperimenti condotti su animali da laboratorio, dimostrando che la progenie derivante da madri con definiti profili genetici (uno sano e l'altro malato) non necessariamente conserva lo stato del genitore, se durante la gravidanza sono state seguite regole alimentari precise che hanno portato ad un cambiamento dell'espressione genica, con risultati più favorevoli per la salute del figlio rispetto alla stessa madre.

Un chiaro esempio è rappresentato dai topi Agouti (8). I topi portatori di un gene Agouti attivo (*Avy*) hanno un mantello giallo e la propensione a diventare obesi e a sviluppare malattie metaboliche, ma se il gene è disattivato mediante metilazione del DNA i topi sono magri ed hanno un colorito bruno (*A wild-type*). Se femmine portatrici del gene attivo ricevono durante la gravidanza integratori alimentari che rilasciano gruppi metilici (composti del tipo betaina, colina, acido folico e vitamina B12), disattivando quindi il gene Agouti, la progenie è di colore bruno e magra. Questo esempio rende chiaro che il patrimonio genetico è sottoposto ad un controllo epigenetico da parte di innumerevoli sostanze e stimoli capaci di influenzare il profilo metabolico dell'individuo e mette in luce l'importante ruolo dell'alimentazione, in particolare in gravidanza, per una trasmissione di fenotipi protettivi da madre a figlio.

Membrana cellulare

La membrana cellulare riveste un ruolo importante nella trasmissione del messaggio epigenetico. Infatti, la nutrizione non solo influenza le reazioni di modificazione del DNA, ma ha anche una ricaduta immediata sulla membrana che è un accettore di elementi nutrizionali al pari del DNA. Come è noto la struttura della membrana consiste in un doppio strato di fosfolipidi che impartiscono organizzazione alle molecole proteiche, le quali a loro volta svolgono varie attività come quelle di canali, recettori, segnalatori, ecc. Le caratteristiche di fluidità e permeabilità della membrana cellulare derivano in gran parte dalla qualità degli acidi grassi che formano i fosfolipidi.

Gli acidi grassi comprendono 4 diverse categorie: acidi grassi saturi (*Saturated Fatty Acids*, SFA), monoinsaturi (*MonoUnsaturated Fatty Acids*, MUFA), polinsaturi omega-6 e omega-3 (*PolyUnsaturated Fatty Acids*, PUFA). L'apporto dei lipidi attraverso la nutrizione è di cruciale importanza per i mammiferi poiché i PUFA omega-6 e omega-3 sono ottenibili da molecole precursori che non possono essere sintetizzate da questi organismi, mentre gli stessi sono indispensabili per formare le membrane cellulari di tutti gli organismi eucariotici. Quindi non si esagera assolutamente se si afferma che la vita umana è legata indissolubilmente ai grassi provenienti dall'alimentazione, che consente l'apporto di elementi essenziali, indispensabili per una corretta composizione della membrana cellulare. Da questa assunzione deriva la necessità di conoscere l'apporto qualitativo degli acidi grassi, così come per le vitamine, non limitandosi a sapere solo se si assumono ma anche di che tipo sono.

Per queste molecole la qualità è ancora più importante della quantità, ma talvolta accade che per limitarne l'assunzione si perde di vista la qualità; questo requisito è fondamentale per la scelta di una dieta ottimale per vivere in stato di buona salute, anche in casi particolari come ad esempio in gravidanza, durante un'attività sportiva o un impegno particolarmente stressante e anche per coadiuvare un intervento terapeutico.

L'altro aspetto importante è l'assunzione attraverso la dieta di una adeguata proporzione tra le varie famiglie degli acidi grassi (SFA, MUFA, PUFA omega-6 e omega-3) poiché la formazione di una membrana efficiente dipende proprio dai rapporti che le quattro famiglie di acidi grassi raggiungono nel compartimento. In una situazione ottimale la membrana eritrocitaria dovrebbe avere un rapporto tra SFA e MUFA nell'intervallo 1,7-2, mentre quello tra PUFA omega-6 e omega-3 dovrebbe essere nell'intervallo 3,5-5,5 (8).

Le attività svolte dagli acidi grassi, soprattutto dai PUFA, sono attualmente oggetto di un intenso lavoro di ricerca: è stato già dimostrato che essi oltre ad essere coinvolti nella regolazione della fluidità e permeabilità della membrana, incluse le cosiddette zattere lipidiche (*lipid rafts*), sono anche importanti mediatori dell'infiammazione, sia come attivatori che nelle fasi di risoluzione, proprio grazie ai mediatori che provengono da essi, dopo il distacco dalla membrana.

Al riguardo, è ben noto che l'Acido Arachidonico (AA, che è un PUFA omega 6) è un iniziatore della cascata infiammatoria, perché da esso vengono sintetizzate le prostaglandine della serie 2. La sintesi avviene nel citoplasma ad opera di enzimi (cicloossigenasi), ma ciò accade solo dopo che l'AA viene rilasciato dai fosfolipidi di membrana, ad opera dell'enzima fosfolipasi (PLA2).

Parallelamente alla liberazione di AA e alla produzione di prostaglandine ed eicosanoidi che inviano un primo gruppo di segnali, i lisofosfolipidi (molecole di fosfolipidi prive di acido grasso) possono generare altri mediatori come gli endocannabinoidi, gli attivatori piastrinici o di risposte immunitarie (9). In ogni caso, al rilascio del fosfolipide deve seguire il cosiddetto rimodellamento, ovvero il ripristino dell'integrità di membrana con la sostituzione del fosfolipide mancante. Tale ciclo, detto ciclo di Land (10), è la vera risorsa della cellula in senso epigenetico. Infatti, è proprio attraverso la risposta agli stimoli che provengono dall'esterno e che innescano il ricambio dei fosfolipidi, che la cellula ha l'opportunità di riorganizzare in modo appropriato la composizione della membrana. L'opportunità metabolica creata dallo stimolo si tramuta in uno svantaggio nel caso in cui il soggetto non abbia adeguate risorse lipidiche. Ad esempio se uno stimolo libera PUFA omega-6 e omega-3 e il soggetto invece presenta nel suo organismo una maggiore percentuale di omega-6, la sostituzione non avverrà in modo bilanciato, rendendo così la membrana più ricca di omega-6 a discapito degli omega 3, rispetto alla sua composizione prima dello stimolo.

In tale situazione la risposta cellulare allo stimolo non è più un'opportunità di ricambio ma bensì di squilibrio che a livello della membrana si manifesta, nell'esempio sopra descritto, con l'arricchimento della componente omega-6, allontanandosi dai valori ottimali di questi componenti lipidici. Questa condizione, anche descritta come infiammazione silente è considerata un fattore di rischio per lo sviluppo di diverse patologie perché favorisce l'instaurarsi di condizioni pro-infiammatorie.

Approccio lipidomico

Mantenere l'equilibrio quali-quantitativo degli acidi grassi nell'organismo è pertanto di cruciale importanza per consentire il naturale smistamento degli stimoli epigenetici dalla membrana all'interno della cellula. Il profilo quali-quantitativo degli acidi grassi può essere

facilmente determinato con l'analisi lipidomica delle membrane cellulari degli eritrociti maturi, per attuare un'efficace prevenzione a livello molecolare. Tenendo conto che si possono introdurre acidi grassi attraverso la dieta, oppure con l'integrazione di opportune formulazioni sinergiche a dosi nutrizionali, la lipidomica rappresenta uno strumento raffinato e affidabile per la scelta di linee guida alimentari personalizzate poiché si basa su un solido razionale scientifico e su metodi analitici ben collaudati.

In alcune malattie come l'obesità (11), l'autismo (12), e anche nell'ambito delle caratteristiche delle discendenze di soggetti longevi (13), sono stati individuati profili caratterizzanti della membrana cellulare (della membrana eritrocitaria in particolare), associabili ai diversi stati di salute. Pertanto, l'analisi lipidomica delle membrane eritrocitarie potrebbe rappresentare un importante strumento utile nella prevenzione e nella pratica medica, nonostante non sia ancora possibile attribuire ai profili di acidi grassi un valore diagnostico o prognostico di malattia: si sta lavorando molto nella ricerca per giungere a ciò. A tal fine, si dovranno effettuare studi di popolazione e in diverse aree geografiche, eseguendo la stessa metodologia analitica e di separazione della frazione riferita all'eritrocita maturo (8), quest'ultima necessaria per il campionamento efficace e ripetibile delle cellule da un campione di sangue.

Gli studi fino ad oggi condotti suggeriscono che l'analisi lipidomica della membrana eritrocitaria possa essere con successo utilizzata nella "prevenzione molecolare" per il suo chiaro significato metabolico-nutrizionale legato alla condizione del soggetto, sia come stile di vita e alimentazione sia come condizione basale per quel che riguarda fenomeni infiammatori. Tale approccio potrebbe anche essere di grande utilità per l'assegnazione di un regime dietetico, con la scelta opportuna delle componenti grasse e per la scelta di una supplementazione nutraceutica personalizzata. In tutte queste valutazioni e decisioni l'analisi lipidomica potrebbe dare un oggettivo sostegno alle scelte sulla base delle necessità individuali.

Conclusioni

La membrana cellulare è un sito epigeneticamente rilevante, il cui equilibrio delle componenti lipidiche può essere monitorato con strumenti di diagnostica molecolare che dovrebbero far parte della medicina del 21° secolo. Ciò consentirebbe la personalizzazione delle scelte e il monitoraggio della risposta individuale offrendo quindi uno strumento importante per il miglioramento della pratica medica con ricadute positive sulla popolazione.

La medicina molecolare offre una nuova prospettiva di valutazione clinica e diagnostica delle patologie umane, nonché strumenti efficaci di salute e prevenzione, attraverso la valutazione dello "stato molecolare" dell'individuo. La genomica, con l'analisi della sequenza del DNA, ha per prima attratto interesse per la ricerca e l'applicazione medica. Più recentemente, l'influenza dell'ambiente e della nutrizione, e altri fattori esterni all'individuo, sono stati valutati quale elementi cruciali di regolazione dell'espressione genica, riuscendo anche a sovvertire la predisposizione geneticamente determinata.

L'epigenetica, e in particolare il profilo degli acidi grassi della membrana cellulare analizzato in senso lipidomico, si propone quindi come strumento importante per la valutazione personalizzata della condizione del soggetto e per l'uso di strategie nutrizionali/nutraceutiche finalizzate al miglioramento della qualità della vita e al buon esito di interventi terapeutici o strategie di prevenzione.

Bibliografia

1. Bush WS, Moore JH. Chapter 11: Genome-Wide Association Study. *PLoS Comput Biol* 2012;8(12):e1002822.
2. Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, Spencer KL, Kwan SY, Nouredine M, Gilbert JR, Schnetz-Boutaud N, Agarwal A, Postel EA, Pericak-Vance MA. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 2005;308:419-21.
3. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M, Tsui LC. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989; 245:1073-80.
4. National Human Genome Research Institute. *Catalog of Published Genome-Wide Association Studies*. Disponibile all'indirizzo: www.genome.gov/gwastudies/; ultima consultazione 25/07/2015.
5. Goldberg AD, Allis D, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell* 2007;128:635-8.
6. Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. *Cell* 2007;128:669-81.
7. Dolinoy DC. The agouti mouse model: an epigenetic biosensor for nutritional and environmental alterations on the fetal epigenome. *Nutr Rev* 2008;66:S7-11.
8. Ferreri C, Chatgialoglu C. The role of fatty acid-based functional lipidomics in the development of molecular diagnostic tools. *Expert Rev Mol Diagn* 2012;12:767-80.
9. Serhan CN. Mediator lipidomics. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2005 Sep;77(1-4):4-14.
10. Lands WEM. Metabolism of glycerolipides: A comparison of lecithin and triglyceride synthesis. *J Biol Chem* 1958;231:883-8.
11. Pietiläinen KH, Sysi-Aho M, Rissanen A, Seppänen-Laakso T, Yki-Järvinen H, Kaprio J, Orešič M. Acquired obesity is associated with changes in the serum lipidomic profile independent of genetic effects – A Monozygotic Twin Study. *PLoS ONE* 2007;2.
12. Ghezzi A, Visconti P, Abruzzo PM, Bolotta A, Ferreri C, Gobbi G, Malisardi G, Manfredini S, Marini M, Nanetti L, Pipitone E, Raffaelli F, Resca F, Vignini A, Mazzanti L. Oxidative Stress and Erythrocyte Membrane Alterations in Children with Autism: Correlation with Clinical Features. *PLoS ONE* 2013;8(6).
13. Puca AA, Andrew P, Novelli V, Viviani Anselmi C, Somalvico F, Cirillo NA, Chatgialoglu C, Ferreri C. Fatty acid profile of erythrocyte membranes as possible biomarker of longevity. *Rejuvenation Res* 2008;11(1):63-72.

PANDEMIE DEL TERZO MILLENNIO: IL RUOLO DELLA REDOXOMICA

Eugenio Luigi Iorio (a), Giovanni Scapagnini (b), Simona Tafuri (c), Vincenzo Mastellone (c),
Francesca Ciani (c)

(a) Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo, Salerno

(b) Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi del Molise, Campobasso

(c) Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II, Napoli

Introduzione

Un fattore di rischio emergente per la salute associato non solo all'invecchiamento precoce ma anche all'insorgenza e/o all'aggravamento di quelle che sono oggi considerate come le "pandemie del terzo millennio" (malattie cardiovascolari, diabete mellito, obesità, patologie neurodegenerative, broncopneumopatia cronica ostruttiva, insufficienza renale cronica, infertilità, ecc.) è rappresentato dall'alterazione dei processi ossido-riduttivi, che può provocare una condizione di stress elettrofilo.

La neonata redoxomica si prefigge di sviluppare un modello operativo in grado di trasferire le conoscenze della biochimica di base delle reazioni redox nella pratica clinica quotidiana al servizio del benessere umano e animale.

Reazioni di ossido-riduzione e metabolismo energetico

Le reazioni di ossido-riduzione sono generate dallo scambio di equivalenti riducenti (elettroni liberi o legati a protoni sotto forma di atomi d'idrogeno) tra una specie donatrice (riducente) e una ricevente (ossidante) (1). Se ne distinguono due tipi, in funzione del numero di equivalenti riducenti trasferiti, le bi-elettroniche e le mono-elettroniche, di significato biologico profondamente differente (2).

Le reazioni di trasferimento bi-elettronico implicano il passaggio di una coppia di equivalenti riducenti da una molecola a un'altra per l'azione catalitica di un enzima appartenente alla classe delle ossido-reduttasi (2). Esse sono direttamente associate al metabolismo energetico propriamente detto e, in definitiva, al rapporto adenosina trifosfato / adenosina difosfato (ATP/ADP). Infatti, quando questo scende al di sotto di una certa soglia critica, la cellula attiva immediatamente le sue vie degradative o cataboliche (es. glicolisi, β -ossidazione degli acidi grassi) attraverso le quali specifiche deidrogenasi, sfruttando le proprietà redox dei coenzimi piridinici (es. nicotinammide-adenindinucleotide, NAD^+) o flavinici (*Flavin-AdeninDinucleotide*, FAD), estraggono coppie di equivalenti riducenti dai rispettivi substrati per inviarle all'ossigeno molecolare, tramite la catena respiratoria mitocondriale: in questo modo la sintesi di ATP aumenta e il rapporto ATP/ADP si normalizza. Viceversa, quando quest'ultimo sale al di sopra di una certa soglia critica, la cellula attiva, laddove è espresso, il ciclo dei pentosi, attraverso il quale il glucosio viene ossidato per via non glicolitica a biossido di carbonio e acqua, consentendo, attraverso due specifiche deidrogenasi (una di esse è la

glucosio-6-fosfato deidrogenasi), il trasferimento di una coppia di equivalenti riducenti alla nicotinammide-adeninucleotide fosfato (NADP⁺); quest'ultima, nella sua forma ormai ridotta (NADPH⁺H⁺) renderà possibile l'innesco di reazioni biosintetiche o anaboliche (es. generazione di acidi grassi e colesterolo), riducendo e riportando alla norma il rapporto ATP/ADP. In questo modo, nel corso del metabolismo cellulare, molecole complesse di glicidi, lipidi e amminoacidi, vengono progressivamente frammentate ad unità bicarboniose attive (acetil-coenzima A) attraverso un articolato processo ossidativo nel corso del quale specifiche deidrogenasi estraggono coppie di equivalenti dai vari substrati e le inviano alla catena respiratoria per produrre l'energia necessaria per tutti i processi vitali; quando i livelli di ATP tornano a salire oltre un punto critico, le coppie di equivalenti riducenti sono utilizzate per sostenere processi di biosintesi riduttiva, nel corso dei quali l'acetil-CoA è opportunamente "polimerizzato" per generare glicidi, lipidi e amminoacidi (2).

Le reazioni di trasferimento mono-elettronico implicano il passaggio di singoli equivalenti riducenti tra atomi o molecole e sono direttamente associate alla generazione per via enzimatica, di radicali liberi e altre specie reattive, centrate su ossigeno, azoto, carbonio, zolfo o cloro (1, 3). Per quanto riguarda, in particolare, le specie reattive dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS), queste possono essere prodotte nel corso di processi reattivi (es. nei leucociti polimorfonucleati allo scopo di neutralizzare agenti patogeni):

- a livello delle membrane cellulari (per azione della NADPH ossidasi);
- nei mitocondri, nel corso della respirazione (attraverso il processo di riduzione univalente dell'ossigeno, che interessa l'1-2% del gas inspirato quotidianamente);
- nel reticolo endoplasmatico, nel corso dei processi di detossificazione di fase I (attraverso l'attività del sistema del citocromo P450);
- nel citosol, nel corso della biosintesi dell'acido urico (attraverso la xantina ossidasi, nel danno da ischemia-riperfusion) (4-6).

Stress elettrofilo

I radicali liberi e le altre specie reattive prodotte nel corso delle reazioni di trasferimento mono-elettronico giocano un ruolo cruciale non solo nella difesa contro le infezioni e nella protezione contro agenti xenobiotici, come sopra accennato, ma anche nei processi di comunicazione tra le cellule, di trasduzione dei segnali attraverso le membrane e, più in generale, nella modulazione del flusso di informazioni dal DNA alle proteine, inclusi gli adattamenti epigenetici (7). Infatti, per le loro peculiarità (piccole dimensioni, elevata reattività ma brevissima emivita, raggio d'azione ridottissimo, buona diffusibilità), ben si prestano a svolgere il ruolo di mediatori chimici in grado di consentire risposte rapide ed efficaci a vari *stressors*, sempre pronti ad essere disattivati una volta portato a termine il proprio compito. Ne costituisce un eccellente esempio l'ossido di azoto (NO), che attiva il sistema della guanil ciclastasi, successivamente spento dalle fosfodiesterasi.

I radicali liberi, però, a causa della loro tendenza a strappare l'elettrone di cui hanno bisogno per stabilizzare il proprio orbitale semi-vuoto, possono reagire non solo con substrati specifici, coinvolti nei processi di trasduzione del segnale, ma anche con altre molecole, come quelle di acidi grassi insaturi, amminoacidi, basi del DNA, ossidandole e, quindi compromettendone le funzioni (1, 4). Per questo motivo la loro attività è tenuta costantemente sotto controllo da una serie di modulatori chimici, impropriamente definiti antiossidanti, il cui ruolo è semplicemente quello di cedere l'elettrone di cui essi necessitano; in questo modo molecole chiave per il corretto funzionamento cellulare verranno preservate dall'insulto ossidativo. Il venir meno di questo meccanismo di controllo determinerà l'incremento dei livelli di specie reattive e quindi

l'insorgenza di una condizione di stress ossidativo (6). In realtà, considerando che, secondo la teoria di Lewis, gli acidi sono agenti in grado di strappare elettroni (in coppia) da una base, le stesse condizioni metaboliche inquadrare nel concetto di acidosi sono da ricondursi allo stesso fenomeno chimico dell'ossidazione, per cui è stato proposto di ampliare il concetto di stress ossidativo, inglobando anche quello di stress acido in un'entità unica: lo stress elettrofilo. D'altronde gli antichi Greci usavano il termine *oxys* (che oggi usiamo per l'ossidazione) per indicare gli acidi.

Lo stress elettrofilo rappresenta un fattore emergente di rischio per la salute, perché risulta associato non solo all'invecchiamento precoce, ma anche all'insorgenza e/o aggravamento di diverse patologie (8). Purtroppo, al contrario di queste condizioni, lo stress elettrofilo non dà luogo ad un suo quadro clinico peculiare, ma si nasconde dietro al corteo sintomatologico del disordine di base, delineandosi come l'effetto indesiderato della rottura di un equilibrio biochimico e, come tale, individuabile solo se il medico, insospettito dai dati clinico-anamnestici rilevati, sottopone il paziente a specifici test di laboratorio (8).

Redoxomica nella pratica clinica

Attualmente, una valutazione del bilancio ossidativo, a partire da un prelievo di sangue o da altri fluidi biologici (escrezioni, secrezioni, trasudati, essudati) o, meno spesso, da tessuti, può essere agevolmente eseguita in laboratori adeguatamente attrezzati, attraverso diversi test che misurano, rispettivamente, la capacità ossidante e antiossidante totale di un campione di siero o plasma (8, 9). Il sorprendente sviluppo delle tecniche di biochimica e di biologia molecolare, spesso associate alla bio-informatica e alla robotica, nell'ambito della neonata biologia dei sistemi, ha consentito negli ultimi anni di identificare, quantificare e individuare in diversi organismi viventi la distribuzione di svariate migliaia di specie chimiche, secondo le varie classi o famiglie (glicidi, lipidi, amminoacidi, peptidi, proteine, nucleotidi, acidi nucleici, ecc.).

Sono nate così, le varie "omiche": genomica, trascrittomica, metabolomica, proteomica, lipidomica, glicomica, ecc. In questo nuovo scenario, lo studio sistematico delle specie chimiche reattive e dei loro sottoprodotti di ossidazione (es. idroperossidi, malonildialdeide, isoprostani, 8-idrossideossiguanosina, ecc.), unito alla determinazione del profilo degli antiossidanti (enzimatici e non enzimatici), si colloca in una posizione centrale e non a valle, rispetto allo studio del DNA, dell'RNA, delle proteine e degli altri principali metaboliti (glicidi e lipidi).

La redoxomica si propone come una nuova branca della biochimica applicata le cui finalità sono:

- analizzare la struttura, il ruolo fisiologico e la distribuzione delle diverse specie reattive (radicaliche e non radicaliche) e dei sistemi antiossidanti (endogeni ed esogeni) in un organismo vivente;
- mettere in rilievo le reciproche interazioni metaboliche di un sistema biologico (cellula, tessuto, organo, apparato, sistema, organismo intero), in una determinata fase dello sviluppo, in condizioni basali e/o dopo stimoli potenzialmente stressanti;
- valutare le implicazioni biologico-evolutive, epidemiologiche, fisio-patologiche, clinico-terapeutiche, ecc.

Conclusioni

Ovviamente, saranno necessarie ancora ulteriori evidenze per aiutare il clinico, alla luce degli strumenti attualmente in suo possesso (anamnesi, esame obiettivo, indagini di laboratorio convenzionali, indagini strumentali), ad interpretare in maniera sempre più affidabile i dati analitici forniti dalla redoxomica e a tradurli in maniera più rigorosa nella pratica professionale quotidiana. Al momento, comunque, i risultati degli studi finora pubblicati appaiono molto incoraggianti ed è già possibile intravederne i possibili campi di applicazione, dalla prevenzione al monitoraggio fino al trattamento delle più comuni e invalidanti “pandemie del III millennio”.

Si spera, in particolare, che tale studio sistematico aiuti a correggere certe visioni distorte della biochimica, che ancora relegano le specie chimiche ossidanti a meri agenti tossici e gli antiossidanti alla panacea contro tutti i mali, per aprire ad un’interpretazione sì critica ma anche più dinamica e globale delle funzioni delle specie reattive come indispensabili compagni di viaggio della vita cellulare.

Infine, è auspicabile che questo approccio innovativo possa contribuire a rendere l’analisi clinica più personalizzata, ossia attenta alla persona e in grado di rispondere al suo specifico bisogno di benessere. In tale ottica, le varie “omiche” attualmente disponibili non vanno considerate tra di loro in antitesi, quanto, piuttosto, come possibili elementi di un ventaglio di opzioni diagnostiche capaci di rispondere alle diverse e specifiche esigenze di un sistema così complesso come l’organismo umano.

Bibliografia

- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press; 1989.
- Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company; 2005.
- Gardes-Albert M. Physico-chemical aspects of reactive oxygen species. *Ann Pharm Fr* 2006;64(6):365-72.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(1):44-84.
- Delattre J. Introduction: from molecular oxygen to oxidative stress and radical biochemistry. *Ann Pharm Fr* 2006;64(6):363.
- Favier A. Oxidative stress in human diseases. *Ann Pharm Fr* 2006;64(6):390-6.
- Cyr AR, Domann FE. The redox basis of epigenetic modulations: from mechanisms to functional consequences. *Antioxid Redox Signal* 2011;15(2):551-89.
- Iorio EL, Balestrieri ML. Lo stress ossidativo. In: Burlina A, Balestrieri C (Ed.). *Trattato Italiano di Medicina di Laboratorio*. Padova: Piccin; 2009 .p 533-49.
- Regano N, Iorio EL, Guglielmi A, Mazzuoli S, Francavilla A, Fregnan S, Leogrande G, Guglielmi Fw. The assessment of oxidative stress in clinical practice and its importance in nutrition. *Nutritional Therapy & Metabolism* 2008. 26(4):149-62.
- Iorio EL, Marin MG. Redoxomics. An integrated and practical approach to genomics, metabolomics and lipidomics to manage oxidative stress. *Gen-T*. 2008;2:67.3.

LIPOPROTEINE PLASMATICHE A BASSA DENSITÀ NELLA PATOGENESI DELL'INSULINO-RESISTENZA

Beatrice Scazzocchio, Ilaria Del Gaudio, Roberta Masella

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Stress ossidativo nella patogenesi dell'aterosclerosi

Lo stress ossidativo è una condizione patologica in cui si instaura uno squilibrio irreversibile tra specie pro-ossidanti e specie antiossidanti a favore delle prime. Lo stress ossidativo svolge un ruolo fondamentale nella patogenesi di diverse malattie degenerative come l'aterosclerosi e le malattie cardio-cerebrovascolari, il diabete di tipo 2, le malattie neurodegenerative e il cancro.

Le reazioni ossidative sono una parte essenziale dei processi metabolici perché l'ossigeno è l'accettore finale nel sistema mitocondriale di trasporto di elettroni che produce adenosina trifosfato (ATP). Qualora il flusso di elettroni e la produzione di energia non sono più accoppiati, si ha la produzione di una vasta gamma di radicali liberi derivati dall'ossigeno (ossidrile OH, perossile O₂, radicali RO) e di derivati non radicali (anione superossido O₂⁻, perossido d'idrogeno H₂O₂), collettivamente indicati come ROS (*Reactive Oxygen Species*). I ROS vengono continuamente prodotti all'interno della cellula, in particolare nei mitocondri e nei perossisomi (1) e possono essere generati come conseguenza del metabolismo di sostanze estranee, tossine, farmaci, alimenti o per esposizione a fattori ambientali quali inquinanti, metalli pesanti o radiazioni ultraviolette (2). A bassi livelli fisiologici, i ROS possono agire come 'messaggeri redox' nelle vie di segnale intracellulare, mentre, all'opposto, livelli elevati possono innescare processi infiammatori, apoptosi o necrosi (1). Numerose evidenze indicano che lo stress ossidativo determinato dall'aumento dei ROS, e in particolare di O₂⁻, innesca e amplifica il processo aterosclerotico poiché determina alterazioni dell'espressione genica, promuove l'infiammazione e la disfunzione endoteliale. È ormai largamente riconosciuto che lo stato funzionale dell'endotelio, l'infiammazione e lo stress ossidativo giocano un ruolo chiave in tutte le fasi dell'aterosclerosi (3, 4). La malattia aterosclerotica è caratterizzata dall'attivazione delle cellule endoteliali, dall'infiltrazione di cellule bianche del sangue (soprattutto monociti e linfociti) richiamate da fattori chemiotattici secreti dalle cellule endoteliali, dalla migrazione di cellule muscolari lisce dalla media all'intima delle arterie (5, 6) e dall'accumulo di grasso, in particolare colesterolo, nell'intima dei vasi. Questo porta alla formazione di aree più o meno estese di accumulo di colesterolo e formazione di lesioni vasali dette placche aterosclerotiche, dovute all'interazione di macrofagi, cellule T e lipoproteine a bassa densità ossidate (*oxidized Low-Density Lipoprotein, oxLDL*).

Attività biologica delle lipoproteine LDL

Le LDL sono normalmente coinvolte nel trasporto di colesterolo e nutrienti attraverso le pareti dei vasi. L'ingresso nelle cellule è modulato da recettori specifici, il cui turnover è regolato dalla quantità di colesterolo presente all'interno della cellula, in modo da evitarne un eccessivo accumulo. Se la permanenza in circolo delle LDL si prolunga, o per una eccessiva

sintesi o per un deficit di attività del recettore, esse possono andare incontro a modificazioni chimiche quali ossidazione, acetilazione e coniugazione con aldeidi (Figura 1).

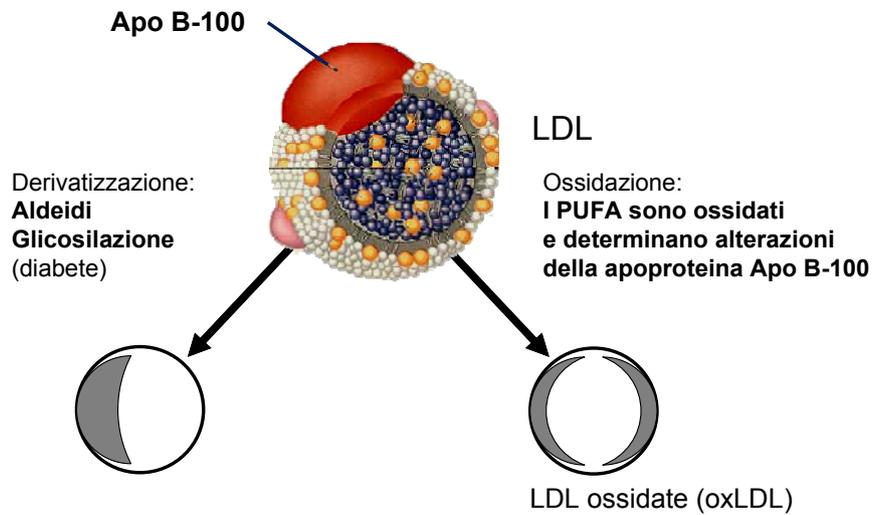


Figura 1. Modificazioni chimiche delle LDL

Le LDL modificate non vengono più riconosciute dal recettore specifico regolato a feedback negativo, ma vengono invece legate da recettori *scavenger* presenti sui macrofagi. Le oxLDL, internalizzate dal macrofago, causano la sua conversione in *foam cell* (cellule schiumose) a causa dell'accumulo intracellulare di lipidi (Figura 2).

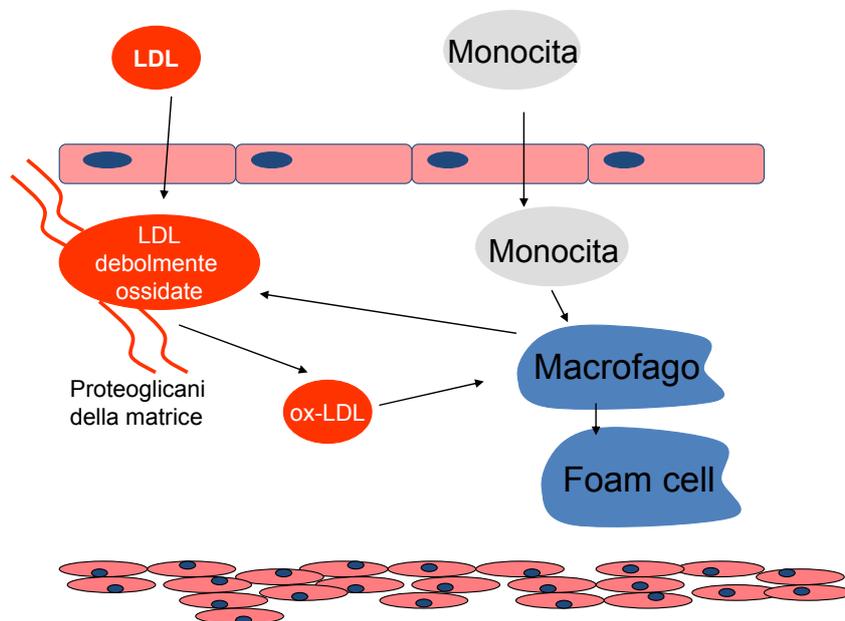


Figura 2. Processo di formazione della *foam cell*

Molte evidenze sperimentali hanno dimostrato che le oxLDL sono in grado di modulare svariate attività biologiche, probabilmente per la presenza di lipidi ossidati che possono fungere da messaggeri di segnale intracellulare. Inoltre, si sta concretizzando l'ipotesi che le oxLDL possano interagire con il tessuto adiposo e che quest'ultimo possa avere un ruolo non marginale nel metabolismo di queste lipoproteine modificate. In particolare, noi abbiamo dimostrato che le oxLDL alterano i processi cellulari coinvolti nel mantenimento dell'omeostasi del tessuto adiposo e nella regolazione della massa grassa. Esse, infatti, sono in grado di influenzare i processi cellulari di base come apoptosi, proliferazione e differenziamento (7). La principale funzione del tessuto adiposo per lungo tempo è stata considerata quella di immagazzinare grassi che possano poi essere rilasciati durante periodi di digiuno o di deprivazione prolungata di cibo. Negli ultimi 20 anni però è radicalmente mutata la considerazione del mondo scientifico nei confronti delle funzioni del tessuto adiposo che è oggi considerato un vero e proprio organo endocrino, alla luce della sua significativa attività secretoria. Il tessuto adiposo, in particolare quello a localizzazione viscerale, è formato da adipociti e da altri tipi cellulari che compongono nel loro insieme la parte stromo-vascolare formata da preadipociti, cellule immuni (macrofagi, monociti, linfociti), cellule endoteliali e fibroblasti. Gli adipociti producono sostanze, le cosiddette adipocitochine, che svolgono importanti attività regolatorie in modo autocrino, paracrino ed endocrino (Figura 3).

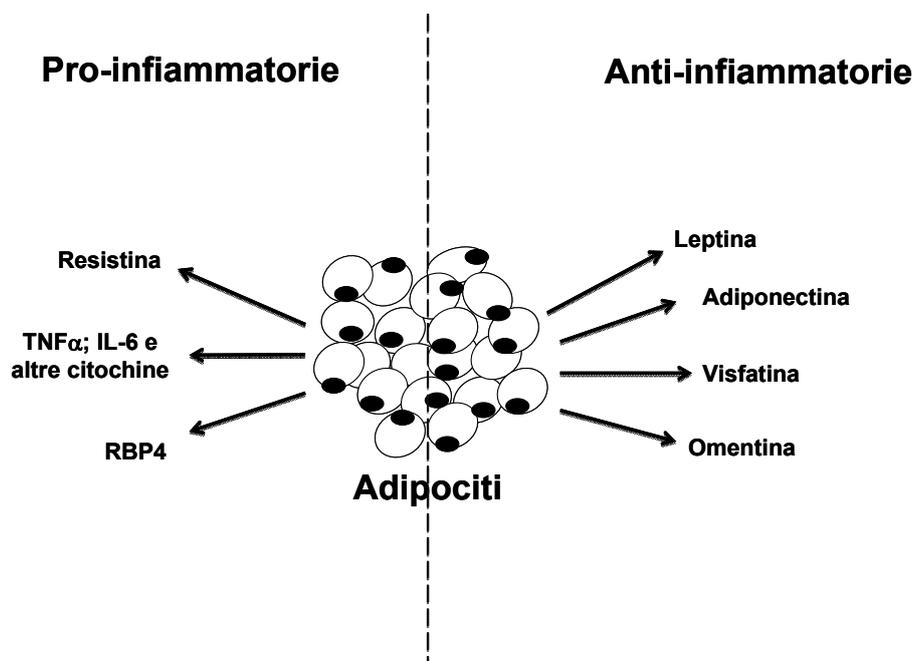


Figura 3. Adipochine pro-infiammatorie e anti-infiammatorie

Alterazioni della funzionalità adipocitaria, dovute per esempio ad accumulo di grasso intracellulare, possono quindi avere conseguenze a livello sistemico. A questo riguardo, l'accumulo di grasso viscerale è associato alla comparsa di malattie cardiovascolari, diabete tipo 2 e Insulino-Resistenza (IR). D'altra parte, è stato dimostrato che LDL ossidate sono presenti a livelli più elevati rispetto ai controlli sani, nel plasma non solo di pazienti con aterosclerosi, ma anche di pazienti obesi e con diabete di tipo 2 (8). Inoltre, molte evidenze sperimentali hanno

dimostrato che le oxLDL sono in grado di influenzare svariate attività cellulari come proliferazione, apoptosi e differenziamento, modulando, ad esempio, la produzione di citochine e quella di fattori di trascrizione come il *Peroxisome Proliferator Activated Receptor* (PPAR) e il *Nuclear Factor-kappa B* (NF- κ B). Le oxLDL potrebbero, quindi, contribuire alla comparsa di obesità e delle sue complicanze, alterando i processi cellulari coinvolti nel mantenimento dell'omeostasi del tessuto adiposo e nella regolazione della massa grassa. Lo stress ossidativo e l'infiammazione giocano quindi un ruolo importante nella patogenesi dell'insulino-resistenza.

Lipoproteine LDL e trasporto del glucosio

I livelli di glucosio ematico dipendono dall'insulina che regola l'entrata del glucosio nelle sue cellule *target*, precisamente in cellule muscolari e adipociti. L'internalizzazione del glucosio nelle cellule *target* dell'insulina è mediata dal trasportatore di glucosio il *GLU*ose *Transporter 4* (GLUT4) che fra tutti è quello maggiormente sensibile all'ormone. Il legame dell'insulina al suo recettore di membrana innesca una serie di segnali a catena che iniziano con l'attivazione del substrato del recettore dell'insulina, *Insulin Receptor Substrate 1* (IRS-1) e, attraverso la successiva attivazione a cascata di specifiche chinasi, culminano con la traslocazione del GLUT4 dalle vescicole intracitoplasmatiche in cui è conservato, alla membrana plasmatica (Figura 4).

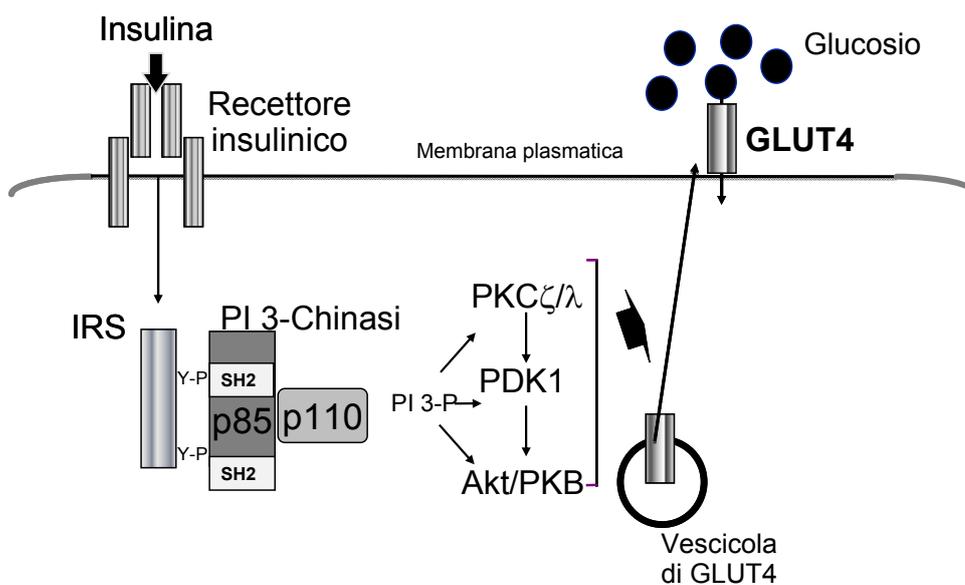


Figura 4. Catena di trasmissione del segnale insulinico

Si è dimostrato che nelle cellule muscolari di pazienti diabetici l'espressione di GLUT4 in membrana è fortemente ridotta (9). Partendo da tutti questi presupposti, la nostra ipotesi di lavoro è stata quella di studiare se le oxLDL potessero avere un ruolo nella patogenesi dell'IR alterando la capacità degli adipociti di rispondere all'insulina. In particolare è stato dimostrato

che le oxLDL sono in grado di indurre insulino-resistenza in adipociti murini 3T3-L1 e in adipociti primari umani isolati da biopsie di tessuto viscerale riducendo la capacità delle cellule di rispondere all'azione dell'insulina, attraverso l'attivazione di serin/treonin chinasi che sono coinvolte nell'infiammazione e che alterano la normale via di trasduzione del segnale insulinico (10, 11) (Figura 5).

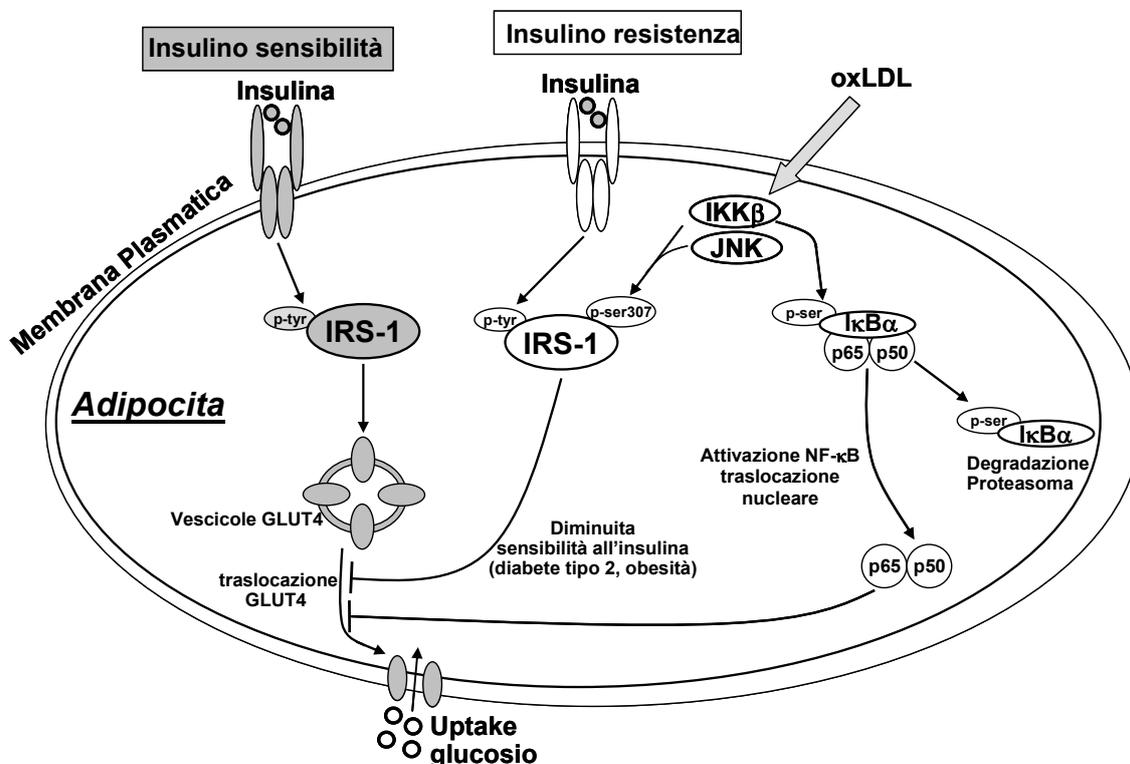


Figura 5. Rappresentazione schematica degli effetti delle oxLDL sulla sensibilità insulinica

Conclusioni

Prevenire e contrastare la comparsa di insulino-resistenza è evidentemente uno dei principali obiettivi da raggiungere per preservare la salute della popolazione. Esistono vari tipi di farmaci ipoglicemizzanti più o meno efficaci, spesso controindicati in particolari tipologie di pazienti, a volte con effetti collaterali abbastanza preoccupanti. Si sente quindi la necessità di individuare nuovi approcci terapeutici che permettano di migliorare l'efficacia e la sicurezza. Pertanto, gli studi volti a definire più accuratamente i meccanismi alla base del processo disfunzionale dell'organo adiposo e gli interventi volti a migliorare l'azione insulinica sono stati, e rimangono, oggetto di ricerca al fine di prevenire e/o curare le malattie cardio-metaboliche correlate.

Bibliografia

1. Del Río L A, Sandalio LM, Corpas FJ, Palma JM, Barroso JB. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiol* 2006;141(2):330-5.
2. Ichihashi M, Ueda M, Budiyanto A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T. UV-induced skin damage. *Toxicology* 2003;189(1-2):21-39.
3. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92(3):657-71.
4. Davies M. Going from immutable to mutable atherosclerotic plaques. *Am J Cardiol* 2001;88(4A):2F-9F.
5. Ross R. Atherogenesis-An inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340(2):115-26.
6. Krams R, Cuhlmann S, Foin N, Evans P. Shear stress, inflammation and Atherosclerosis. *Artery Res* 2010; 4(2):41-6.
7. D'Archivio M, Scazzocchio B, Filesi C, Vari R, Maggiorrella MT, Sernicola L, Santangelo C, Giovannini C, Masella R. Oxidised LDL upregulate CD36 expression by the Nrf2 pathway in 3T3-L1 preadipocytes. *FEBS Lett* 2008;582(15):2291-8.
8. Couillard C, Ruel G, Archer WR, Pomerleau S, Bergeron J, Couture P, Lamarche B, Bergeron N. Circulating Levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005;90(12):6454-9.
9. Zierath JR, He L, Gumà A, Odegaard Wahlström E, Klip A, Wallberg-Henriksson H. Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Diabetologia* 1996;39(10):1180-9.
10. Scazzocchio B, Vari R, D'Archivio M, Santangelo C, Filesi C, Giovannini C, Masella R. Oxidized LDL impair adipocyte response to insulin by activating serine/threonine kinases. *J Lipid Res* 2009;50(5):832-845.
11. Scazzocchio B, Vari R, Filesi C, D'Archivio M, Santangelo C, Giovannini C, Iacovelli A, Silecchia G, Li Volti G, Galvano F, Masella R. Cyanidin-3-O- β -glucoside and protocatechuic acid exert insulin-like effects by upregulating PPAR γ activity in human omental adipocytes. *Diabetes* 2011;60(9):2234-44.
12. Werner ED, Lee J, Hansen L, Yuan M, Shoelson SE. Insulin resistance due to phosphorylation of insulin receptor substrate-1 at serine 302. *J Biol Chem* 2004; 279(34):35298-305.

DIETA, INFIAMMAZIONE E CANCRO: IL RUOLO CHIAVE DEL TESSUTO ADIPOSO

Manuela Del Cornò, Gloria Donninelli, Sandra Gessani
Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Tessuto adiposo: caratteristiche e funzioni

Il Tessuto Adiposo (TA) è una varietà di tessuto connettivo costituito da cellule disperse in un'abbondante matrice extracellulare, tenute blandamente insieme da un'impalcatura di fibre di collagene e circondate da vasi sanguigni e nervi (1). Gli adipociti rappresentano circa il 30% del contenuto cellulare del TA. Nel telaio di supporto, insieme alla frazione stromo-vascolare, sono presenti cellule mesenchimali, fibroblasti, preadipociti, cellule endoteliali e del sistema immunitario. Negli individui normopeso il TA rappresenta circa il 20% del peso totale, ma può arrivare al 50% in individui obesi.

Questo tessuto è suddiviso in due tipi principali, il TA bianco e il TA bruno. Gli adipociti presenti nelle due diverse tipologie condividono l'importante funzione di stoccaggio e mobilizzazione dei lipidi ma differiscono per diversi aspetti morfologici e funzionali (Tabella 1).

Tabella 1. Principali differenze morfologiche e funzionali del tessuto adiposo bianco e bruno

Proprietà	Tessuto adiposo bianco	Tessuto adiposo bruno
Funzione principale	Riserva energetica	Termogenesi
Distribuzione	Estesa	Limitata
Vascularizzazione	Scarsa	Estesa
Gocce lipidiche	Uniloculari	Multiloculari
Metabolismo acidi grassi	Rilascio acidi grassi	Beta-Ossidazione
Mitocondri	Scarsi	Numerosi
Termogenina	Assente	Presente

Nella specie umana, il TA bruno è principalmente rappresentato nel neonato ed è specializzato nella produzione di calore, mentre il TA bianco predomina nell'adulto e ha come funzioni principali quella meccanica di protezione degli organi interni, termoisolante e di riserva energetica.

Per molto tempo il TA è stato considerato come un tessuto meramente deputato all'accumulo e rilascio di acidi grassi in risposta ai bisogni energetici dell'organismo, e dotato di scarsa attività metabolica. Nell'ultimo decennio, gli studi riguardanti il TA, in particolare quello bianco, hanno subito un forte impulso a causa del notevole incremento dell'obesità a livello mondiale sia nell'età adulta che infantile, rendendo quindi necessaria una maggiore comprensione delle sue funzioni. I risultati di questi studi hanno permesso una nuova definizione del TA per cui si è passati dal concetto di organo metabolicamente inerte al concetto di organo complesso metabolicamente attivo che svolge importanti funzioni immunologiche, endocrine e rigenerative (2).

Il TA è oggi considerato l'organo endocrino più grande del corpo in grado di secernere più di 50 molecole diverse, collettivamente chiamate adipochine. Le adipochine sono una classe di proteine, estremamente eterogenee per struttura e funzione, coinvolte in vari processi fisiologici e patologici, secrete non soltanto dagli adipociti, ma anche dalle cellule stromo-vascolari e del sistema immunitario che compongono il tessuto. In base alla localizzazione nei vari distretti dell'organismo, il TA bianco può essere inoltre classificato in sottocutaneo (al di sotto della pelle) o viscerale (intorno agli organi interni), cui corrispondono funzioni energetiche, attività di immagazzinamento e rilascio di acidi grassi, attività metabolica e secretoria diverse (3) (Tabella 2). Le differenze non sono solo quantitative ma riguardano anche la qualità dei prodotti secreti. Nel TA viscerale gli adipociti sono caratterizzati da maggiori dimensioni e stabiliscono una relazione più stretta con il sistema immunitario, mentre rispondono meno agli ormoni quali ad esempio l'insulina e i glucocorticoidi. Non è sorprendente, quindi, che l'accumulo del TA viscerale, più che del sottocutaneo, rappresenti un fattore di rischio per diverse patologie associate all'obesità (4).

Tabella 2. Caratteristiche del tessuto adiposo bianco (TA viscerale e sottocutaneo)

Proprietà	TA viscerale	TA sottocutaneo
Attività metabolica	Alta	Bassa
Attività secretoria	Alta	Bassa
Prodotti secretori principali	Adiponectina, Angiotensina, PAI	Leptina
Tipologia adipociti	Grandi	Piccoli
Correlazione con insulino-resistenza	Positiva	Negativa
Risposta ormonale (insulina, glucocorticoidi)	Bassa	Alta
Infiltrato leucocitario	Abbondante	Scarso

Tessuto adiposo e infiammazione

Il termine 'infiammazione' racchiude in sé una varietà di processi fisiologici e patologici volti al mantenimento dell'omeostasi, indipendentemente dalla causa che la provoca. Il concetto tradizionale dell'infiammazione come una reazione a un assalto microbico o danno tissutale è stato nel corso degli ultimi anni espanso e rivisto per riuscire a spiegare tutti quei tipi di infiammazione osservabili in condizioni di rottura dell'omeostasi. È adesso nota l'esistenza di una risposta infiammatoria sterile di basso grado, persistente in tessuti metabolicamente attivi quali il TA, fegato, pancreas, muscolo e cervello, denominata "meta-infiammazione" (5). Le cellule del sistema immunitario hanno un ruolo importante nell'insorgenza/mantenimento di questa risposta infiammatoria, parte integrante della progressione di malattie metaboliche, neurodegenerative e cardiovascolari. All'interno del TA sono rappresentate tutte le popolazioni cellulari appartenenti al sistema immunitario (6) e numerosi studi condotti sia in modelli animali che nell'uomo hanno evidenziato come l'eccessivo accumulo di grasso determini cambiamenti molto profondi nella tipologia di cellule immuni presenti nel TA viscerale. Nella condizione di normopeso nel TA sono abbondanti le popolazioni con attività anti-infiammatoria (macrofagi M2, linfociti Th2, eosinofili, cellule T regolatorie), che attraverso la produzione di fattori inibitori tengono sotto controllo le cellule effettrici dell'infiammazione, mentre sono poco rappresentati i tipi cellulari con proprietà pro-infiammatorie (macrofagi M1, linfociti Th1) responsabili del rilascio di citochine/chemochine che promuovono l'infiammazione. Viceversa, l'obesità determina un cambiamento nel fenotipo e nel numero delle cellule immunitarie verso una risposta infiammatoria tipica M1/Th1 (Figura 1) (7).

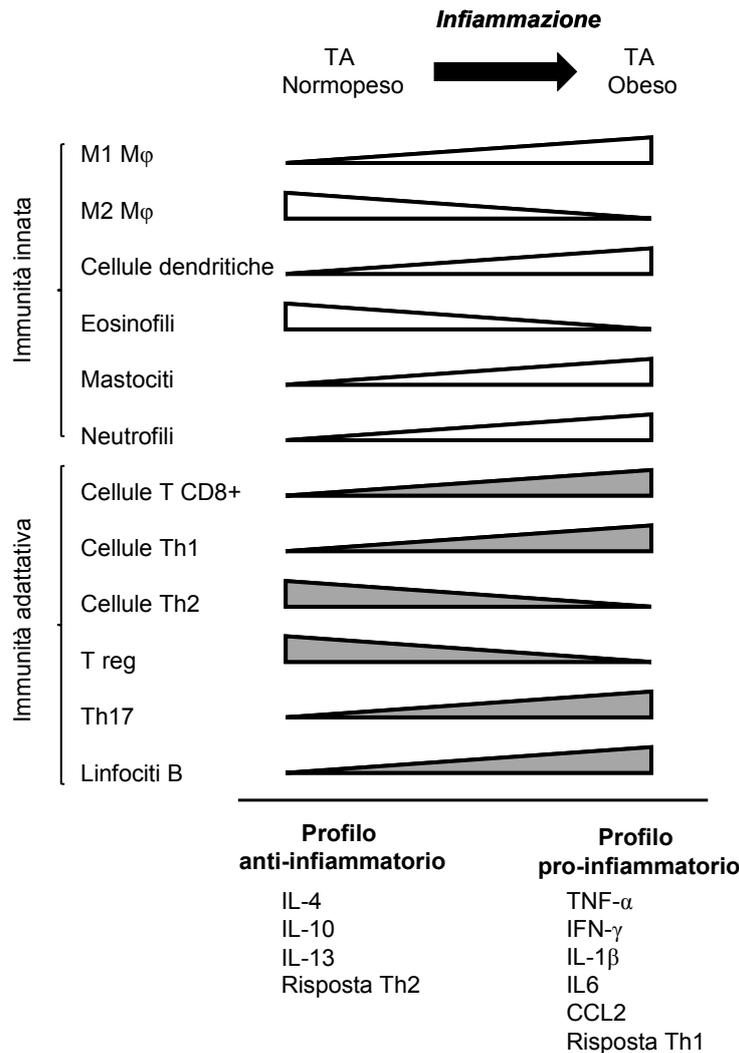


Figura 1. Cellule immuni residenti nel tessuto adiposo e loro alterazioni nell'obesità

Inflammation and obesity: role of diet

L'obesità, manifestazione fenotipica di un accumulo anormale di grasso nel TA, è oggi considerata una malattia infiammatoria cronica, caratterizzata da un basso grado d'infiammazione sistemica e risultato di risposte immunitarie alterate (8). Il ruolo emergente dell'infiammazione cronica nelle principali malattie degenerative della società moderna ha stimolato un'intensa attività di ricerca sull'influenza della nutrizione e dei profili dietetici sull'indice infiammatorio. La scoperta delle interazioni tra l'adipocita e le cellule del sistema immunitario, dell'infiammazione come processo chiave in obesità e nelle patologie ad essa correlate, ha fatto sì che ci si ponesse una domanda molto importante, cioè se la dieta può influenzare l'infiammazione del TA. Ciò ha stimolato lo sviluppo di diversi studi volti a definire

se l'assunzione di determinati alimenti o categorie di cibo potesse modificare *marker* di infiammazione sistemici quali la proteina C reattiva, l'interleuchina 6 (IL-6) e il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF- α). I risultati di questi studi mostrano che sebbene la composizione della dieta abbia un effetto modesto sui livelli di espressione di singole molecole infiammatorie, influenza significativamente l'insorgenza dell'infiammazione cronica di basso grado. Evidenze sperimentali indicano come ad esempio l'assunzione di fibre, magnesio, acidi grassi polinsaturi $\omega 3$ e monoinsaturi, flavonoidi e carotenoidi, sia associata con bassi livelli di *marker* infiammatori nel siero, mentre acidi grassi saturi, un rapporto di acidi grassi $\omega 6/\omega 3$ alto e un elevato consumo di carboidrati semplici siano associati con l'infiammazione sistemica (9). Di conseguenza, l'utilizzo di "cibo funzionale", ovvero di nutrienti specifici o componenti bioattivi del cibo capaci di influenzare beneficamente una o più funzioni dell'organismo, è oggi oggetto di intense ricerche per il potenziale terapeutico o come forma di medicina preventiva (10). In particolare alcuni composti, quali ad esempio i polifenoli, sono in grado di modulare efficientemente, in diverse condizioni sperimentali, vie metaboliche di malattie croniche, e gli equilibri di processi quali l'infiammazione, l'apoptosi, lo stress ossidativo e di interferire con l'espressione genica (11). Appare quindi chiaro che ogni tentativo di definire una dieta ottimale per la salute deve considerare l'impatto di questa sull'infiammazione sistemica, risultato dell'adiposità viscerale e degli effetti diretti e indiretti di nutrienti sui componenti stessi della risposta infiammatoria.

Obesità come fattore di rischio tumorale

Studi estensivi sui fattori di rischio legati all'insorgenza del cancro hanno dimostrato che i fattori genetici contribuiscono solo per il 5% dei tumori, mentre il restante 95% è attribuibile a cause ambientali (12), dagli stimoli esterni agli stili di vita. Di conseguenza, interventi sull'ambiente, specialmente quelli legati a comportamenti individuali di abuso di sostanze quale il fumo e l'alcol, la scarsa attività fisica e diete inadeguate, possono influenzare il rischio di sviluppare tumori (13).

L'importanza di una sana alimentazione nella prevenzione del cancro è ormai accertata. L'*American Institute for Cancer Research* ha calcolato che le cattive abitudini alimentari sono responsabili di circa il 30% dei tumori nei Paesi occidentali, facendo della dieta una delle principali cause prevenibili delle malattie neoplastiche, seconda solo al tabacco (14). In alcuni casi ciò dipende dalla presenza in alcuni cibi di sostanze che favoriscono lo sviluppo della malattia (nitriti e nitrati, aflatossine, grassi e proteine animali, ecc.). Tra le neoplasie che risentono di più della quantità e della qualità dei cibi ci sono ovviamente i tumori dell'apparato gastrointestinale, e in particolare quelli dell'esofago, dello stomaco e del colon-retto. Gli studi più recenti hanno però messo in evidenza che l'azione del cibo sul rischio di sviluppare neoplasie è molto più estesa: il tipo di alimentazione influisce infatti sullo stato di infiammazione, che può predisporre a ogni forma di cancro, e sull'equilibrio ormonale, che può favorire od ostacolare lo sviluppo dei tumori della sfera genitale sia femminile che maschile (15). Il legame tra infiammazione e cancro è stato notato per la prima volta come associazione tra malattie infiammatorie e aumentato rischio di sviluppare tumori in quell'organo. La presenza di infiammazione cronica, quale si manifesta nell'obesità, rappresenta quindi un fattore di rischio importante per le malattie neoplastiche (16). L'eccesso di TA, infatti, produce citochine infiammatorie, fattori di crescita e ormoni, aumenta il danno ossidativo e direttamente altera l'espressione genica, tutti meccanismi che possono contribuire allo sviluppo tumorale. In particolare, dati aggiornati del *World Cancer Research Fund* dimostrano come l'eccesso di grasso corporeo, misurato come indice di massa corporea, è legato a un aumentato rischio di

sviluppare 9 diverse tipologie neoplastiche quali il tumore mammario in donne in post-menopausa, colon-rettale, ovarico, endometriale, pancreatico, epatico, esofageo, prostatico e della cistifellea. I meccanismi che portano a una maggiore incidenza di questi tumori in individui obesi sono molteplici e riconducibili in gran parte alla produzione deregolata di fattori pro-infiammatori e ormoni, alterazioni della risposta immune e del metabolismo del glucosio osservabili nell'obesità (17).

Conclusioni

Le condizioni di diffuso benessere della società occidentale hanno fatto emergere nuovi e preoccupanti problemi per la salute umana, quali il sovrappeso e l'obesità che hanno assunto le dimensioni di una vera e propria pandemia. Tale condizione predispone a un maggior rischio di sviluppare neoplasie ed è alla base di numerosi stati patologici obesità-associati, nei quali lo stato infiammatorio cronico gioca un ruolo importante. Nonostante i meccanismi molecolari alla base dell'aumento del rischio di cancro nell'obesità non siano ancora del tutto chiari, è evidente il ruolo chiave e dinamico degli adipociti e delle loro interazioni con il sistema immunitario nel TA viscerale. Una migliore comprensione di queste interazioni potrà fornire una base importante per la programmazione di strategie preventive e terapeutiche più efficaci e volte a ridurre, in una popolazione mondiale sempre più obesa, il rischio del cancro e la conseguente mortalità. Le recenti acquisizioni sulle potenzialità preventive e terapeutiche di specifici profili dietetici o componenti del cibo in diverse patologie, così come sulla loro capacità di modulare lo stato infiammatorio, hanno aperto nuove prospettive per lo sviluppo di strategie nutrizionali volte a mantenere il giusto tono infiammatorio e prevenire lo sviluppo di malattie croniche infiammazione-mediate. A tale riguardo è importante sottolineare che l'impatto complessivo, positivo o negativo, della dieta non si basa soltanto su nutrienti isolati quanto piuttosto su profili dietetici, poiché i componenti bioattivi del cibo sono generalmente assunti allo stesso tempo e possono agire in sinergia. Pertanto, è oggi chiara la necessità di modelli di studio volti a caratterizzare i profili dietetici "salutari" capaci di ridurre l'accumulo di grasso e di fornire il giusto apporto di componenti attivi per il mantenimento dell'organismo in uno stato di omeostasi immunologica e per prevenire la meta-infiammazione.

Bibliografia

1. Hassan M, Latif N, Yacoub M. Adipose tissue: friend or foe? *Nat Rev Cardiol* 2012;9(12):689-702.
2. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(6):2548-56.
3. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev* 2010;11(1):11-8.
4. Schaffler A, Muller-Ladner U, Scholmerich J, Buchler C. Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocr Rev* 2006;27(5):449-67.
5. Sharma P. Inflammation and the metabolic syndrome. *Indian J Clin Biochem.* 2011;26(4):317-8.
6. Exley MA, Hand L, O'Shea D, Lynch L. Interplay between the immune system and adipose tissue in obesity. *J Endocrinol* 2014;223(2):R41-8.
7. Schipper HS, Prakken B, Kalkhoven E, Boes M. Adipose tissue-resident immune cells: key players in immunometabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23(8):407-15.

8. Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm* 2013;2013:139239.
9. Lee H, Lee IS, Choue R. Obesity, inflammation and diet. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr* 2013;16(3):143-52.
10. Rosa FT, Zulet MA, Marchini JS, Martinez JA. Bioactive compounds with effects on inflammation markers in humans. *Int J Food Sci Nutr* 2012;63(6):749-65.
11. Wang S, Moustaid-Moussa N, Chen L, Mo H, Shastri A, Su R, Bapat P, Kwun I, Shen CL. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. *J Nutr Biochem* 2014;25(1):1-18.
12. Anand P, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ST, Lai OS, Sung B, Aggarwal BB. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharm Res* 2008;25(9):2097-116.
13. Vineis P, Wild CP. Global cancer patterns: causes and prevention. *Lancet* 2014;383(9916):549-57.
14. Wiseman M. The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *Proc Nutr Soc* 2008;67(3):253-6.
15. Balkwill FR, Mantovani A. Cancer-related inflammation: common themes and therapeutic opportunities. *Semin Cancer Biol* 2012;22(1):33-40.
16. Ramos-Nino ME. The role of chronic inflammation in obesity-associated cancers. *ISRN Oncol* 2013;2013:697521.
17. Park J, Morley TS, Kim M, Clegg DJ, Scherer PE. Obesity and cancer--mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10(8):455-65.

INTERAZIONI TRA MICROBIOMA E SISTEMA IMMUNE: EFFETTI PROMOVENTI LA SALUTE IN ONCOLOGIA

Andrea Del Buono
ASL CE/1, Distretto 12, Caserta

Introduzione

Nell'intestino umano risiede l'ecosistema più densamente popolato di microrganismi che svolgono funzioni essenziali sia nell'omeostasi del sistema immune che nel metabolismo dell'ospite. Le comunità di microrganismi intestinali (batteri, funghi, protozoi e virus) vengono collettivamente denominate "microbiota" e l'insieme dei rispettivi genomi "microbioma" (1). Il microbiota intestinale è in continuo equilibrio con il tessuto linfoide associato all'intestino (*Gut-Associated Lymphoid Tissue*, GALT), il più grande e importante organo immunitario dell'organismo umano (2). L'omeostasi immunologica è il risultato di un continuo *cross-talk* tra il microbiota e il sistema immune mucosale, sia innato che adattativo, del tratto gastro-intestinale. L'ospite trae grossi vantaggi immunologici e metabolici dalla vicinanza fisica delle popolazioni microbiche dell'intestino e dei tessuti sottostanti, ma al tempo stesso tale prossimità rappresenta una minaccia continua per la salute. Infatti, il sistema immune deve instaurare il giusto equilibrio tra la "tolleranza" al microbiota intestinale, mantenendo un opportuno tono infiammatorio, e la "vigilanza" nei riguardi di agenti infettivi e patogeni opportunisti (3).

La microflora intestinale è inoltre essenziale per l'attività digestiva e questa azione coinvolge specie batteriche che risiedono prevalentemente nel colon. Questi microrganismi favoriscono la digestione di fibre alimentari, disaccaridi e peptidi che non possono essere digeriti nell'intestino tenue. La fermentazione produce, tra le altre sostanze, acidi grassi a catena corta quali l'acido acetico, propionico e butirrico, che migliorano l'assorbimento dei minerali e influenzano positivamente il metabolismo di lipidi e glucosio nel fegato. L'evoluzione delle popolazioni microbiche intestinali inizia alla nascita, si completa durante i primi anni di vita ed è altamente personalizzata e stabile in un individuo sano (3). Al momento della nascita il tratto gastrointestinale è sterile, ma sviluppa rapidamente una microflora la cui composizione varia in base a fattori quali il tipo di parto, l'alimentazione nel periodo infantile, l'uso di antibiotici e la dieta, per poi completare la sua maturazione entro il 3°-4° anno di vita (4). La perturbazione acuta o cronica dell'equilibrio di questi microrganismi intestinali è quindi una concausa importante in molte patologie croniche umane quali le malattie infiammatorie intestinali, l'obesità, il diabete di tipo 2 e i tumori del colon-retto. Tale alterazione detta disbiosi può essere favorita non solo da una alimentazione non corretta, dall'uso di antibiotici, dallo stress e da alterazioni del ritmo sonno-veglia, ma anche da patologie croniche che generano ipertensione portale o alterano il microcircolo a livello della lamina basale del tratto gastro-intestinale. Come conseguenza di queste perturbazioni il numero di batteri quali i lattobacilli e i bifidobatteri diminuisce a vantaggio di specie patogene come ad esempio alcuni clostridi ed enterococchi (5), ma soprattutto aumenta la traslocazione batterica generando un'aumentata risposta immunitaria aspecifica.

Microbiota umano e sistema immune innato

Il microbiota intestinale (10^{13} - 10^{14} cellule/contenuto intestinale) rappresenta il più complesso ecosistema presente in natura che ospita diverse centinaia di specie batteriche appartenenti ai phyla Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria e Fusobacteria e, pertanto, non può essere definito un “organo” virtuale. Queste diverse comunità, caratterizzate da specializzazione metabolica, complementarità e cooperazione, costituiscono un network molto complesso d’interazione microbo-microbo e microbo-ospite (cervello intestinale). L’interazione tra ospite e microbiota precedentemente definita in maniera riduttiva come commensale (solo uno dei due trae beneficio), è in realtà molto attiva, di tipo simbiotico o mutualistico, dove l’immunità rappresenta il sistema maggiormente coinvolto in questa relazione, soprattutto nel mantenimento dell’equilibrio tra tolleranza e attivazione immunitaria. La sorveglianza immunologica delle popolazioni di microrganismi intestinali coinvolge proteine recettoriali appartenenti alla classe dei *Pattern Recognition Receptor* (PPR), che riconoscono dei motivi strutturali conservati espressi dai microrganismi, i *Pathogen Associated Molecular Pattern* (PAMP) (6) attraverso i recettori *toll-like* (*Toll-Like Receptor*, TLR) e il *Nucleotide binding Oligomerization Domain* (NOD). Questi recettori agiscono in distinti compartimenti cellulari contribuendo così alla tolleranza verso i batteri commensali e gli antigeni di origine alimentare (6). Il riconoscimento di questi recettori sulla superficie apicale dell’epitelio promuove tolleranza e il giusto tono infiammatorio; al contrario l’attivazione di questi stessi recettori dal lato baso-laterale promuove forti risposte infiammatorie. Una varietà di stimoli microbici attiva vie pro-infiammatorie di trasduzione del segnale che coinvolgono il fattore di trascrizione nucleare (*Nuclear Factor-kappa B* (NF- κ B) con produzione di citochine pro-infiammatorie oppure fattori più direttamente legati allo spegnimento dell’infiammazione/risposta immune quali l’interleuchina 10 (IL-10), svolgendo così un ruolo cruciale nel mantenimento dell’omeostasi dell’epitelio intestinale (6).

La microflora intestinale svolge sicuramente un ruolo importante sia nell’infiammazione intestinale che nello sviluppo di tumori del tratto gastro-intestinale. Alterazioni di questo ecosistema sono state ad esempio osservate in soggetti anziani affetti da cancro del colon-retto. In particolare, in questi individui è stata evidenziata la prevalenza di clostridi a discapito dei bifidobatteri rispetto agli anziani sani (7). L’interazione tra il microbiota e il sistema immunitario nel paziente oncologico è importante non soltanto per gli aspetti patogenetici ma anche perché può offrire un’opportunità terapeutica nella gestione/frequenza delle complicanze sia chirurgiche che legate all’assunzione di chemioterapici (minor incidenza di complicanze secondarie).

Utilizzo di frazioni solubili di fibre alimentari come adiuvanti immunologici

I beta-glucani sono dei polisaccaridi lineari costituiti da molecole di glucosio unite insieme mediante legami glicosidici (8). Alcuni tipi di beta-glucano vengono distrutti dai succhi gastrici e quindi non sono attivi per via orale, ma la frazione beta-1,3-1,6 D-glucano, derivata dal lievito del pane, è stabile. I recettori deputati al riconoscimento del beta-1,3-1,6 D-glucano sono espressi dai macrofagi e quindi in grado di indurne l’attivazione. In uno studio condotto da Bogwald e collaboratori (9) è stato dimostrato che i macrofagi attivati da glucano sono in grado di riconoscere e fagocitare diversi tipi di cellule cancerose quali melanoma e mastocitoma, mentre altri ricercatori hanno evidenziato che il glucano è in grado di ridurre significativamente

la crescita di cellule di carcinoma mammario e del melanoma B16 in modelli murini, suggerendo che il glucano possieda anche attività antitumorale (10, 11). Le proprietà benefiche dei beta-glucani nella terapia di supporto del cancro sono oggi ben definite e chiaramente associate alla loro attività immunomodulante (8). È, inoltre, noto che la combinazione dei beta-glucani con altri composti naturali può potenziarne l'attività. In particolare, l'acido ascorbico (vitamina C) rappresenta un importante fattore nei processi di attivazione macrofagica. Infatti, il macrofago attivato consuma e richiede acido ascorbico in quantità anche 1.000 volte superiori a quelle presenti nel sangue. Studi più recenti hanno dimostrato che alcune molecole bioattive, quali la vitamina C e il resveratrolo possono potenziare ulteriormente l'azione del beta-glucano, quando somministrati in associazione (12, 13). È stato osservato che la loro combinazione sopprime più efficacemente la crescita di tumori mammari e polmonari, stimolando l'apoptosi delle cellule cancerose. Al riguardo, alcuni polisaccaridi, come il beta-glucano, possono essere utilizzati non solo per la loro capacità di agire come immunostimolanti ma anche come prebiotici. Infatti, i beta-glucani sono altamente fermentati dal microbiota dell'intestino cieco e tenue e sono in grado aumentare il tasso di crescita e la produzione di acido lattico di microbi isolati dall'intestino umano (14).

Queste evidenze potrebbero aprire nuove prospettive nell'integrazione terapeutica utilizzando appropriati ceppi di probiotici combinati con micronutrienti (beta-glucano, vitamina C, resveratrolo) nel mantenimento di un ambiente intestinale sano (eubiosi) e per un corretto equilibrio del sistema immune innato.

Conclusioni

Nonostante la composizione e le caratteristiche di un microbiota intestinale "sano" non siano ancora ben definite, è noto che perturbazioni della composizione della microflora del tratto gastro-intestinale sono associate a un aumentato rischio di patologie immuno-mediate (15).

Il crescente interesse riguardo agli effetti del microbiota intestinale sulla salute umana ha favorito lo sviluppo di strategie atte ad ottimizzare la funzionalità dell'ecosistema microbico, confermando l'importanza dell'alimentazione e degli stili di vita nel mantenimento dell'abbondanza e della diversità della microflora intestinale. Riequilibrare uno stato di disbiosi è comunque un'operazione complessa poiché le popolazioni microbiche che maggiormente influenzano l'omeostasi immunologica sono batteri anaerobici che difficilmente possono essere integrati dall'esterno, anche attraverso l'uso di biomodulatori (probiotici, prebiotici, sinbiotici, postbiotici). Pertanto, acquisire uno stile di vita sano e una dieta in grado di fornire all'organismo diverse sostanze attive è essenziale non soltanto per ridurre il rischio di patologie immuno-mediate ma anche per favorire la risposta alle terapie mediche nel paziente oncologico.

Bibliografia

1. Icaza Chavez ME. Gut microbiota in health and disease. *Rev Gastroenterol Mex* 2013;78(4):240-8.
2. Pearson C, Uhlig HH, Powrie F. Lymphoid microenvironments and innate lymphoid cells in the gut. *Trends Immunol* 2012;33(6):289-96.
3. Peterson CT, Sharma V, Elmén L, Peterson SN. Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clin Exp Immunol* 2015;179(3):363-77.
4. Salzman NH. The role of the microbiome in immune cell development. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2014;113(6):593-8.

5. Dejea CM, Wick EC, Hechenbleikner EM, White JR, Mark Welch JL, Rossetti BJ, Peterson SN, Snesrud EC, Borisy GG, Lazarev M, Stein E, Vadivelu J, Roslani AC, Malik AA, Wanyiri JW, Goh KL, Thevambiga I, Fu K, Wan F, Llosa N, Housseau F, Romans K, Wu X, McAllister FM, Wu S, Vogelstein B, Kinzler KW, Pardoll DM, Sears CL. Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111(51):18321-6.
6. Cario E. Bacterial interactions with cells of the intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2. *Gut* 2005;54(8):1182-93.
7. Gao Z, Guo B, Gao R, Zhu Q, Qin H. Microbiota dysbiosis is associated with colorectal cancer. *Front Microb* 2015;6:20.
8. Vannucci L, Krizan J, Sima P, Stakheev D, Caja F, Rajsiglova L, Horak V, Saieh M. Immunostimulatory properties and antitumor activities of glucans *Int J Oncol* 2013;43(2):357-64.
9. Bögdwald J, Johnson E, Seljelid R. The cytotoxic effect of mouse macrophages stimulated in vitro by a beta-13-D-glucan from yeast cell walls. *Scand J Immunol* 1982;15(3):297-304.
10. Di Luzio NR, McNamee RB, Williams DL, Gilbert KM, Spanjers MA. Glucan induced inhibition of tumor growth and enhancement of survival in a variety of transplantable and spontaneous murine tumor models. *Adv Exp Med Biol* 1979;121(A):269-90.
11. Seljelid, R. A water-soluble aminated beta 1-3D-glucan derivative causes regression of solid tumors in mice. *Biosci Rep* 1986;6(9)845-851.
12. Vetvicka V, Vetvickova J. Combination of glucan, resveratrol and vitamin C demonstrates strong anti-tumor potential. *Anticancer Res* 2012;32(1):81-7.
13. Vetvicka V, Volny T, Saraswat-Ohri S, Vashishta A, Vancikova Z, Vetvickova J. Glucan and resveratrol complex--possible synergistic effects on immune system. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2007;151(1):41-6.
14. Blaut M. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. *Eur J Nutr* 2002;41 Suppl 1: I11-6.
15. Noce A, Tarantino A, Tsague Djoutsop C, Vasili E, De Lorenzo A, Di Daniele N. Gut microbioma population: an indicator really sensible to any change in age, diet, metabolic syndrome, and life-style. *Mediators Inflamm* 2014; 2014:901308.

PANDEMIA DISMETABOLICA: OBESITÀ, INSULINO-RESISTENZA E PATOLOGIA ONCOLOGICA

Armando D'Orta
DD Clinic snc, Caserta

Introduzione

Negli ultimi vent'anni abbiamo assistito ad un graduale cambiamento negli approcci diagnostici e d'intervento in medicina grazie anche all'acquisizione di una visione più integrata, che mette in relazione il paziente nella sua totalità, la patologia che lo affligge e l'ambiente in cui egli vive. Tali cambiamenti sono evidenti nella ricerca e nella terapia in campo oncologico, mirati allo sviluppo di strategie di intervento più efficaci orientate non soltanto ad interferire con la crescita neoplastica ma anche ad influenzare il microambiente nel quale le cellule tumorali vivono, proliferano e muoiono. In questo ambito un ruolo fondamentale è rivestito dall'alimentazione, oggi ritenuta uno strumento importante per modulare l'espressione genica, l'equilibrio ossido-riduttivo e lo *status* infiammatorio. L'utilizzo di determinati schemi alimentari (*manipolazione nutrizionale*) in associazione ai consueti protocolli chemio e radioterapici, si è rivelato di notevole aiuto nel trattamento del malato oncologico (1). Il paziente, viene coadiuvato da un certo regime alimentare nell'affrontare l'iter terapeutico, col proposito di aumentarne l'efficacia e limitarne gli effetti collaterali.

Lo scopo ultimo di questo nuovo approccio è quello di rendere il microambiente tumorale inospitale e inadatto alla crescita della cellula neoplastica, intervenendo sull'espressione di oncogeni coinvolti in maniera diretta nella patogenesi o nel mantenimento della malattia, potenziando l'azione del sistema immunitario nel riconoscimento delle cellule neoplastiche e rompendo la cosiddetta tolleranza immunologica. È di particolare interesse l'utilizzo di strategie nutrizionali in grado di influenzare il livello di alcuni ormoni quali gli androgeni, l'insulina e fattori di crescita insulino-simili (*Insulin-Like Growth Factor 1*, IGF-1), l'infiammazione e l'equilibrio del sistema tampone delle matrici extracellulari.

Alimentazione e tumori

Sappiamo oggi che uno dei principali fattori di rischio per lo sviluppo di numerose patologie tumorali, insieme al fumo di sigaretta, è sicuramente l'obesità. Il grasso corporeo, infatti, un importante organo endocrino, produce diversi ormoni sessuali, adipocitochine e numerosi mediatori dell'infiammazione coinvolti nella patogenesi e nella progressione della malattia neoplastica. Inoltre, è adesso ben noto che l'utilizzo di determinati protocolli dietetici che limitano l'assunzione di alimenti capaci di favorire la crescita tumorale o di creare un microambiente più idoneo al tumore stesso, può rappresentare un utile complemento terapeutico. In questo ambito, è degno di nota lo studio tutt'ora in corso presso l'Istituto dei Tumori di Milano, denominato progetto DIANA (Dieta e Androgeni), mirato alla valutazione dell'impatto di strategie alimentari sulla comparsa di recidive in pazienti con cancro al seno (2). Un alimento come il latte, ad esempio, può incrementare il peso di un vitello in pochi mesi poiché gli alti contenuti di lattosio e di caseine, piuttosto che il contenuto nutrizionale, hanno

una notevole influenza sulla produzione dell'insulina e di altri fattori di crescita. Lo stesso vale per la carne rossa e le proteine animali in generale il cui elevato consumo è stato associato in alcune neoplasie ad un maggior rischio di sviluppo (3). La strategia dietetica utilizzata in questo progetto si basa sulla riduzione degli zuccheri semplici, dei grassi e dei prodotti di origine animale e sull'aumento del consumo dei cereali non raffinati, dei legumi e delle verdure. Tale approccio è mirato alla riduzione dei livelli ematici degli ormoni sessuali maschili (gli androgeni), dell'insulina e fattori insulino-simili (IGF-1) noti per la loro capacità di favorire la crescita e la disseminazione metastatica dei tumori della mammella. I risultati ottenuti sono estremamente significativi in quanto questa strategia di intervento dietetico globale ha dimostrato di essere efficace nell'indurre cambiamenti nel metabolismo degli ormoni endogeni e dei fattori di crescita insulino simili (IGF-1) che potrebbero ridurre il rischio di recidive in donne con cancro al seno (4). In considerazione dell'importanza di questi interventi nella gestione del paziente oncologico, è opportuno sottolineare la necessità di rivolgersi a team sanitari altamente formati e specializzati nell'affrontare in maniera integrata la complessità dell'approccio terapeutico/nutrizionale. La "dieta" quindi deve diventare una vera e propria manipolazione nutrizionale per potenziare l'efficacia dei tipici protocolli terapeutici, modulando parametri ormonali, fattori solubili che regolano la risposta immune (citochine/chemochine), i ritmi circadiani nonché l'equilibrio acido-base.

Equilibrio del sistema tampone delle matrici extracellulari nella patologia oncologica

All'inizio del secolo scorso Otto Warburg postulò che le masse tumorali fossero acide a causa dell'elevata produzione di acido lattico (5). Misurazioni effettuate in numerosi tumori solidi tramite microelettrodi hanno successivamente confermato ed esteso tale ipotesi (6) rivelando che i tumori solidi, sebbene mantengano un pH extracellulare (pHe) acido, hanno di solito un pH intracellulare (pHi) neutro/alcino, generando così un gradiente di pH dall'interno della cellula verso il microambiente che la circonda (7). È oggi noto che il pH extracellulare dei tumori solidi maligni sia spostato verso il basso (pH 6,5-6,9 contro un range di 7,2-7,5 del tessuto sano) (8) a causa della massiva esportazione di acido nella matrice extracellulare da parte del tumore stesso, e che acidificando le cellule tumorali si incrementa il loro tasso di metastatizzazione (9). Queste osservazioni hanno portato all'ipotesi di "aggressività acido-mediata", secondo la quale le molecole acide tumore-derivate ne promuovono l'aggressività e la capacità di metastatizzare. L'incremento dell'alcinizzazione endocellulare altera, in ultima analisi, tutta una serie di processi pH correlati, come la glicolisi, la sintesi, la trascrizione e il riparo del DNA, e può compromettere la stabilità genetica aumentando la competitività e la capacità di crescita delle cellule neoplastiche rispetto alle cellule sane (10, 11). Il microambiente tumorale è caratterizzato inoltre da una marcata deplezione di ossigeno (ipossia), nonché da alti livelli di lattato che genera uno stato di acidosi extracellulare (12). Questi cambiamenti sono causati da una combinazione di fattori: scarsa perfusione tissutale, proliferazione incontrollata e una de-regolazione metabolica endocellulare (13). I livelli più marcati di anormalità riguardano in primo luogo il metabolismo del glucosio. In condizioni fisiologiche, il piruvato prodotto al termine della glicolisi anaerobia viene ulteriormente processato nel ciclo di Krebs, con successiva fosforilazione ossidativa; tuttavia in condizione di ipossia, esso viene fermentato ad acido lattico. Ne consegue che più sono le molecole di glucosio utilizzate, più acido lattico verrà generato e immesso nella matrice extracellulare, fornendo una spiegazione all'evidenza che i tessuti di un portatore di tumore sono più acidi del normale. Tale situazione di acidosi viene

aggravata qualora il paziente oncologico facesse uso eccessivo di alimenti che lasciano residui (o “ceneri”) acidi (pasta e pane prodotti con farina bianca, dolci industriali, latte vaccino e derivati, carne rossa, acqua acida, ecc.). Alcuni cibi, inoltre, contengono alti livelli di IGF-1 o proteine allergizzanti, quali le profiline di molti alimenti, che rappresentano uno stimolo potente per la crescita delle cellule cancerose e che andrebbero pertanto esclusi dalla dieta di questi pazienti. In un lavoro del 1995 sono stati studiati 40 pazienti affetti da neoplasie di differenti istotipi, sedi e dimensioni: tale studio ha evidenziato che questi pazienti sviluppano un’acidosi intracellulare generalizzata che può essere modificata con l’utilizzo di alimenti e sostanze alcalinizzanti allo scopo di ridurre la degenerazione cellulare (14). A questo proposito, alcuni ricercatori hanno dimostrato che la somministrazione di bicarbonato di sodio (NaHCO_3) per via orale a pazienti affette da tumore mammario metastatico, determina l’aumento del pH tumorale ma non di quello dei tessuti sani, riduce il tasso di metastatizzazione spontanea e di infiltrazione linfonodale. In questo studio è stato inoltre osservata una correlazione tra il basso pH e il rilascio di catepsina B attiva, una proteasi coinvolta nei processi di rimodellamento delle matrici, nonostante i meccanismi coinvolti non siano ancora ben definiti (15). È noto che un pH basso e una condizione di ipossia sono determinanti importanti nelle strategie utilizzate dalle cellule tumorali per favorire la loro proliferazione e disseminazione (16, 17). L’inversione del fisiologico gradiente elettrochimico di membrana, spesso osservata nelle cellule tumorali, riveste inoltre una notevole importanza come strumento per migliorare l’efficacia di trattamenti antineoplastici quali la chemioterapia, la radioterapia e l’ipertermia. L’ipossia infatti conferisce radio resistenza mentre il gradiente acido extracellulare può conferire chemio resistenza, in particolare ai chemioterapici debolmente basici (es. doxorubicina), ostacolandone l’ingresso nelle cellule e favorendone il sequestro nelle matrici peritumorali (18-20). I maggiori determinanti delle aberrazioni di pH comunemente osservate nei tumori sono rappresentati dai trasportatori e scambiatori di protoni quali la V-ATPasi, lo scambiatore Na^+/H^+ , i trasportatori monocarbossilati e le anidrasi carboniche. Grazie all’attività di questi trasportatori e scambiatori, il tumore diventa meno accessibile non soltanto alle normali reazioni di difesa ma anche all’azione di farmaci che una volta protonati nel microambiente tumorale acido, non possono più entrare nelle cellule neoplastiche. L’inibizione di tali meccanismi è uno degli obiettivi di nuovi approcci terapeutici antitumorali (21).

Il trattamento dell’acidosi deve comunque tener conto che l’equilibrio acido-basico è regolato da ben precisi ritmi e cicli. Il collagene e le matrici extracellulari infatti, sono soggette ad una variazione di fase da sol a gel nel corso della giornata, poiché al mattino prevalgono i fenomeni catabolici, mentre successivamente insorge la fase ricostruttiva. Pertanto, la somministrazione di composti quali carbonati e bicarbonati in grado di modificare l’equilibrio acido-basico, così come di un cibo, un nutraceutico o un farmaco (nel caso specifico un antiblastico) dovrebbe tener conto di questi cicli/ritmi, con conseguenze importanti sull’assorbimento che può variare a seconda dello stato di fase delle matrici extracellulari.

Conclusioni

Diversi studi suggeriscono che l’alimentazione può aiutare a combattere una malattia come il cancro. Infatti le cellule neoplastiche, come tutte le cellule sane, devono nutrirsi ed eliminare gli scarti. È stato dimostrato che alcuni alimenti sono capaci di rallentare la crescita delle cellule tumorali così come altri la favoriscono: moltissimi alimenti agiscono sul microambiente facilitando il lavoro del sistema immunitario e impedendo alle cellule tumorali di creare le condizioni che ne facilitano la crescita. Nonostante non si possa parlare di dieta e neppure di alimenti “alcalini” capaci di influenzare in modo significativo il pH gastrico, è ben nota la

capacità di alcuni composti del cibo di rafforzare le difese antiossidanti endogene, enzimatiche e non, rappresentando quindi un valido ausilio nel mantenimento/ripristino dell'omeostasi redox. Un'alimentazione ricca di proteine vegetali e povera di quelle animali, con prevalenza di alimenti a basso indice glicemico può assicurare un sufficiente apporto nutrizionale al paziente oncologico e controllare l'azione periferica dell'insulina e dei fattori insulino-simili (IGF), citochine e ormoni sessuali, agendo quindi in sinergia con il programma terapeutico. Tuttavia la nutrizione in oncologia non può e non deve essere semplice "proscrizione" come spesso accade, ma piuttosto "prescrizione" di una selezione ragionata e personalizzata di alimenti e integratori alimentari, adattata al paziente e alla sua patologia.

Bibliografia

1. Del Buono A, D'Orta A, Vozza M, Aimati M, Farinelli C, Bonucci M. Alimentazione e Cancro: Prima, Durante e Dopo la Chemio-Radio-Terapia. In: *IV Congresso Internazionale di oncologia integrata*. Atti. Roma 16-17 novembre 2012.
2. Villarini AL, Pasanisi P, Traina A, Mano MP, Bonanni B, Panico S, Scipioni C, Galasso R, Paduos A, Simeoni M, Bellotti E, Barbero M, Macellari G, Venturelli E, Raimondi M, Bruno E, Gargano G, Fornaciari G, Morelli D, Seregni E, Krogh V, Berrino F. Lifestyle and breast cancer recurrences: the DIANA-5 trial. *Tumori* 2012;98(1):1-18.
3. Dunaif GE, Campbell TC. Dietary protein level and aflatoxin B1-induced pre-neoplastic hepatic lesions in the rat. *J Nutr* 1987;117:1298-302.
4. Kaaks R, Bellati C, Venturelli E, Rinaldi S, Secreto G, Biessy C, Pala V, Sieri S, Berrino F. Effects of dietary intervention on IGF-I and IGF-binding proteins, and related alterations in sex steroid metabolism: the Diet and Androgens (DIANA) Randomised Trial. *Eur J Clin Nutr* 2003;57(9):1079-88.
5. Warburg O. On respiratory impairment in cancer cells. *Science* 1956;10;124(3215):269-70.
6. Wike-Hooley JL, Haveman J, Reinhold HS. The relevance of tumour pH to the treatment of malignant disease. *Radiother Oncol* 1984;2:343-366.
7. Raghunand N, He X, van Sluis R, Mahoney B, Baggett B, Taylor CW, Paine-Murrieta G, Roe D, Bhujwalla ZM, Gillies RJ. Enhancement of chemotherapy by manipulation of tumour pH. *Br J Cancer* 1999; 80(7):1005-11.
8. Griffiths JR. Are cancer cells acidic? *Br J Cancer* 1991; 64:425-427.
9. Rofstad EK, Mathiesen B, Kindem K, Galappathi K. Acidic extracellular pH promotes experimental metastasis of human melanoma cells in athymic nude mice. *Cancer Res* 2006; 66(13):6699-707.
10. Stern RG, Milestone BN, Gatenby RA. Carcinogenesis and the plasma membrane. *Med Hypotheses* 1999; 52 (5):367-72.
11. Stubbs M, McSheehy PM, Griffiths JR, Bashford CL. Causes and consequences of tumour acidity and implications for treatment. *Mol Med Today* 2000; (1):15-9.
12. Frassetto L, Sebastian A. Age and systemic acid-base equilibrium: analysis of published data. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1996;51(1): B91-9.
13. Chen JL, Lucas JE, Schroeder T, Mori S, Wu J, Nevins J, Dewhirst M, West M, Chi JT. The genomic analysis of lactic acidosis and acidosis response in human cancers. *PLoS Genet* 2008;4(12):e1000293.
14. Davydova IG, Kassil VL, Filippova NA, Barinov MV. Characteristics of the effects of artificial alkalosis on electrical activity of the brain and ultrastructure of blood cells in oncologic patients. *Vestn Ross Akad Med Nauk* 1995;(4):24-5.

15. Robey IF, Baggett BK, Kirkpatrick ND, Roe DJ, Doseescu J, Sloane BF, Hashim AI, Morse DL, Raghunand N, Gatenby RA, Gillies RJ. Bicarbonate increases tumor pH and inhibits spontaneous metastases. *Cancer Res* 2009; 69(6):2260-8.
16. Tannock IF, Rotin D. Acid pH in tumors and its potential for therapeutic exploitation. *Cancer Res* 1989;49(16):4373-84.
17. Griffiths JR. Causes and consequences of hypoxia and acidity in tumour microenvironments. *Bioessays* 2001;23(3):295-6.
18. Roos A. Weak acids, weak bases, and intracellular pH. *Respir Physiol* 1978;33(1):27-30.
19. Taylor CW, Dalton WS, Parrish PR, Gleason MC, Bellamy WT, Thompson FH, Roe DJ, Trent JM. Different mechanisms of decreased drug accumulation in doxorubicin and mitoxantrone resistant variants of the MCF7 human breast cancer cell line. *Br J Cancer* 1991;63(6):923-9.
20. Chen JL, Lucas JE, Schroeder T, Mori S, Wu J, Nevins J, Dewhirst M, West M, Chi JT. The genomic analysis of lactic acidosis and acidosis response in human cancers. *PLoS Genet* 2008;4(12).
21. Spugnini EP, Sonveaux P, Stock C, Perez-Sayans M, De Milito A, Avnet S, Garcia AG, Harguindey S, Fais S. Proton channels and exchangers in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2015;1848(10 Pt B):2715-26.

MEDICINA INTEGRATA NELLE MALATTIE NON TRASMISSIBILI

Andrea Geraci

Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Uno dei maggiori problemi dei servizi sanitari dei Paesi occidentali è quello del progressivo incremento delle cosiddette malattie non trasmissibili. Queste costituiscono oggi una vera e propria pandemia che, secondo l'ultimo report dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha provocato, nel 2012, 38 milioni di decessi su un totale di 56, cioè il 68% del totale (1). Le malattie in questione sono principalmente quelle cardiovascolari, il cancro, il diabete, le malattie respiratorie croniche. Entrano in gioco inoltre come cofattori fondamentali per l'insorgenza di diverse patologie, quei fattori di rischio che non sono altro che "cattive abitudini" come la sedentarietà, il fumo di tabacco, l'abuso di alcol, l'alimentazione scorretta spesso ipercalorica. Proprio la nutrizione, assieme al metabolismo, alla componente genetica e ai fattori ambientali (epigenetica), vengono considerati gli elementi fondamentali che influenzano queste malattie non trasmissibili, rappresentando quindi quegli aspetti della prevenzione primaria su cui agire.

Se a livello cellulare vengono studiati lo stress ossidativo (radicali liberi e specie reattive dell'ossigeno, *Reactive Oxygen Species*, ROS), gli squilibri metabolici, gli acidi grassi essenziali (omega 3, omega 6), l'acido arachidonico, gli stati infiammatori più o meno silenti ecc., sul versante "macroscopico", chiamiamolo socio-epidemiologico, negli ultimi anni un ruolo sempre più determinante nel favorire molte di queste patologie croniche si è rivelato essere lo stress psicosociale. Come si può intuire, ma molti sono anche i dati scientifici, siamo di fronte a malattie complesse con diversi fattori coesistenti che possono influenzarne l'insorgenza e lo sviluppo. Un esempio di "nuova malattia" è la sindrome metabolica anche se per alcuni è solo una condizione di più fattori di rischio associati. Esistono diversi criteri per la definizione di sindrome metabolica, ma, senza entrare nei dettagli, si tratta dell'associazione variabile di obesità viscerale, dislipidemia, ipertensione arteriosa, iperglicemia e, secondo alcuni autori anche di insulino-resistenza (2).

Malattie complesse e sistemi complessi

Siamo quindi alle prese con problemi complessi, con malattie complesse e non potrebbe essere altrimenti, visto che l'uomo è un essere complesso. Il concetto di complessità viene da tempo utilizzato in biologia, medicina e in matematica, anche se è stato introdotto originariamente in campo economico e sociale negli anni '70 del secolo scorso dal sociologo e filosofo Edgar Morin (Parigi, 1921). In biologia e medicina vengono studiate le innumerevoli reti metaboliche che costituiscono il sistema complesso umano. Queste reti sono tra loro influenzabili, hanno la capacità di aumentare la propria complessità, di mantenere il proprio equilibrio e, se questo viene turbato, possono riportare il sistema al precedente stato ottimale, hanno cioè capacità di autoguarigione. Sono dei sistemi adattativi e seguono leggi e dinamiche

molto differenti rispetto al paradigma “newtoniano”, in parte superato, che considera una singola molecola che ha un bersaglio unico che a sua volta determina una precisa reazione metabolica (più o meno prevedibile). Siamo invece costituiti di reti a livello cellulare, genetico e metabolico su cui non sono più applicabili i vecchi metodi statistici. Sono utilizzate le *network analysis* e i relativi *boolean dynamic networks* con la relativa possibilità di mimare delle reti e avere perfino la simulazione di studi clinici, laddove si studiasse l’effetto di farmaci (3). La salute quindi è da considerarsi uno stato di reti complesse in equilibrio, di armonia come si dice in Medicina Tradizionale Cinese e l’OMS già nel 1948 la definisce “Uno stato di completo benessere fisico, mentale e sociale e non la semplice assenza dello stato di malattia o di infermità.” Anche alcuni millenni fa la tradizione medica dell’antica India insegnava che per avere uno stato di salute bisognava raggiungere anche un appagamento della mente e soprattutto dello spirito, oltre ovviamente a dare la giusta importanza agli aspetti fisiologici: il passato e il presente non sono poi così lontani.

Olismo e medicina integrata

La persona umana è un sistema complesso, costituito da corpo, mente e spirito, che interagiscono con altri sistemi complessi, piccoli e grandi (rapporto micro/macrocosmo) secondo una concezione di tipo olistica. *Olos* in greco vuol dire totalità, tutto e l’olismo è un modo globale di concepire la realtà. Aspetti fisici, biologici, sociali e spirituali sono interconnessi. Vi è una letteratura scientifica in continuo aumento riguardo alla correlazione tra quello che oggi viene definito stress psicosociale e alcune malattie non trasmissibili o le malattie psicosomatiche. Dai concetti di complessità e di rapporto mente-emozioni-corpo sono nati i filoni della psicosomatica (4) e della psico-neuro-endocrino-immunologia. Queste scienze confermano come l’essere umano sia costituito da reti complesse e come sia inserito all’interno di altri sistemi complessi che lo influenzano (società, ambiente) (5, 6).

Alcuni decenni fa fitoterapia, omeopatia, agopuntura, fiori di Bach, osteopatia, ecc. erano approcci terapeutici considerati nell’insieme come medicina alternativa. Un po’ più recentemente si è parlato di medicina non convenzionale, termine che è stato sostituito dal termine complementare. Negli ultimissimi tempi la definizione più utilizzata (e che sottintende una possibilità concreta di essere affiancata alla cosiddetta medicina ufficiale o scientifica o basata sull’evidenza) è quella di medicina integrata: anche in campo terapeutico si va verso l’approccio olistico o integrato. Non a caso l’OMS ha emanato le ultime linee guida (7) sulle medicine tradizionali definendole T&CM cioè *Traditional & Complementary Medicine*, mentre fino a poco tempo fa le definiva *Traditional Medicine/Complementary and Alternative Medicine*. In queste linee guida si auspica che i vari governi e i relativi servizi sanitari nazionali, favoriscano l’integrazione dei trattamenti tradizionali con quelli della medicina ufficiale, verificando che siano sempre garantiti i criteri di qualità, sicurezza ed efficacia.

Il 17 dicembre 2014 i *National Institutes of Health* (NIH) statunitensi hanno rinominato il *National Center for Complementary and Alternative Medicine* (NCCAM), nel *National Center for Complementary and Integrative Health* (NCCIH). Quindi allo stato attuale vi è sempre più la consapevolezza della necessità di integrare esperienze antiche e conoscenze scientifiche moderne.

Le medicine complementari, integrate o tradizionali sono definite una somma di conoscenze, abilità e pratiche basate su teorie, credenze ed esperienze appartenenti a differenti culture, usate per il mantenimento della salute, come pure per la prevenzione, la diagnosi e la cura di malattie fisiche o mentali (8). Esse rappresentano un enorme bagaglio di conoscenze nel campo delle

sostanze naturali di origine vegetale, animale, minerale che, attraverso le varie farmacopee, possono introdurre aspetti innovativi in terapia.

Oltre alle “medicine naturali” che, in molti casi e con le dovute cautele, possono essere associate alla terapia farmacologica classica, vi è tutta una serie di approcci non farmacologici che possono realmente integrarsi nella cura di numerose patologie. Il riferimento è alle ginnastiche, i massaggi, l’agopuntura, la moxibustione, l’elioterapia o le indicazioni per corretti stili di vita e costruttivi approcci alla vita: cura della dieta e rispetto dei ritmi sonno/veglia, meditazione, yoga, ricerca di un approccio spirituale, percorsi personali verso l’autostima e l’autodeterminazione, le attività artistiche.

Stress e malattie

Hans Selye è stato tra i pionieri degli studi sulla reazione allo stress. L’essere umano è sempre stato sottoposto a fasi di allerta, a momenti di stress: il cavernicolo o il soldato di ventura dovevano combattere o fuggire e quindi avevano bisogno che il loro sistema ipotalamo-ipofisi-surrene velocemente mettesse in circolo cortisolo e mediatori simpaticomimetici. Fisiologicamente si hanno tre fasi della reazione di allarme: quella di allarme con tachicardia, aumento della pressione arteriosa, quella di resistenza, in cui le ghiandole surrenali preparano l’organismo per uno sforzo prolungato, rendendo i muscoli pieni di sangue e pronti a contrarsi; infine c’è la fase di esaurimento. Nel momento in cui tale fase di allarme è prolungata nel tempo, si passa da una fase reattiva fisiologica (*eustress*) ad una patologica (*distress*). Selye osservò i danni dovuti alla prolungata secrezione di glucocorticoidi, in particolare del cortisolo (9).

Da allora sono numerosissimi gli studi che mettono in relazione la reattività mentale umana (legata a diversi eventi stressanti) con le diverse patologie organiche o con squilibri di vario genere. Ad esempio lo stress cronico dovuto ad aumento stabile di catecolamine provoca una ipercolesterolemia, soprattutto nella componente delle lipoproteine ad alta densità (*High-Density Lipoprotein*, HDL-C) che rappresenta un importante fattore di rischio per le malattie cardiovascolari (10) mentre il lavoro stressante è stato messo in relazione con la sindrome metabolica (11, 12) e con uno stabile stato pro-infiammatorio attestato da una costante attivazione di mediatori come il fattore di trascrizione nucleare NF-kB coinvolto nel controllo di processi immunitari, infiammatori e apoptotici (13).

Una grossolana classificazione delle tipologie di trattamenti integrati (14) può essere quella della suddivisione in:

- a) sistemi medici strutturati (es. medicina omeopatica o medicina tradizionale cinese);
- b) terapie biologiche (es. diete, integratori);
- c) manipolazioni fisiche e ginnastiche (es. massaggi, tai chi);
- d) medicina energetica (es. reiki, cromoterapia);
- e) interventi sulla connessione mente-corpo (es. yoga, meditazione).

Sono numerosi gli studi che indicano gli effetti positivi di queste pratiche sulla salute. Focalizzando l’attenzione su quest’ultimo gruppo, quello che a livello internazionale viene chiamato *Mind and Body Practices*, possiamo dire in maniera molto semplicistica che il fine ultimo di questi approcci è quello di agire, soprattutto attraverso la respirazione, sul controllo dell’equilibrio del sistema simpatico/parasimpatico, attivando specialmente il parasimpatico che contrasta il sistema di allarme cronicamente attivato dal simpatico.

Yoga, meditazione, perdono: alcuni interventi sulla connessione mente-corpo

Lo yoga fa parte integrante della medicina ayurvedica. È un termine sanscrito che significa legame e sottintende all'unione delle componenti fisica, psichica e spirituale dell'uomo. Alla base di questa pratica vi sono esercizi di rilassamento e di respirazione, posture particolari, ripetizione di mantra. Esistono varie scuole come ad esempio Hatha yoga, Raja yoga, Bhakti yoga, Kundalini yoga, il Kriya yoga di Yogananda (1893-1952), lo yoga integrale di Aurobindo (1872-1950), lo Yoga nidra e Kundalini tantra di Swami Satyanada Saraswati (1923-2009). Patanjali, padre della medicina ayurvedica, formalizzò nel 150 a.C. nel trattato Yoga-Sutra gli otto punti principali del percorso yogico: aspetti morali, etici, posture, controllo del respiro, interiorizzazione dei sensi, concentrazione, meditazione, controllo mentale.

Il termine meditazione proviene dal latino "meditari", derivato di "mederi", che significa curare. Nell'antichità la meditazione era un'attività terapeutica, sia per il corpo che l'anima. "Med" è la stessa radice di medicare, medicina, meditazione. Per praticare la meditazione è necessario un ambiente tranquillo e una postura comoda per poter focalizzare l'attenzione su un pensiero, un'immagine o per arrivare all'annullamento del pensiero (dipende dalle scuole). La meditazione viene consigliata, essendone una parte integrante, in alcuni sistemi medici strutturati come la medicina ayurvedica, la medicina tradizionale cinese, la medicina antroposofica, la naturopatia.

Presso il NCCIH sono state finanziate numerose ricerche in ambito delle cosiddette *Mind and Body Practices* soprattutto sullo yoga e sulla meditazione (vedi sito web: nccih.nih.gov). Sono stati studiati gli effetti dello yoga, nella dipendenza da fumo di tabacco, nel dolore lombosacrale, per migliorare la *fatigue* in donne in trattamento per cancro al seno; altre ricerche sono state avviate sull'utilizzo della meditazione in pazienti con colite ulcerosa, per le vampate post-menopausali, per il controllo dell'asma. La letteratura scientifica internazionale è sempre più interessata all'argomento e, a titolo di esempio, ricordiamo che per la *American Heart Association* chi presenta ipertensione e medita o pratica altri tipi di rilassamento come il *biofeedback* (utilizzo di uno strumento che monitora i parametri involontari quali sudorazione, pressione arteriosa, frequenza cardiaca, ecc.) può avere un certo giovamento (15). Altri lavori dimostrano che il rilassamento mentale attiva geni legati all'inibizione della risposta infiammatoria, specialmente attraverso la *downregulation* di NF-kB (16). Si è inoltre dimostrato che la meditazione determina delle modificazioni anatomico funzionali in sede cerebrale, in particolare nella corteccia, nell'area pre-frontale, nel giro cingolato, a livello della sostanza bianca, sul sistema limbico, sul sistema nervoso autonomo. Sono stati poi riscontrate variazioni verso la normalità del valore di alcuni neurotrasmettitori, citochine, ormoni, endorfine, ecc. in coloro che meditano (17).

Oggi si parla sempre più di medicina integrata. Alcuni studi consigliano un approccio integrato ad esempio nelle malattie cardiovascolari: in particolare lo yoga, il *Qigong* (una forma di meditazione in movimento, arte marziale della medicina tradizionale cinese), alcuni tipi di meditazione e/o tecniche di rilassamento migliorano l'ipertensione, la frequenza cardiaca, la frequenza respiratoria, e in generale migliora la sopravvivenza, in associazione alle terapie standard (18). Un tipo particolare di meditazione può essere considerato il metodo per la riduzione dello stress basato sulla consapevolezza, termine inglese *Mindfulness Based Stress Reduction* (MBSR). Alcuni studi hanno verificato che tale metodo può influire sull'attività del sistema immunitario "stressato" che presenta riduzione delle cellule *Natural Killer* (NK), della produzione di interferone gamma (IFN- γ) e aumento della produzione di IL-4, IL-6, IL-10 e cortisolo plasmatico, riportando un normale livello delle diverse citochine e chemochine e

documentando una migliore qualità della vita (QoL) associata ad una migliore gestione attiva dello stress (*coping*) (19). Altri studi sulla MBSR mettono in evidenza la normalizzazione di alcuni biomarcatori come i linfociti B e l'IFN- γ , il rapporto linfociti CD4+/CD8+, i linfociti totali e l'IL-4 come *predictor* rispettivamente di miglioramento gastrointestinale, cognitivo/psicologico e della *fatigue* (20). Sono state dimostrate variazioni anatomico-funzionali del sistema nervoso centrale (corteccia, insula, amigdala) attestati da studi di *neuroimaging* conseguenza della pratica di *mindfulness* (21).

Un altro approccio mente-corpo che negli ultimi anni è stato studiato e che ha molto in comune con la psicoterapia è la tecnica del perdono. Lo stesso *Strategic Plan 2005-2009* dell'allora NCCAM (22) suggeriva di esplorare i correlati fisiologici delle caratteristiche personali, come la spiritualità, la resilienza, l'altruismo, e il perdono, che sono associati a una maggiore salute e possono determinare dei miglioramenti dei processi di malattia e caratterizzarne gli specifici meccanismi biologici. Si è visto che chi perdona ha delle vere e proprie modificazioni anatomico-funzionali in sede cerebrale (precuneo, giro frontale superiore sinistro e giro prefrontale) oltre ad un miglioramento dei parametri cardiovascolari, della qualità della vita e un prolungato periodo di benessere in chiave anti-stress (23-27).

Conclusioni

Dati i benefici potenziali degli approcci non farmacologici che la medicina integrata propone, i Servizi Sanitari Nazionali dovrebbero prendere in seria considerazione il loro impiego su vasta scala per avere degli effetti positivi sulle patologie croniche non trasmissibili in termini di prevenzione primaria soprattutto, ma anche di miglioramento della qualità della vita. È noto come in ambienti di oncologia e cure palliative da molto tempo yoga, meditazione, perdono, agopuntura vengono utilizzati in associazione alle cure standard per alleviare il dolore fisico e psicologico (28, 29). Si dovrebbero incentivare le campagne educative per far conoscere i benefici di certi stili di vita (diete, poco alcol, no tabacco, no sedentarietà) e di quegli approcci alla vita fatti di giusto distacco dagli eventi stressanti (yoga, meditazione e perdono sono esempi validi), di maggiore consapevolezza, di miglioramento dei rapporti sociali per contrastare lo stress psicosociale. Questo tipo di conoscenze dovrebbero arrivare in maniera capillare al cittadino affinché egli si riappropri della propria salute, attraverso quella maggiore consapevolezza e autostima che passa attraverso la libertà di scelta, la libertà di voler stare in salute (30). La figura del medico, del terapeuta dovrebbe così affiancare quella del paziente che, rifornito di strumenti di conoscenza adeguati, fa le proprie scelte. La medicina integrata nel campo di alcune patologie croniche può essere vista anche secondo questo punto di vista: si danno dapprima dei buoni consigli, poi via via trattamenti come agopuntura o massaggi, dei rimedi sintomatici, magari naturali prima e di sintesi poi, con il preciso scopo di rendere di volta in volta la persona in grado di prendere in mano le redini del proprio stato di salute attraverso l'apprendimento di un comportamento il più possibile corretto.

Bibliografia

1. World Health Organization. *Global status report on non-communicable diseases 2014*. Geneva; 2014.
2. Alberti KG1, Zimmet P, Shaw J, IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome – a new worldwide definition. *Lancet* 2005;366(9491):1059-62.

3. Biggiero L. Nuovi strumenti di studio dei fenomeni sociali e naturali: riflessioni sull'impiego delle metodologie di analisi reticolare e di simulazione. In: Gagliasso E, Memoli R, Pontecorvo ME (Ed.). *Scienza e scienziati: colloqui interdisciplinari*. Milano: Franco Angeli 2011. p. 98-169.
4. Pancheri P. *Stress Emozioni Malattia. Introduzione alla medicina psicosomatica*. Milano: Mondadori; 1980.
5. Blalock JE. A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems. *Physiol Rev* 1989;69(1):1-32.
6. Ader R, Cohen N, Felten D. Psychoneuroimmunology: interactions between the nervous system and the immune system. *Lancet* 1995;345(8942):99-103.
7. World Health Organization. *The WHO traditional medicine strategy 2014-2023*. Geneva: WHO; 2013.
8. World Health Organization. *General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine*. Geneva: WHO; 2000.
9. Selye H. Stress and disease. *Science* 1955;122(3171):625-31.
10. O'Donnell L, O'Meara N, Owens D, Johnson A, Collins P, Tomkin G. Plasma catecholamines and lipoproteins in chronic psychological stress. *J R Soc Med* 1987;80(6):339-42.
11. Chandola T, Brunner E, Marmot M. Chronic stress at work and the metabolic syndrome: prospective study. *BMJ* 2006;332(7540):521-5.
12. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol* 2009;5(7):374-81.
13. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol* 1994;12:991-1045.
14. Geraci A. Terapie non convenzionali. In: Vella L (Ed.). *Enciclopedia medica italiana*. 2. Ed. Aggiornamento III, Tomo II. Torino: UTET Scienze Mediche; 2008. p. 3936-55.
15. Brook RD, Appel LJ, Rubenfire M, Ogedegbe G, Bisognano JD, Elliott WJ, Fuchs FD, Hughes JW, Lackland DT, Staffileno BA, Townsend RR, Rajagopalan S. Beyond medications and diet: alternative approaches to lowering blood pressure: a scientific statement from the American heart association. *Hypertension* 2013;61(6):1360-83.
16. Bhasin MK, Dusek JA, Chang BH, Joseph MG, Denninger JW, Fricchione GL, Benson H, Libermann TA. Relaxation response induces temporal transcriptome changes in energy metabolism, insulin secretion and inflammatory pathways. *PLoS One* 2013;8(5): e62817.
17. Jindal V, Gupta S, Das R. Molecular Mechanisms of Meditation. *Mol Neurobiol* 2013;48(3):808-11.
18. Prasad K, Sharma V, Lackore K, Jenkins SM, Prasad A, Sood A. Use of complementary therapies in cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2013;111(3):339-45.
19. Witek-Janusek L, Albuquerque K, Chroniak KR, Chroniak C, Durazo-Arvizu R, Mathews HL. Effect of mindfulness based stress reduction on immune function, quality of life and coping in women newly diagnosed with early stage breast cancer. *Brain Behav Immun* 2008;22(6):969-81.
20. Reich RR, Lengacher CA, Kip KE, Shivers SC, Schell MJ, Shelton MM, Widen RH, Newton C, Barta MK, Paterson CL, Farias JR, Cox CE, Klein TW. Baseline immune biomarkers as predictors of MBSR (BC) treatment success in off-treatment breast cancer patients. *Biol Res Nurs* 2014;16(4):429-37.
21. Marchand WR. Neural mechanisms of mindfulness and meditation: Evidence from neuroimaging studies. *World J Radiol* 2014;6(7):471-9.
22. National Center for Complementary and Alternative Medicine. *Expanding Horizons of Health Care. Strategic Plan 2005-2009*. Bethesda, MD: NCCAM-NIH; 2005. Disponibile all'indirizzo <https://nccih.nih.gov/sites/nccam.nih.gov/files/about/plans/2005/strategicplan.pdf>; ultima consultazione 27/07/2015.

23. Farrow TF1, Zheng Y, Wilkinson ID, Spence SA, Deakin JF, Tarrrier N, Griffiths PD, Woodruff PW. Investigating the functional anatomy of empathy and forgiveness. *Neuroreport* 2001;12(11):2433-8.
24. Sanchez-Gonzalez M A, May RW, Koutnik AP, Fincham FD. Impact of negative affectivity and trait forgiveness on aortic blood pressure and coronary circulation. *Psychophysiology* 2015;52(2):296-303.
25. Green M, Decourville N, Sadava S. Positive affect, negative affect, stress, and social support as mediators of the forgiveness-health relationship. *J Soc Psychol* 2012;152(3):288-307.
26. Friedberg JP, Suchday S, Shelov DV. The impact of forgiveness on cardiovascular reactivity and recovery. *Int J Psychophysiol* 2007;65(2):87-94.
27. Toussaint L, Shields GS, Dorn G, Slavich GM. Effects of lifetime stress exposure on mental and physical health in young adulthood: How stress degrades and forgiveness protects health. *J Health Psychol* 2014. pii: 1359105314544132.
28. Ferrell B, Otis-Green S, Baird RP, Garcia A. Nurses' responses to requests for forgiveness at the end of life. *J Pain Symptom Manage* 2014;47(3):631-41.
29. Mansky PJ, Wallerstedt DB. Complementary medicine in palliative care and cancer symptom management. *Cancer J* 2006;12(5):425-31.
30. Geraci A. Voglia di salute: approcci non farmacologici in medicina integrata. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 2013;26(7-8):7-10.

PARTE APPLICATIVA
Benessere animale e interventi nutrizionali
per le patologie del terzo millennio

ALIMENTAZIONE E BENESSERE ANIMALE

Vincenzo Mastellone (a), Raffaella Tudisco (a), Francesca Ciani (a), Serena Calabrò (a),
Danila d'Angelo (a), Monica Isabella Cutrignelli (a), Maria Elena Pero (a), Eugenio Luigi Iorio (b),
Pietro Lombardi (a), Federico Infascelli (a)

(a) *Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II, Napoli*
(b) *Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo, Salerno*

Introduzione

Nella società moderna si affaccia sempre più prepotentemente l'importanza del binomio benessere-alimentazione. Bisogna comprendere l'importanza del benessere animale per la salute umana. Diversi studi stanno accertando che ciò che mangiamo è qualitativamente migliore se proviene da animali salvaguardati nel proprio benessere.

Di fatto, un animale allevato al pascolo avrà condizioni di benessere migliori rispetto ad un animale di allevamenti di tipo intensivo e, di conseguenza, avrà una migliore produzione soprattutto in termini qualitativi.

Alimentazione e benessere animale

Nel 1965 il rapporto Brambell (1) per la prima volta affronta l'argomento del benessere animale analizzando le problematiche legate ai metodi di allevamento intensivo; furono coniate così le cinque libertà:

- libertà dalla fame, dalla sete e dalla malnutrizione;
- libertà dal disagio;
- libertà dal dolore, dalle ferite e dalla malattia;
- libertà di esprimere il comportamento normale;
- libertà dalla paura e dallo stress.

Oggi la percezione del benessere va oltre le cinque libertà e nel perenne dibattito aperto sulla sua definizione, si concorda sul fatto che debba intendersi anche uno stato di salute psico-fisica dell'animale e uno stato di equilibrio nel suo adattamento all'ambiente.

Il benessere è, quindi, la capacità degli animali di rispondere ai fattori stressanti senza incorrere in patologie, comportamenti stereotipati o alterazioni endocrine (2).

Nell'affrontare il binomio benessere/alimentazione è fondamentale la valutazione del benessere (animale) con idonei metodi di misurazione. Le variabili di valutazione del benessere animale maggiormente analizzate sono quelle legate al comportamento dell'animale (reazione agli estranei, modalità di riposo, presenza di stereotipie, atteggiamento generale, aggressività e competizione), fisiologiche (neuro-endocrine, immunitarie, metaboliche, status ossidativo), produttive (fertilità, accrescimento, qualità e quantità delle produzioni), relative agli aspetti sanitari (parassitosi, stato del pelo, lesioni podali, presenza di traumi, lesioni ai capezzoli, malattie metaboliche) e inerenti le condizioni ambientali (disponibilità di spazio, rumorosità, tipo di pavimentazione, condizioni igieniche).

È determinante, inoltre, comprendere l'importanza che il benessere animale ha sulla salute umana attraverso le importanti correlazioni tra benessere e alimentazione. Il cibo, infatti, è

necessario per salvaguardare il nostro organismo e per mantenere uno stato di benessere. Di fatto, quello che l'animale mangia e che processa attraverso il sistema gastrointestinale dopo i vari meccanismi di assorbimento lo ritroviamo nelle varie derrate di origine animale destinate all'alimentazione umana.

La qualità degli alimenti di origine animale è sicuramente influenzata dal tipo di allevamento (aspetti edilizi, microclima, gestione gruppi, personale, pulizia) e dal tipo di alimentazione (natura degli alimenti, caratteristiche nutrizionali, conservazione degli alimenti, composizione delle razioni, modalità di distribuzione). Confrontando l'allevamento di tipo intensivo con quello biologico risulta evidente che solo in quest'ultimo sono pienamente rispettati i criteri di benessere animale. In un allevamento biologico gli animali sono alimentati con prodotti vegetali di origine biologica prodotti nella stessa azienda ed esiste una giusta proporzione tra la quantità di terra a pascolo e il numero di animali. Le razze devono essere autoctone e non selezionate, in modo da ridurre al minimo i trasporti (e i conseguenti stress) e mantenere inalterate le capacità di adattamento all'ambiente proprie delle razze autoctone. Negli allevamenti biologici sono ovviamente vietate le manipolazioni genetiche e la somministrazione di integratori sintetici e di Organismi Geneticamente Modificati (OGM). Le strutture per l'allevamento devono essere salubri, correttamente dimensionate al carico di bestiame, la dieta deve essere bilanciata in accordo con i fabbisogni nutrizionali degli animali. Di contro, le caratteristiche principali degli allevamenti intensivi sono una maggiore densità di animali e un ampio ricorso alla meccanizzazione.

L'allevamento di tipo intensivo lo possiamo considerare come un processo industriale in cui a una determinata quantità di calorie, di proteine e di carboidrati somministrati al bestiame devono corrispondere determinati chilogrammi di carne, uova o latte. Tutto è finalizzato ad aumentare la produzione e, ovviamente, ad abbattere il prezzo finale, ma sicuramente tutto ciò è a discapito del benessere dell'animale e di conseguenza della qualità del prodotto finale. Infatti, oggi la vacca produce mediamente 10 volte quello che è il fabbisogno del vitello, ossia il livello naturale della secrezione di latte. Purtroppo, l'80% di quello che mangiamo è prodotto negli allevamenti di tipo intensivo.

L'allevamento biologico è preferibile non solo per gli ovvi motivi etici, ma anche qualitativi, infatti, l'alimentazione al pascolo conferisce ai prodotti di origine animale maggiori caratteristiche nutraceutiche capaci di esaltare diversi sapori. Quindi, i criteri di allevamento, di alimentazione e di somministrazione della dieta sono decisioni preponderanti che influenzano il prodotto finale.

Il latte prodotto da vacche alimentate al pascolo, ad esempio, diviene un'importante fonte di tocoferoli, carotenoidi, acidi grassi polinsaturi (*PolyUnsaturated Fatty Acids*, PUFA) quali omega 3 e i coniugati dell'acido linoleico (*Conjugated linoleic acid*, CLA). Inoltre, allevando a pascolo otteniamo un duplice beneficio: maggiore benessere per l'animale e conseguentemente una qualità migliore degli alimenti. Un animale allevato a pascolo, ad esempio, presenta livelli di colesterolo minori sia ematici sia nei prodotti finali e tale riduzione è dovuta sia all'attività fisica sia all'azione ipocolesterolemizzante dell'acido alfa-linoleico. L'acido alfa-linoleico è il principale acido grasso presente nel foraggio fresco che, nel ruminante (è il principale substrato del batterio ruminale *Butyrivibrio fibrisolvens*), viene idrogenato ad acido stearico. La bio-idrogenazione, non del tutto completa, determina la presenza nel latte di una quota di acido alfa-linoleico, acido vaccelenico e acido vaccenico che sono metaboliti intermedi del processo di bio-idrogenazione, ed è proprio per questo motivo che aumenta il contenuto di CLA nelle vacche alimentate al pascolo.

Negli allevamenti di tipo intensivo, tra le altre materie prime costituenti la razione, si utilizzano spesso alimenti geneticamente modificati, come ad esempio la soia (farina di estrazione), purtroppo ampiamente impiegata come fonte proteica in questa tipologia di

allevamento. Gli OGM sono organismi viventi il cui patrimonio genetico è stato stabilmente modificato mediante l'inserzione di geni provenienti da altri organismi allo scopo di sviluppare o modificare determinate caratteristiche. Per quanto riguarda i possibili effetti negativi degli OGM sulla salute umana, allergia e tossicità cronica rappresentano i rischi accertati ma la letteratura in questo campo risulta ancora molto carente.

La maggior parte degli studi condotti suggeriscono l'assenza di effetti negativi sul metabolismo di animali alimentati con diete transgeniche e, di conseguenza, escludono potenziali rischi per l'uomo. Di contro, alcuni autori (3) hanno dimostrato che frammenti di DNA vegetale possono essere isolati da organi e tessuti animali il che suggerisce che il DNA vegetale non sia completamente degradato durante la digestione e potrebbe teoricamente integrarsi con il DNA animale. Inoltre, in recenti studi, altri autori hanno rilevato alterazioni della sintesi di enzimi organo-specifici (4) o del metabolismo cellulare in animali alimentati con soia geneticamente modificata (5). In particolare, le analisi enzimatiche relative alle attività tissutali hanno mostrato differenze significative dei livelli di latticodeidrogenasi (LDH), alanina amino transferasi (ALT) e gamma glutamil transferasi (γ GT) principalmente nel rene e nel fegato. Seppur in assenza di modificazioni sieriche, la presenza di una maggiore attività tissutale suggerisce la presenza di una modificazione del metabolismo cellulare. In tal senso, un aumento di LDH può essere indice di una aumentata conversione del lattato in piruvato e, appunto, di un incremento del metabolismo cellulare, e tale ipotesi è in accordo con quegli autori che hanno mostrato significative modifiche di alcune caratteristiche nucleari in topi alimentati con OGM. Inoltre, l'aumento di γ GT, enzima coinvolto nell'incrementare la disponibilità aminoacidica per la sintesi proteica può a sua volta essere espressione di un incremento dell'attività cellulare. Nel loro insieme, questi risultati suggeriscono un alto tasso metabolico e un intenso traffico molecolare.

Nonostante tali studi, a volte limitati nel tempo o in attesa di un follow-up significativo, non abbiano ancora evidenziato una diretta connessione tra alimentazione GM ed eventi patologici, di fatto essi confermano la persistenza di frammenti di DNA GM nel fegato e nel rene degli animali trattati ponendo in evidenza una modificazione del metabolismo di LDH e γ GT in questi organi.

Conclusioni

Tali risultati indicano che la ricerca sugli OGM utilizzati in veterinaria in tal senso merita sicuramente ulteriori approfondimenti. È evidente che la tendenza verso un ritorno al passato per ciò che riguarda l'alimentazione degli animali da allevamento è auspicabile secondo numerosi studi scientifici. Si dovrebbe cercare di ristabilire l'equilibrio del caratteristico ciclo di produzione dell'azienda agricola che legava animali allevati, coltivazione del suolo e le produzioni vegetali. Purtroppo, allo stato attuale il fabbisogno mondiale alimentare e le esigenze proteiche della società odierna sono tali da non poter essere assorbiti da allevamenti di tipo biologico, i quali non possono minimamente essere concorrenziali economicamente con quelli intensivi. Quindi, bisognerebbe ottimizzare le condizioni del benessere animale negli allevamenti intensivi, attraverso migliori sistemi di monitoraggio, di alimentazione (eliminando gli OGM) e anche di trasporto, macellazione e trasformazione, cercando così di mediare tra le esigenze produttive e quelle psico-fisiche e ambientali degli animali.

Bibliografia

1. Brambell FWR. *Report of the Technical Committee to Enquire into the Welfare of Animals kept under Intensive Livestock Husbandry Systems. The Brambell Report*. London: HMSO; 1965.
2. Blokhuis H, Keeling LJ, Gavinelli A, Serratosa S. Animal welfare's impact on the food chain. *Trends in Food Science and Technology* 2008;19:75-83.
3. Tudisco R, Lombardi P, Bovera F, D'Angelo D, Cutrignelli MI, Mastellone V, Terzi V, Avallone L, Infascelli F. *Anim Sci* 2006;82:193-9.
4. Tudisco R, Mastellone V, Cutrignelli MI, Lombardi P, Bovera F, Mirabella N, Piccolo G, Calabrò S, Avallone L, Infascelli F. Fate of transgenic DNA and evaluation of metabolic effects in goats fed genetically modified soybean and in their offsprings. *Animal* 2010;4(10):1662-71.
5. Malatesta M, Caporaloni C, Gavaudan S, Rocchi MB, Serafini S, Tiberi C, Gazzanelli G. Ultrastructural morphometrical and immunocytochemical analyses of hepatocyte nuclei from mice fed on genetically modified soybean. *Cell Struct Funct* 2002;27(4):173-80.

ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE E STRESS OSSIDATIVO NELLA RIPRODUZIONE FEMMINILE ANIMALE

Francesca Ciani (a), Natascia Cocchia (a), Vincenzo Mastellone (a), Pietro Lombardi (a),
Maria Elena Pero (a), Eugenio Luigi Iorio (b), Danila d'Angelo (a), Simona Tafuri (a)

(a) Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II, Napoli

(b) Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo, Salerno

Introduzione

I radicali liberi svolgono un ruolo importante nella regolazione dell'attività metabolica e il funzionamento di alcuni organi. Esiste, comunque, una complessa interazione tra pro-ossidanti (radicali liberi) e antiossidanti, finalizzata al mantenimento dell'omeostasi intracellulare. Se si verifica uno squilibrio tra questi, siamo di fronte ad uno stato di stress ossidativo, che risulta essere un fattore di rischio per la salute nonché per la patogenesi dell'infertilità, sia maschile che femminile, umana e animale.

I radicali liberi sono atomi o raggruppamenti di atomi aventi negli orbitali esterni uno o più elettroni spaiati. Essi presentano una reattività più o meno spiccata, legata alla tendenza spontanea ad esistere come entità aventi tutti gli elettroni disposti in coppie, condizione che corrisponde alla stabilità chimica. I radicali liberi vengono classificati sulla base della natura dell'atomo al quale appartiene l'orbitale con l'elettrone spaiato; esistono, quindi, radicali liberi centrati sull'ossigeno, sul carbonio, sull'azoto e/o sul cloro. I radicali liberi dell'ossigeno rientrano nella famiglia delle specie reattive dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS). Con questo termine si intende una classe di specie chimiche reattive derivate dall'ossigeno, di natura non necessariamente radicalica, tutte accomunate dalla tendenza più o meno spiccata ad ossidare vari substrati organici (carboidrati, lipidi, amminoacidi, proteine, nucleotidi). Classici esempi di ROS di natura radicalica sono l'ossigeno singoletto e il radicale idrossile; l'ozono e il perossido di idrogeno sono specie reattive non radicaliche dell'ossigeno. I radicali liberi possono essere generati attraverso diversi meccanismi e, una volta formati, danno luogo ad una serie di reazioni a catena, nel corso delle quali il sito radicalico può essere trasferito o inattivato. Negli organismi viventi i ROS sono generati nel corso della normale attività metabolica cellulare; alcuni agenti esogeni, tuttavia, possono incrementarne la produzione. Le fonti metaboliche primarie di radicali liberi sono: la membrana plasmatica, i mitocondri, i perossisomi, il reticolo endoplasmatico liscio e il citosol. In queste sedi i ROS vengono prodotti o spontaneamente o per effetto di reazioni catalizzate da enzimi o da metalli di transizione (ferro o rame). I ROS sono coinvolti non solo nel metabolismo cellulare ma anche nei "processi reattivi", quali infezioni e infiammazioni. L'anione superossido e gli altri ROS vengono generati sulla superficie esterna della membrana dei leucociti attivati. Queste specie reattive attaccheranno componenti estranei quali i batteri, indebolendone la parete e rendendoli più facilmente accessibili alla fagocitosi e alla loro distruzione. La produzione di radicali liberi da parte delle cellule può subire un incremento notevole per effetto di stimolazioni esterne; agenti fisici (radiazioni ionizzanti e raggi UV), chimici (ozono, idrocarburi aromatici policiclici o taluni farmaci) e biologici (batteri) possono aumentare la produzione attraverso una specifica stimolazione metabolica.

Gli antiossidanti sono gruppi di sostanze di diversa natura chimica che agiscono inattivando o eliminando, con vari meccanismi, i radicali liberi che si sono formati. Essi costituiscono un sofisticato sistema di difesa, risultato di millenni di evoluzione, nel quale annoveriamo enzimi, vitamine, oligoelementi e altre sostanze simil-vitaminiche. Esistono varie classificazioni basate su diversi criteri: origine (antiossidanti endogeni ed esogeni), natura chimica (enzimatici e non-enzimatici), solubilità nei grassi o in acqua. Sulla base del meccanismo d'azione, esistono quattro gruppi di antiossidanti: preventivi, *scavenger*, agenti di riparo e agenti adattativi (1).

Riproduzione nei mammiferi

La fisiologia della riproduzione nei mammiferi, pur avendo similarità tra una specie e un'altra, presenta delle peculiarità specie-specifiche ed è influenzata da diversi fattori. Il ciclo estrale, inteso come intervallo tra due successive ovulazioni, ha durata variabile. Il ciclo estrale si compone di 4 fasi:

1. Il proestro è la fase di rapido accrescimento follicolare che precede l'estro. Nei grossi animali domestici questa fase si instaura dopo la regressione del Corpo Luteo (CL).
2. L'estro è il periodo di recettività sessuale al termine del quale avviene l'ovulazione. Il termine calore si riferisce, in modo colloquiale, al termine estro.
3. Il metaestro è il periodo durante il quale inizia lo sviluppo del CL. L'inizio di questa fase coincide con la fine dell'estro.
4. Il diestro è la fase di attività luteale matura che si esaurisce con la regressione del CL.

Da un punto di vista comportamentale il ciclo estrale si può suddividere in una fase estrale, di recettività sessuale, e diestrane, di mancata recettività sessuale. La fase follicolare (che racchiude proestro ed estro) e la fase luteinica (che racchiude metaestro e diestro) sono termini che descrivono il ciclo riproduttivo sulla base dell'attività ovarica.

Fattori ambientali e riproduzione animale

I cicli riproduttivi e in particolare l'attività ovarica sono sottoposti al controllo ormonale dell'ipotalamo attraverso la secrezione pulsatile di *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH), dell'ipofisi anteriore (gonadotropine) e degli steroidi ovarici (estrogeni e progesterone). Esistono anche altri sistemi di controllo esterni in grado di modificare l'attività ciclica riproduttiva. Tra questi annoveriamo il fotoperiodo, la temperatura ambientale, l'alimentazione, i molteplici fattori sociali rilevati da sistemi sensoriali olfattivi, visivi e uditivi. Le informazioni provenienti da questi stimoli raggiungono l'ipotalamo e influenzano la secrezione di gonadotropine da parte dell'adenoipofisi.

La luce è il fattore ambientale più potente in grado di influenzare il ciclo riproduttivo negli animali a stagionalità riproduttiva. Tra gli animali domestici influenzati dal fotoperiodo, vi sono la gatta, la capra, la pecora, la cavalla. La ghiandola pineale (epifisi) è la ghiandola endocrina capace di rilevare i cambiamenti del fotoperiodo. La melatonina, prodotta da questa ghiandola, svolge un ruolo chiave nell'influenzare l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi. La presenza della melatonina è strettamente correlata all'andamento del fotoperiodo. Essa influenza la risposta del sistema riproduttivo in modo variabile ma in accordo con le diverse specie e con la natura della loro stagionalità riproduttiva. Gli animali, infatti, presentano diverse risposte riproduttive al fotoperiodo. La gatta e la cavalla entrano in fase di anestro stagionale durante l'autunno come conseguenza della diminuzione delle ore di luce; l'attività riproduttiva si

ristabilisce in primavera-estate. Una situazione opposta si verifica nelle pecore e nelle capre dove l'attività ciclica ovarica si interrompe quando le ore di luce aumentano e si ristabilisce quando queste si riducono. Specie domestiche come le scrofe e le bovine presentano ciclo riproduttivo continuo, infatti esistono dati sperimentali che suggeriscono un ruolo del fotoperiodo sulla riproduzione (2).

La melatonina, oltre che un ormone, è anche un antiossidante endogeno. A differenza di altri antiossidanti, tuttavia, la melatonina non può sottoporsi al ciclo redox; infatti, la melatonina ossidata è incapace di ritornare al suo stato ridotto perché, avvenuta la reazione, forma prodotti finali stabili. La melatonina sembra avere alcune funzioni nei diversi stadi di sviluppo del follicolo, nella maturazione degli ovociti e nella fase luteale. La concentrazione di melatonina nel fluido follicolare durante la crescita del follicolo può essere un fattore importante nell'evitarne l'involutione, la cosiddetta atresia, poiché riduce l'apoptosi; inoltre svolge azioni di protezione durante la maturazione degli ovociti. È stata segnalata nel follicolo ovarico una correlazione tra le concentrazioni di melatonina nel fluido follicolare e la qualità dell'oocita. Le azioni della melatonina in queste cellule sono mediate attraverso recettori di membrana e probabilmente anche attraverso siti di legame nel nucleo e nel citosol. Oltre alle sue azioni recettoriali, la melatonina funziona anche come *scavenger* di radicali liberi per ridurre lo stress ossidativo a livello delle ovaie; questa azione benefica avviene senza interazione con recettori (3).

Radicali liberi e fertilità animale

I ROS influiscono sui processi fisiologici della riproduzione e fertilità, dalla maturazione degli ovociti per la fecondazione, allo sviluppo embrionale e alla gravidanza. Diversi studi indicano che l'atresia follicolare nei mammiferi è data dall'accumulo di metaboliti tossici, spesso risultato di uno stress ossidativo. È stato suggerito che i ROS a concentrazioni moderate giocano un ruolo nei processi di trasduzione del segnale coinvolti nella crescita e nella protezione dall'apoptosi. Al contrario, l'aumento dei livelli di ROS è il principale responsabile per l'alterazione di macromolecole, come lipidi, proteine e acidi nucleici, che portano ad un grave danno di strutture cellulari e quindi causano stress ossidativo. Per evitare danni causati dai ROS, le cellule possiedono diversi sistemi antiossidanti sia di natura enzimatica che non enzimatica. Gli antiossidanti non enzimatici includono la vitamina C, il glutatione, la cisteina, la vitamina E, mentre quelli enzimatici comprendono le superossido dismutasi MnSOD e Cu/ZnSOD, presenti rispettivamente nei mitocondri e nel citoplasma e deputate alla conversione dell'anione superossido in perossido di idrogeno, la glutatione perossidasi e la catalasi che neutralizzano invece il perossido di idrogeno. L'omeostasi intracellulare è assicurata da complesse interazioni tra pro-ossidanti e antiossidanti.

Nelle tecnologie di riproduzione assistita, specialmente in campo veterinario, molti sono gli studi effettuati in vitro in cui i ROS risultano responsabili della riduzione delle rese in termini di maturazione ovocitica, fecondazione in vitro, produzione e accrescimento embrionario. Per contrastare questi effetti deleteri vari antiossidanti sono stati utilizzati, da soli o in combinazione nel terreno di coltura in vitro o nel medium di trasporto delle gonadi. Questi risultati incoraggianti potrebbero essere traslati in altri campi della ricerca e utilizzati per migliorare le condizioni di trasporto di organi utilizzati nei trapianti (4).

Conclusioni

Lo stress ossidativo causato dall'aumento della produzione di specie ossidanti e/o dalla ridotta efficacia del sistema antiossidante rappresenta un emergente fattore di rischio per la salute implicato nell'invecchiamento e in molte malattie, sia nell'uomo che negli animali. I ROS rappresentano una lama a doppio taglio, servono come molecole per la trasmissione di messaggi nei processi fisiologici, ma rivestono un ruolo anche nei processi patologici che coinvolgono l'apparato riproduttivo femminile. Diversi studi indicano che l'atresia follicolare, dovuta all'accumulo di metaboliti tossici è spesso il risultato di stress ossidativo.

È stato suggerito che i ROS a concentrazioni moderate giocano un ruolo nei processi di trasduzione del segnale coinvolti nella crescita e nella protezione dall'apoptosi. Al contrario, l'aumento dei livelli di ROS è il principale responsabile dell'alterazione di macromolecole come lipidi, proteine e acidi nucleici, che portano ad un grave danno di strutture cellulari e quindi causano stress ossidativo. Danno ossidativo a carico dei lipidi dell'ovocita è stato considerato causa di persistente e scarsa qualità degli ovociti. È stato studiato il ruolo di enzimi antiossidanti, come la catalasi, glutatione perossidasi e le isoforme SOD nel mantenere bassi livelli di stress ossidativo.

Bibliografia

1. Luderer U. Ovarian toxicity from reactive oxygen species. In: Litwack G (Ed.). *Vitamins and hormones*, Vol. 94. Burlington: Academic Press; 2014. p. 99-127.
2. Swenson MJ, Reece WO. *Fisiologia degli animali domestici*. Napoli: Idelson-Gnocchi Ed.; 2002. p.736-69.
3. Cruz MHC, Leal CLV Cruz JF, Tan DX, Reiter RJ. Essential actions of melatonin in protecting the ovary from oxidative damage. *Theriogenology* 2014;82(7):925-32.
4. Cocchia N, Corteggio A, Altamura G, Tafuri S, Rea S, Rosapane I, Sica A, Landolfi F, Ciani F. The effects of superoxide dismutase addition to the transport medium on cumulus-oocyte complex apoptosis and IVF outcome in cats (*Felis catus*). *Reprod Biol* 2015;15(1):56-64.

ALIMENTAZIONE, NUTRACEUTICA E FITOTERAPIA: UNA NUOVA FRONTIERA FRA TRADIZIONE E INNOVAZIONE

Rosaria Ferreri

Centro Ospedaliero di Medicina Integrata, ASL 9, Ospedale di Pitigliano, Grosseto

Introduzione

Nel corso degli ultimi anni le ricerche volte a comprendere lo stretto rapporto tra alimentazione e salute hanno permesso di chiarire che l'assunzione di determinati alimenti o la composizione di una determinata dieta può influenzare l'avvio di processi metabolici "perversi" che sono alla base di molte delle patologie croniche che affliggono questo millennio.

Attraverso l'*excursus* di patologie, le più varie (cardiovascolari, metaboliche, tumorali, endocrinologiche, ecc.) e dei meccanismi che possono influenzare il loro sviluppo e decorso, ci si è resi conto di come l'alimentazione (e quindi la nutraceutica e anche l'integrazione fito-nutrizionale) riesca ad influenzare in maniera a volte determinante uno stato patologico. È questa la nuova frontiera terapeutica nelle malattie pandemiche del terzo millennio; ma paradossalmente è una problematica difficile da affrontare in quanto coinvolge abitudini di vita le più diverse, *status* socio-economici differenti e anche forse interessi economici che non sempre sono indirizzati ad incoraggiare comportamenti di tipo preventivo.

Metabolismo glucidico nelle cellule neoplastiche

È noto che le cellule tumorali sono metabolicamente più attive, captano più glucosio e mostrano un'augmentata velocità di glicolisi (più di 10 volte) rispetto alle cellule normali (1) e ne è prova la scoperta e l'utilizzo diagnostico della tomografia ad emissione di positroni (PET) che si esegue con somministrazione per via endovenosa al paziente di molecole di glucosio marcate con radioisotopi che emettono positroni; tra queste la più utilizzata è il fluoro-desossi-glucosio (18F-FDG). Oncogeni (come la fosfatidilinositolo-3-chinasi - PI3K) e oncosoppressori (come la p53) possono influenzare lo *switch* tra glicolisi anaerobica e ciclo degli acidi tricarbossilici (modulando l'espressione di specifici enzimi) e aumentare la captazione di glucosio e di glutammina. Quindi, il destino metabolico del glucosio nelle cellule tumorali contribuisce al fenotipo tumorale; quindi cibi ad elevato indice glicemico quali le farine bianche, gli zuccheri raffinati, l'alcol ecc. andrebbero ridotti o eliminati, sia in chiave preventiva ma anche in corso di trattamento delle patologie neoplastiche conclamate. Quindi il glucosio così come l'utilizzo di integratori che possono rappresentare uno stimolo per la crescita delle cellule tumorali stesse, determinandone una accelerazione del metabolismo, dovrebbero essere assunti con cautela. La visione del cancro come malattia metabolica è stata provata dagli studi che hanno condotto alla formulazione della teoria dell'effetto Warburg che porta a produrre energia con risorse limitate e a favorire percorsi metabolici che possano sostenere la proliferazione cellulare: lo *switch* metabolico comporta la riduzione dell'uso del ciclo degli acidi tricarbossilici e aumenta

l'attività della glicolisi anaerobica (agevolata, appunto, anche dall'innesco di fattori trascrizionali), determinando un elevato consumo di glucosio e la produzione di acido lattico.

Influenza dell'alimentazione sull'attività delle cellule *natural killer*

Le cellule *Natural Killer* (NK), le più attive nella sorveglianza antineoplastica e antivirale (2), sono in grado di produrre citochine (come l'interferon gamma, IFN- γ) e non necessitano di attivazione specifica: sono capaci di eliminare fino a 2 miliardi di cellule neoplastiche in poche settimane (3). Se la loro attività viene a ridursi aumenta il rischio di insorgenza delle patologie tumorali; per consentire un migliore funzionamento della prima linea di difesa cellulare; inoltre, le cellule *NK* provvedono a disinnescare il processo infiammatorio che si attiva in presenza di fattori insulino-simili quali l'*Insulin-like Growth Factor 1* (IGF-1). È proprio attraverso il processo infiammatorio che l'ambiente diventa favorevole alla progressione neoplastica, come dimostrato in numerosi studi e tale infiammazione favorisce anche il processo di angiogenesi tumorale. Anche in questo caso l'attivazione non è automatica, ma viene ad essere determinata in seguito all'ipossia tissutale, come richiesta di vascolarizzazione accessoria da parte del tessuto: lo *switch* angiogenico può verificarsi in qualsiasi fase della progressione tumorale, in dipendenza del tipo di tumore, ma, nella maggior parte dei casi, risulta essere un prerequisito per la crescita del tumore stesso.

Sostanze naturali per contrastare la crescita tumorale

I meccanismi responsabili dell'angiogenesi tumorale non sono ancora stati chiariti completamente, ma si propone uno schema semplificato. Le cellule endoteliali giocano un ruolo importante nella neovascolarizzazione dei tumori indotta dai microtumori. Da questo punto di vista il fattore prossimale più importante per l'angiogenesi è il fattore di crescita endoteliale vascolare (*Vascular Endothelial Growth Factor*, VEGF). Il VEGF è uno dei fattori maggiormente coinvolti nell'aumento della permeabilità vascolare e nei processi metastatici. La sua attività è regolata da vari fattori pro-infiammatori e proangiogenetici come l'ossido nitrico (*Nitric Oxide*, NO), le prostaglandine e anche il fattore di necrosi tumorale α (*Tumor Necrosis Factor*, TNF- α).

La stabilità e coerenza della matrice extracellulare è un altro dei fattori fondamentali di controllo dell'angiogenesi, dato che per poter vascolarizzare un tumore è necessario che la matrice extracellulare perda di coerenza e permetta la diffusione di vari fattori e la crescita del nuovo vaso. Anche le condizioni di ipossia sono favorevoli al processo di angiogenesi. In condizioni di normossia il fattore inducibile da ipossia, *Hypoxia-Inducible Factor 1* (HIF-1), viene degradato, ma in condizioni di ipossia viene degradato di meno ed è quindi libero di interagire con altri cofattori e stimolare l'angiogenesi. Dato che il microtumore è, prima della vascolarizzazione, ipossico, in esso vengono espressi vari cofattori angiogenetici.

Uno dei punti di snodo fondamentali che unisce questi processi sono le attività del fattore nucleare kappa B (NF-kB) e della proteina attivatrice-1 (AP-1), due fattori di trascrizione genica (sempre in eccesso nelle cellule tumorali) fondamentali nella risposta pro-infiammatoria indotta dall'endotossina batterica. Essi controllano molte attività cellulari: l'NF-kB media l'attività immunitaria, l'infiammazione, le collagenasi e la proliferazione cellulare, e l'AP-1 soprattutto la proliferazione cellulare. Di particolare interesse è il legame tra NF-kB e infiammazione, perché

quest'ultima facilita l'angiogenesi, l'invasione e le metastasi, e d'altro canto è un importante fattore protumorale.

A loro volta NF- κ B e AP-1 influenzano la produzione di NO regolando l'espressione della sintasi inducibile del NO (*inducible Nitric Oxide Synthase*, iNOS), la produzione di TNF- α , l'attività delle cicloossigenasi (COX) e quindi la sintesi delle prostaglandine. Questi fattori pro-infiammatori, sommati all'azione dell'ipossia tramite HIF-1 e AP-1 e vari altri cofattori, inducono l'espressione di VEGF e aumentano l'infiammazione. Il VEGF, a sua volta, attiva una cascata metabolica che promuove la degradazione della matrice extracellulare, la proliferazione endoteliale e in definitiva l'angiogenesi.

La terapia antiangiogenetica di taluni tumori è una delle strategie messe in atto recentemente e in tal senso sono in fase di studio alcune molecole naturali con effetto antiangiogenetico, una delle quali è la PEA (palmitoiletanolamide): derivato degli acidi grassi di membrana (amide tra acido palmitico ed etanolamina, composto endogeno presente largamente negli organismi viventi animali e vegetali) possiede proprietà cannabimimetiche, pur non legando direttamente i recettori per i cannabinoidi CB1 e CB2 *in vitro*. Poiché essa è prodotta *on demand* durante l'infiammazione e agisce localmente antagonizzando lo stimolo infiammatorio è stata definita ALIAMide (*Autacoid Local Injury Antagonism Amide*). La PEA riduce il processo pro-infiammatorio e proliferativo indotto da β -amiloide, noto come gliosi reattiva, valutato sia come vitalità cellulare che come rilascio di mediatori pro-infiammatori. Inoltre la PEA è stata capace di ridurre l'espressione di molecole proangiogeniche, quali il TNF- α , la metalloproteinasi-9 di matrice (MMP-9) e il VEGF stesso, mostrando così la sua capacità anche nel modulare l'angiogenesi connessa alla gliosi reattiva indotta.

Un'altra sostanza con effetti simili è la curcumina estratta dalla *Curcuma longa*. Si tratta di una spezia utilizzata da secoli nella medicina tradizionale indiana (ayurvedica) e hawaiana. La tradizione ayurvedica riporta l'origine dell'uso della curcumina a 10.000 anni fa, quando il dio Rama venne sulla Terra. Se ne usa la polvere (gialla, pertanto viene anche indicata come zafferano delle Indie) della radice essiccata, che ha un sapore piccante.

I curcuminoidi e la curcumina agiscono sul processo di angiogenesi tumorale tramite processi multipli e interdipendenti, che risultano essere: una azione a livello dell'NF- κ B e di AP-1, legati ai processi infiammatori, e dell'*Early Growth Response protein-1* (EGR-1) (questa attività riduce l'espressione della IL-8 in linee cellulari così come la sintesi del VEGF), l'inibizione dell'angiogenesi mediata dall'NO e dall'iNOS e l'inibizione dell'espressione di COX-2 e lipoossigenasi (LOX), l'azione a livello di fattori angiogenetici, quali il VEGF, il principale fattore di migrazione, gemmazione, sopravvivenza, e proliferazione durante l'angiogenesi, e il fattore di crescita basilare dei fibroblasti (bFGF). Infine l'EGR-1 agisce a livello della stabilità e della coerenza della matrice extracellulare, con downregolazione della MMP2 e della MMP9, e upregolazione dell'inibitore tessutale della metalloproteinasi-1 (TIMP1).

Attività dei lipidi nelle patologie tumorali

Lo studio del complesso sistema metabolico cellulare si è arricchito negli ultimi anni di tecniche avanzate che ne consentono l'analisi più dettagliata; in particolare, l'avvento delle scienze cosiddette "omiche" ha reso possibile l'identificazione di migliaia di specie molecolari, le più diverse, consentendo un approccio diagnostico/terapeutico molto più mirato attraverso la valutazione di aspetti che, prima del loro impiego, non venivano nemmeno considerati (4); tra queste scienze consideriamo qui la "lipidomica", una disciplina facente parte della metabolomica, che mira a definire struttura e funzioni di tutte le specie molecolari di lipidi

presenti a livello cellulare: questi, come tali, non solo sono presenti nella matrice a doppio strato delle membrane cellulari (quindi influenzano le diverse funzionalità di essa) ma fungono da deposito di energia e ricoprono il ruolo anche di secondi messaggeri, partecipando ai meccanismi di *cell-signaling* (attraverso domini cosiddetti *raft*). La separazione e identificazione di queste molecole si basa sulla metodica di Gas-cromatografia o *High Performance Liquid Chromatography* (Gc o HPLC) attualmente accoppiate anche a tecniche di spettrometria di massa con varie sorgenti.

L'enorme complessità del lipidoma cellulare (comprendente fino a circa 200.000 differenti specie derivate da lipidi) si sta rivelando una fonte di informazioni utili e utilizzabili in diverse patologie, tra cui quella cancerosa: oramai è ampiamente accertata l'ipotesi del ruolo dei lipidi, come modulatori diretti di funzioni proteiche o segnali intracellulari, come ligandi per recettori di membrana o nucleari nonché come neuro modulatori. Questi studi sono stati determinanti nella ridefinizione di pattern clinico-diagnostici in corso di patologie neoplastiche che ora prendono in considerazione la lipidomica come possibile strategia terapeutica/nutrizionale aggiuntiva per la modulazione del processo infiammatorio/degenerativo e la regolazione del messaggio di apoptosi tumorale (utile quindi anche in prevenzione, per la sua funzione di modificazione epigenetica dei vari processi).

Pertanto la composizione della dieta e dei prodotti che in essa vengono utilizzati (con particolare riferimento ai prodotti lavorati nelle industrie alimentari) rappresenta un importante messaggio cellulare che, come è stato ampiamente dimostrato, ha anche effetto epigenetico influenzando l'espressione genica e riuscendo a mutare un trend (vedi ad esempio l'effetto delle diete sulle concentrazioni di omocisteina nel sangue).

Inoltre, proprio dallo studio approfondito del ruolo dei lipidi come modulatori/trasmittitori, sono stati individuati altri nuovi target terapeutici a cui essi possono contribuire. E qui torniamo a parlare della PEA, già presentato come inibitore dell'angiogenesi tumorale. La PEA, sintetizzata a partire dal precursore fosfolipidico, viene rilasciata in seguito a stimoli lesivi al fine di prevenire l'eccessiva propagazione della risposta infiammatoria o di inibire le reazioni di ipersensibilità ritardata, risultando efficace anche nella riduzione di produzione della COX-2 e di TNF- α . Oltre all'attività antiinfiammatoria, la PEA presenta una serie di effetti farmacologici che, nel campo della lotta al dolore, la stanno rendendo sempre più interessante anche per le innumerevoli applicazioni terapeutiche e le scarse interazioni farmacologiche: effetto analgesico importante tramite l'attivazione degli endocannabinoidi e l'attivazione del *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α* (PPAR- α), un recettore la cui stimolazione produce profondi e rapidi effetti in modelli di dolore acuto, infiammazione persistente e dolore neuropatico. Inoltre, la PEA esercita altri effetti documentati quali la riduzione dello stress ossidativo (riduzione nella produzione di NO), con protezione dell'endotelio vascolare miocardico. Tale effetto si realizza tramite la regolazione dei recettori PPAR a livello non solo dell'infiammazione ad essi correlata ma anche di altri meccanismi che riconoscono l'utilizzo di altri sottogruppi di PPAR, tra cui la metabolizzazione dei lipidi e degli zuccheri essendo alcuni tipi di recettori (il PPAR- γ) presenti nel tessuto adiposo. Ma al momento attuale altri tessuti in cui i PPAR sono espressi (muscolare, cervello, retina, colon, sistema immunitario, epitelio mammario, ecc) sono allo studio per valutare la possibilità e l'efficacia nell'impiego della PEA in diversi tipi di patologie comprese quelle tumorali, in quanto i composti cannabinoidi si sono rivelati in grado di inibire la proliferazione e di indurre apoptosi in un considerevole numero di linee cellulari tumorali umane appartenenti ai sopra citati tessuti (5, 6).

Conclusioni

L'utilizzo degli integratori alimentari, in particolare dei nutraceutici, nella prevenzione e trattamento di diverse patologie è ancora molto dibattuto. Pertanto la ricerca in questo settore sarà di grande importanza per dirimere la questione della loro efficacia e per ottimizzarne la somministrazione. Nonostante queste supplementazioni siano da molti considerate inutili o addirittura dannose, un numero notevole di studi ha dimostrato l'utilità preventiva e terapeutica di sostanze nutrizionali (così come dei fitoterapici). Inoltre viene stimato che oltre il 90% delle persone presenta una o più deficienza nutrizionale sufficienti ad alterare nel tempo il metabolismo e ad aumentare il rischio di malattie croniche; questa condizione che viene riconosciuta come la malnutrizione del terzo millennio è caratterizzata dall'associazione di malattie metaboliche da accumulo (diabete, iperlipemie, ecc.) con patologie carenziali anche gravi (*in primis* quelle da carenza di vitamina D e vitamine del gruppo B).

Bibliografia

1. Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science* 2009;324(5930):1029-33.
2. Levy EM, Roberti MP, Mordoh J. Natural killer cells in human cancer: from biological functions to clinical applications. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:676198.
3. Purdy AK, Campbell KS. Natural killer cells and cancer: regulation by the killer-cell Ig-like receptors (KIR). *Cancer Biol Ther* 2009;8(23):2211-20.
4. Spratlin JL1, Serkova NJ, Eckhardt SG. Clinical application of metabolomics in oncology: a review. *Clin Cancer Res* 2009;15(2):431-40.
5. Grimaldi C, Capasso A. The endocannabinoid system in cancer therapy: an overview. *Curr Med Chem* 2011;18(11):1575-83.
6. Guindon J, Hohmann AG. The endocannabinoid system and cancer: therapeutic implication. *Br J Pharmacol* 2011;163(7):1447-63.

INFERTILITÀ DI COPPIA: UNA NUOVA PANDEMIA?

Sara Pinto Provenzano, Daniela Domenica Montagna, Lamberto Coppola
Centro Tecnomed, Nardò (Lecce)

Introduzione

Dal 1950-55 ad oggi si è osservato, soprattutto nei Paesi industrializzati, un notevole calo demografico dovuto principalmente ad una diminuzione delle nascite. Si è, infatti, passati, in media, da quasi 5 figli per famiglia a 1,5 circa. Inoltre, il numero di figli per donna delle immigrate risulta essere nettamente superiore a quello delle donne europee, e sono quindi quelli nati da queste ultime che permettono il raggiungimento della soglia di 1,5 nati per famiglia.

Il trend è sicuramente causato da svariati fattori, primo fra tutti la precaria situazione economica. Non di secondaria importanza risulta però essere l'incremento di una problematica sociale che sta assumendo rilevanti proporzioni: l'infertilità di coppia. Dagli ultimi dati ISTAT si stima che il problema riguardi circa il 15% della popolazione dei Paesi industrializzati, situazione confermata anche in Italia.

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e l'*American Fertility Society* (AFS) una coppia è da considerarsi infertile quando non è in grado di concepire e di avere un bambino dopo un anno o più di rapporti sessuali; viceversa è da considerarsi sterile quella coppia nella quale uno od entrambi i coniugi sono affetti da una condizione fisica permanente che non renda possibile avere dei bambini. Vengono definite affette da infertilità secondaria quelle coppie che non riescono ad avere un bambino dopo una o più gravidanze coronate da successo.

La definizione di infertilità proposta dall'OMS e dall'AFS trae origine da un vecchio e noto lavoro di Whitelaw e collaboratori (1) pubblicato nel 1960 che dimostrava, sulla base di uno studio condotto in una popolazione omogenea degli Stati Uniti, come circa il 56% delle coppie sane concepiva entro il 1° mese di rapporti sessuali; il 78% entro il 6° mese e ben l'86% delle coppie concepiva entro il 12° mese.

Eziopatogenesi dell'infertilità di coppia

L'incremento che il fenomeno ha subito negli ultimi 20 anni è anche causato dall'influenza di fattori etiologici quali:

- agenti chimici/fitofarmaci;
- inquinamento ambientale;
- fumo;
- abitudini alimentari;
- abitudini sessuali, con il loro potenziale di trasmissione di malattie infettive;
- fattori psico-emozionali;
- condizionamenti sociali, legati alla nuova posizione della figura femminile nel contesto della vita lavorativa, economica, culturale e di costume, con un generale orientamento di programmazioni riproduttive in epoca più tardiva rispetto alle passate generazioni.

Quest'ultimo punto ha avuto un forte impatto sul problema, considerando che la potenzialità della coppia di generare un figlio diminuisce progressivamente con l'aumentare dell'età (Tabella 1).

Tabella 1. Percentuale di coppie infertili in base all'età

Età	Percentuale
Da 30 a 34 anni	28
Da 35 a 39 anni	40
Da 40 a 44 anni	50

La durata della sterilità costituisce uno degli indicatori prognostici più significativi: coppie con una storia di sterilità primaria più lunga di 3 anni hanno una probabilità minima di ottenere una gravidanza spontanea.

Alcuni dati sulla infertilità sono:

- infertilità maschile: 35,4%
- infertilità femminile: 35,5%
- infertilità maschile e femminile: 15%
- infertilità idiopatica: 13,2%
- altro: 1%.

L'infertilità idiopatica raggiunge quindi quasi il 15% dei casi di infertilità di coppia e il 30% dei casi di infertilità maschile. È presumibile ipotizzare che molti di questi casi siano in realtà il risultato di una diagnostica approssimativa e superficiale, e che questa approssimazione riguardi soprattutto il partner maschile. In molti centri che si occupano di diagnostica per infertilità di coppia, infatti, non è nemmeno presente la figura dell'andrologo, che peraltro dovrebbe essere obbligatoria. Anche le analisi seminali spesso si riducono a spermioγραμμα e spermiocoltura, senza approfondire un aspetto importantissimo della qualità seminale: il DNA degli spermatozoi (2, 3).

Le cause di infertilità, secondo i dati raccolti dal Registro Nazionale sulla Procreazione Medicalmente Assistita dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) sono riportate in Tabella 2

Tabella 2. Principali cause d'infertilità maschile e femminile secondo dati forniti dall'ISS (Registro Nazionale Procreazione Medicalmente Assistita)

Cause	Percentuale
Uomo	
Varicocele	30
Infertilità idiopatica	30
Cause ormonali	8
Patologie testicolari	8
Problemi sessuali	5
Infezioni genitali	5
Malattie sistemiche	4
Donna	
Endocrine	40
Tubarico-pelviche	35
Uterine	10
Vaginali	5
Cervicali	5

La ricerca nel settore della procreazione ha messo a punto negli anni numerosi test per la diagnosi specialistica delle cause di sterilità maschile; i centri che li eseguono sono però pochissimi in Italia. Quindi, di fronte ad uno spermogramma (eseguito spesso senza i criteri di valutazione dell'OMS) con parametri nella norma, si etichetta il caso come sterilità inspiegata. Numerosi dati in letteratura dimostrano invece come molti casi di normospermia nascondano invece un alterato indice di frammentazione del DNA spermatico, che rende difficoltosa la riproduzione sia in vivo che in vitro. Inoltre, un alterato indice di frammentazione del DNA potrebbe essere la causa principale in casi di poliabortività, dove in genere viene indagata esclusivamente la partner femminile (2, 5, 6).

Diagnosi e meccanismi molecolari dell'infertilità

Altro fattore spesso trascurato nella diagnostica, sia femminile che maschile, è lo stress ossidativo. Tale condizione, causata dallo sbilanciamento tra radicali liberi e barriera antiossidante, è ampiamente diffusa a causa di inquinamento, scorrette abitudini alimentari ed errati stili di vita (fumo, droghe, alcol). La convivenza dell'organismo con tale stato di alterazione può comportare danni diffusi ai gameti, ed è spesso associato a poliabortività (soprattutto quando presente nella donna), invecchiamento ovarico precoce, frammentazione del DNA spermatico e lipoperossidazione di membrana degli spermatozoi (6, 7).

È possibile inoltre indagare la capacità di decondensazione del DNA spermatico post fecondazione, analizzando la corretta sostituzione istoni-protammine e il contenuto intraspermatozoario di zinco, che lega i ponti disolfuro. Anche i fenomeni apoptotici, che regolano la corretta produzione degli spermatozoi, possono sfuggire al controllo testicolare e portare alla produzione di spermatozoi vitali ma difettosi, con possibilità quindi di arrivare a fecondare ma non di dare origine a embrioni vitali. In casi molto rari è stato inoltre dimostrato come l'infertilità di coppia può avere base autoimmunitaria. Pertanto, in casi di infertilità inspiegata, sarebbe utile un dosaggio di autoanticorpi sia nel liquido seminale che nel muco cervicale, oltre alla realizzazione di prove crociate tra spermatozoi e muco cervicale della partner per la valutazione del movimento spermatozoario nel muco.

Dal punto di vista femminile, invece, esiste ancora un gap diagnostico nella spesso mancata valutazione dell'età ovarica. In letteratura è ormai ampiamente riportata l'importanza del ruolo di alcuni indicatori di riserva ovarica, quali la conta ecografica dei follicoli antrali e il dosaggio dell'ormone antimülleriano (AMH). Pertanto, sarebbe utile utilizzare questi indicatori nella diagnostica routinaria femminile, per evidenziare casi di esaurimento ovarico precoce (*Premature Ovarian Failure*, POF) anche in donne giovani, che purtroppo sono in aumento. E' possibile inoltre utilizzare questi strumenti anche per stabilire terapie induttive in cicli di inseminazione o rapporti mirati (8).

Conclusioni

L'infertilità di coppia è sicuramente un problema globale con un forte impatto sulla società. Resta però da chiedersi se l'impegno profuso nella diagnosi e terapia del problema sia sufficiente o ci sia un'adeguatezza nei metodi di valutazione. Probabilmente se venissero applicati iter diagnostici più consoni si riuscirebbe a ridurre quella quota di infertilità idiopatica riducendo così, in parte, l'estensione del problema.

Bibliografia

1. Whitelaw MJ. Statistical evaluation of female fertility. *Fertil Steril* 1960;11:428-36.
2. Hamada A, Esteves SC, Agarwal A. Unexplained male infertility: potential causes and management. *Human Andrology* 2011;1:2-16.
3. Hamada A, Esteves SC, Agarwal A. Unexplained Male Infertility – Looking Beyond Routine Semen Analysis. *European Urological Review* 2012;7(1):90-6.
4. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, Krausz C; European Association of Urology Working Group on Male Infertility. European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. *Eur Urol* 2012;62(2):324-32.
5. Olooto WE. Infertility in male; risk factors, causes and management- A review. *J Microbiol Biotech Res* 2012;2(4):641-645.
6. Jaiswar SP, Sachan R, Singh RK, Agarwal M. Free radicals in female infertility. *J Obstet Gynecol India* 2006;56(1):64-7.
7. Montagna DD, Pinto Provenzano S, Coppola GA, Caroli Casavola V, Ortensi I, Coppola L. Integrità del DNA spermatico nelle gravidanze spontanee. In: *Atti del Congresso Società Italiana di Andrologia - SIA*. Fiuggi, 2-5 novembre 2011. p.10.
8. Dahiya P, Dahiya K, Dhankhar R, Hooda N, Nayar KD. The role of the Anti-Müllerian Hormone in female fertility: a review. *J Clin Diagn Res* 2011;5(2):384-7.

STRATEGIE DI PROTEZIONE MOLECOLARE NELLE PATOLOGIE DERMATOLOGICHE E NELL'INVECCHIAMENTO CUTANEO

Mariuccia Bucci

Dipartimento NutriDermatologia e NutriLipidomica, International Italian Society of Plastic Regenerative and Oncologic Dermatology, Milano

Introduzione

Le variazioni nel regime alimentare avvenute nel corso degli anni, hanno comportato un aumento significativo del consumo di acidi grassi saturi (*Saturated Fatty Acids*, SFA) e di acidi grassi polinsaturi (*PolyUnsaturated Fatty Acids*, PUFA) omega-6 con una concomitante riduzione dell'apporto di PUFA omega-3.

Nella tipica dieta occidentale il consumo di PUFA omega-6 è venti volte quello di PUFA omega-3, fattore che contribuisce a un maggiore rilascio di metaboliti pro-infiammatori dell'acido arachidonico.

Numerose evidenze scientifiche indicano che le modificazioni dietetiche possono influenzare l'invecchiamento, la gravità delle patologie dermatologiche e ridurre la prevalenza e l'incidenza, soprattutto andando ad agire sullo stato infiammatorio del paziente. La funzione cutanea, infatti, è strettamente correlata alla funzionalità della membrana cellulare ovvero, a livello molecolare, alla composizione dei fosfolipidi e degli acidi grassi che influenzano la permeabilità e la fluidità delle membrane.

Analizzando, mediante lipidomica, gli acidi grassi presenti nei fosfolipidi di membrana e il bilanciamento tra le componenti sature e insature, è possibile fotografare lo stato di un soggetto nel contesto di diversi fattori influenti (metabolismo, familiarità, stress, dieta, ecc.) (1, 2). Con tale metodica sono stati individuati i profili lipidomici per diverse patologie dermatologiche: la dermatite atopica, la dermatite seborroica, la psoriasi, l'invecchiamento cutaneo, ecc. Attraverso questi profili è possibile individuare sia la condizione di squilibrio della membrana in base al tipo di acido grasso trovato in eccesso o in difetto, sia il possibile scompenso tra le diverse famiglie di acidi grassi (saturi vs monoinsaturi, omega-6 vs omega-3).

In base alla normativa della Comunità Europea che riguarda i *claim* salutistici degli integratori alimentari e cibi funzionali attiva dal luglio 2007 (Regolamento (CE) 1924/2006), l'integrazione nutraceutica di acidi grassi deve tener conto di alcuni importanti fattori:

- a) la scelta dei principi attivi deve essere eseguita alla luce delle acquisizioni scientifiche ottenute mediante esperimenti significativi;
- b) la biodisponibilità dei composti polinsaturi utilizzati deve essere associata ad una protezione antiossidante, per evitarne la degradazione in vivo, e a molecole o cofattori che ne favoriscano la trasformazione a fosfolipidi con relativa incorporazione nella membrana cellulare.

Utilizzando la lipidomica, l'intervento nutraceutico non è soltanto basato sulla scelta degli ingredienti per il loro meccanismo di azione noto, ma anche sulla loro specifica capacità di soddisfare e sanare lo sbilanciamento del profilo di membrana.

Patologie dermatologiche e alterazioni del profilo di acidi grassi

Il profilo lipidomico del soggetto affetto da dermatite atopica presenta costantemente un eccesso di SFA, di acido linoleico e di acido arachidonico e un deficit, invece, di acido diomogamma-linolenico (*Dihomo- γ -linolenic Acid*, DGLA) e di acido linolenico (3-5). Ovviamente a tale patologia dermatologica può essere applicato un protocollo nutraceutico basato sulla compensazione dello sbilanciamento riscontrato nelle membrane.

Altra patologia dermatologica, studiata anche dal punto di vista lipidomico, è la dermatite seborroica. La patogenesi della dermatite seborroica non è stata ancora chiarita e diversi fattori, esogeni ed endogeni, sono considerati come possibili fattori patogenetici.

Un diretto coinvolgimento della ghiandola sebacea e/o della sua secrezione non può quindi essere escluso ed eventuali alterazioni a carico della composizione del sebo devono essere prese in considerazione tra i fenomeni associati all'insorgenza e sviluppo della patologia. Com'è noto, i lipidi della superficie cutanea sono costituiti da diverse classi lipidiche tra le quali gli esteri delle cere e lo squalene rappresentano i lipidi caratteristici della sola secrezione sebacea. Recenti studi eseguiti sul sebo di soggetti affetti da dermatite seborroica hanno evidenziato che il sebo di tali soggetti presenta una minore quantità di squalene. La dermatite seborroica sembra essere caratterizzata, pertanto, da alterazioni qualitative della secrezione sebacea che potrebbero giustificare, almeno in parte, la reazione infiammatoria che si riscontra in corso di patologia.

È possibile, quindi, attribuire un importante ruolo nell'insorgenza della patologia non solo ai lipidi prodotti dalla ghiandola sebacea, ma anche al metabolismo lipidico in senso generale; i soggetti affetti da dermatite seborroica presentano anche una diversa composizione, rispetto ai soggetti sani, degli acidi grassi plasmatici. In particolare, è stato evidenziato un deficit di PUFA associato a una significativa riduzione di vitamina E anch'essa plasmatica. In una situazione di deficit, gli acidi grassi polinsaturi sono sostituiti da SFA o acidi grassi monoinsaturi (MUFA) nella costituzione dei fosfolipidi, con conseguente alterazione della fluidità della membrana cellulare, dell'attività di recettori ed enzimi di membrana e alterazione della sintesi degli eicosanoidi (6). Analizzando, mediante lipidomica, gli acidi grassi presenti nei fosfolipidi di membrana e il bilanciamento tra le componenti sature e insature, è stato condotto uno studio clinico pilota su 60 pazienti affetti da dermatite seborroica che ha permesso di individuare un nuovo profilo lipidomico (dati non pubblicati).

Attraverso questo studio è stato riscontrato un miglioramento delle manifestazioni cliniche dei pazienti affetti da dermatite seborroica e dell'equilibrio lipidico della membrana eritrocitaria, utilizzando un trattamento personalizzato a base di integratori alimentari associato ad una dieta mirata. Considerando le alterazioni lipidiche riscontrate sia a livello plasmatico, sia sebaceo, sia molecolare, è possibile ipotizzare che i lipidi epidermici potrebbero non essere correttamente sintetizzati e dare luogo ai fenomeni desquamativi e infiammatori della dermatite seborroica. Approcci nutraceutici in grado di fornire una protezione antiossidante e in grado di intervenire a livello del metabolismo lipidico, in particolare a livello della sintesi degli acidi grassi, potrebbero quindi rivelarsi efficaci nella dermatite seborroica.

Invecchiamento cutaneo e acidi grassi trans

L'invecchiamento cutaneo è un processo complesso influenzato da diversi fattori, ma specialmente da processi ossidativi e infiammatori. La permeabilità e la fluidità delle membrane cellulari si riflettono nelle proprietà di resistenza della pelle, ed è anche ben noto che i PUFA sono

necessari per la sua funzionalità. Tali acidi grassi sono soggetti alla degradazione da parte dei radicali liberi e ai processi ossidativi, e infatti la pelle dispone di un'ampia varietà di sostanze antiossidanti e di 'intrappolatori' di radicali per preservare la sua composizione lipidica (7).

Il corretto e bilanciato funzionamento dei sistemi di controllo ha, dunque, un'importanza cruciale per il metabolismo cellulare e per l'invecchiamento cutaneo. I radicali inizialmente prodotti, sia da fattori esogeni sia endogeni, possono innescare processi a catena che nell'ambiente biologico propagano il danneggiamento, in presenza di ossigeno e metalli, ma anche in assenza di ossigeno. Nel primo caso noto come stress ossidativo, si verificano reazioni radicaliche tramite le cosiddette *Reactive Oxygen Species* (ROS) che coinvolgono acidi nucleici, proteine, zuccheri e lipidi con formazione di prodotti ossidati che si accumulano e influenzano la capacità di adattamento delle cellule alle diverse condizioni ambientali, rendendole più vulnerabili (8, 9).

Il danno radicalico sugli acidi grassi certamente da più tempo conosciuto è quello relativo alle molecole polinsature (PUFA) ed è noto come perossidazione lipidica. Il processo radicalico è una vera e propria degradazione che porta alla formazione di metaboliti ossidati (lipoperossidi). La membrana colpita da questo processo ossidativo risulta essenzialmente depauperata del contenuto di lipidi polinsaturi. Dalle più recenti ricerche scientifiche, è anche emerso che le specie radicaliche centrate all'atomo di zolfo (*Reactive Sulfur Species*, RSS) sono capaci di danneggiare la struttura lipidica in maniera anche più silente di quella delle ROS. Difatti, esse possono attaccare i lipidi insaturi, che possono essere questa volta sia mono- sia polinsaturi (MUFA e PUFA), ed effettuare la trasformazione della geometria da cis a trans.

I prodotti sono i trans lipidi, divenuti famosi anche perché sono costituenti di cibi insani (*junk food*). Sebbene le strutture molecolari dei trans lipidi possono essere molte e diverse tra di loro, è stato acclarato che siano tutte da considerarsi "non naturali" per le cellule eucariote. Quindi, le loro attività biologiche sono dannose, perché vanno dalle inibizioni enzimatiche fino all'apoptosi o morte cellulare programmata.

Per il riconoscimento dei lipidi trans sono necessari metodi adeguati in grado di distinguere i lipidi trans provenienti dalla dieta da quelli provenienti dallo stress radicalico. La quantità degli isomeri trans e la loro presenza nella membrana cellulare segnala, infatti, una trasformazione delle strutture lipidiche insature dovuta ad un attacco dei radicali liberi che consiste nella conversione della naturale geometria cis nella struttura isomerica non naturale, detta trans. Questa conversione determina la perdita del ripiegamento caratteristico dei lipidi insaturi, con conseguenze sull'assetto della membrana cellulare e sulla sua funzione.

È stato studiato dal punto di vista lipidomico l'invecchiamento cellulare e ne è stato ricavato un profilo caratterizzato da un deficit di MUFA e un eccesso di SFA, di acido linoleico, di acido arachidonico e acidi grassi insaturi trans (10).

L'evidenza sempre più forte dell'esistenza di una correlazione tra invecchiamento e deterioramento di biomolecole, la necessità di combattere lo stress radicalico e di colmare i deficit di vitamine, proteine e lipidi, ha reso possibile lo sviluppo di una nutraceutica mirata.

Conclusioni

La lipidomica ha permesso di mappare dei profili di squilibrio degli acidi grassi collegandoli poi alle patologie dermatologiche e all'invecchiamento cutaneo. Dal profilo lipidomico si ricavano informazioni su strategie mirate e personalizzate alla situazione ottimale della composizione lipidica di membrana, strategie che combinano l'adozione di un regime alimentare con una supplementazione nutraceutica ad hoc per ottenere l'incorporazione degli acidi grassi carenti nella membrana, per proteggere dal consumo ossidativo e radicalico e per riottenere l'equilibrio funzionale tra le componenti lipidiche. È possibile, in tal modo, pensare

ad una integrazione personalizzata e funzionale in base al tipo di paziente che si intende trattare, con schemi di trattamento nutraceutico adeguati.

Bibliografia

1. Watson AD. Thematic review series: system biology approaches to metabolic and cardiovascular disorders. Lipidomics: a global approach to lipid analysis in biological systems. *J Lipid Res* 2006;47(10):2101-11.
2. Briganti S, Picardo M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003;17(6):663-9.
3. Calder PC, Miles EA. Fatty acids and atopic disease. *Pediatr Allergy Immunol* 2000;11(Suppl 13):29-36.
4. Horrobin DF. Essential fatty acid metabolism and its modification in atopic eczema. *Am J Clin Nutr* 2000;71(1 Suppl):367S-72S.
5. Ferreri C, Angelini F, Chatgililoglu C, Dellonte S, Moschese V, Rossi P, Chini L. Trans fatty acids and atopic eczema/dermatitis syndrome: the relationship with a free radical cis-trans isomerization of membrane lipids. *Lipids* 2005;40(7):661-7.
6. Passi S, Morrone A, De Luca C, Picardo M, Ippolito F. Blood levels of vitamin E, polyunsaturated fatty acids of phospholipids, lipoperoxides and glutathione peroxidase in patients affected with seborrheic dermatitis. *J Dermatol Sci* 1991;2(3):171-8.
7. Podda M, Grundmann-Kollmann M. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. *Clin Exp Dermatol* 2001;26(7):578-82.
8. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 4th Ed. Oxford: Oxford University Press; 2007.
9. Fuchs J, Packer L. *Oxidative stress in dermatology*. New York: Marcel Dekker; 1993.
10. Ferreri C, Chatgililoglu C. Geometrical trans lipid isomers: a new target for lipidomics. *ChemBiochem* 2005;6(10):1722-34.

PANDEMIA CARDIO-VASCOLARE: DALLA DISFUNZIONE ENDOTELIALE ALL'ATEROSCLEROSI. QUALE PREVENZIONE?

Maria Bianchi (a), Maria Grazia Roccia (b), Carolina Jahaira Aracena (a), Massimo Fioranelli (a)
(a) *Università degli Studi "Guglielmo Marconi", Roma*
(b) *B.I.S. group of institutions, Cagra Campus, Punjab, India*

Introduzione

Il cuore umano consuma più energia di qualsiasi altro organo: circa 6 kg di adenosina trifosfato (ATP) al giorno, un valore pari a 20-30 volte il suo peso. La principale fonte energetica a riposo è rappresentata dagli acidi grassi che sopperiscono al 70% del suo consumo energetico; il restante 30-40% del fabbisogno deriva dall'ossidazione dei carboidrati tramite un processo denominato glicolisi aerobica.

L'apporto sanguigno nutritivo del cuore deriva quasi esclusivamente dalle arterie coronariche e solamente la parte più interna della superficie endocardica, per uno spessore di circa 0,1 mm, riceve un apporto significativo di nutrienti direttamente dal sangue presente nelle cavità cardiache. Dalle arterie coronariche epicardiche, e successivamente da quelle intramuscolari e subendocardiche, il sangue raggiunge i capillari.

In condizioni basali il flusso ematico a livello miocardico è approssimativamente di 220-250 mL/min (70-90 mL per 100 g di tessuto miocardico al minuto) rappresentando circa il 5% della gittata cardiaca. Esso cresce in maniera direttamente proporzionale all'aumento della richiesta e durante il massimo sforzo può aumentare di 5-6 volte e arrivare a 280 mL per 100 g al minuto. Il muscolo cardiaco estrae in maniera massimale l'ossigeno dal sangue che lo perfonde (circa il 70%). Un ulteriore aumento della domanda metabolica può quindi essere soddisfatto esclusivamente con un incremento del flusso coronarico. La capacità del circolo coronarico di aumentare la propria portata quando aumenta la richiesta metabolica viene definita riserva coronarica. Nei pazienti con cardiopatia ischemica, la riduzione della riserva coronarica è direttamente correlata alla severità delle stenosi delle arterie epicardiche, mentre nelle persone con coronarie angiograficamente normali è un *marker* di disfunzione del microcircolo. Tale riserva inizia a ridursi in presenza di una placca aterosclerotica emodinamicamente significativa in grado di ridurre il diametro del vaso di almeno il 50%. Il flusso basale non subisce tuttavia alcuna riduzione fino a che il diametro dell'arteria non venga ridotto a circa il 90%.

Malattia coronarica

La malattia coronarica rappresenta oggi la più comune manifestazione dell'aterosclerosi e decorre progressivamente senza alcun sintomo per la maggior parte del suo processo evolutivo. In generale la severità di una stenosi coronarica ha uno scarso potere predittivo nei confronti di eventi cardiaci quali morte improvvisa, infarto miocardico od angina instabile. Negli ultimi anni, quindi, l'attenzione è stata posta più che sulla valutazione della severità della stenosi, sulla biologia dell'ateroma e sulla funzione dell'endotelio.

L'endotelio rappresenta una difesa della parete vascolare e ne regola la proliferazione cellulare, i fenomeni infiammatori e i processi trombotici; la sua disfunzione rappresenta un punto critico dello sviluppo della malattia aterosclerotica. Il processo aterosclerotico si sviluppa a partire dall'intima dei vasi e progredisce attraverso vari stadi. Inizialmente si assiste all'accumulo di particelle lipoproteiche ossidate, all'infiltrazione di leucociti e alla trasformazione di monociti in macrofagi. Questi, a loro volta, fagocitano le lipoproteine a bassa densità (*Low Density Lipoprotein*, LDL) ossidate e si trasformano in cellule schiumose (*foam cell*), ricche di colesterolo, che vanno incontro ad apoptosi. Cellule muscolari lisce migrano dalla tunica media all'intima e producono matrice extracellulare, fornendo l'impalcatura strutturale della placca. Attraverso la produzione di citochine/chemochine vengono reclutate nella placca cellule immunocompetenti come linfociti T, monociti e plasmacellule. Il risultato finale consiste nella formazione di una lesione più o meno grande, formata da un nucleo centrale lipidico (*lipid core*), da un cappuccio fibroso connettivale (*fibrous cap*), da infiltrati di cellule immunocompetenti e da noduli di calcio. Indipendentemente dal grado di stenosi la placca aterosclerotica può andare incontro a complicanze essenzialmente rappresentate dalla rottura del cappuccio fibrotico superficiale o dall'erosione, cioè dalla perdita del tessuto endoteliale di rivestimento. Tutto questo predispone alla formazione di trombi e quindi all'istantanea riduzione del lume vascolare. La placca aterosclerotica che presenta caratteristiche istopatologiche che la predispongono ad avere tali tipi di complicanze, viene definita placca vulnerabile.

Sono vulnerabili, ossia instabili e a potenziale rischio di trombosi acuta murale o oclusiva, le placche con ampio *core* lipidico, sottile cappuccio fibroso, abbondante quota di cellule infiammatorie e di metalloproteasi. È stata evidenziata una relazione tra l'estensione del *core* lipidico e la vulnerabilità della placca aterosclerotica: un ampio *core* lipidico correla con una maggiore probabilità di rottura della placca e pertanto di trombosi coronarica acuta. Inoltre sia le dimensioni del *core* lipidico che la composizione dello stesso sono elementi che condizionano la rottura della placca aterosclerotica. Sono placche più resistenti quelle che possiedono cristalli di colesterolo invece che colesterolo liquido.

Un ulteriore fattore che condiziona la tendenza alla rottura della placca aterosclerotica è rappresentato dallo spessore della capsula fibrosa: quanto maggiore è lo spessore, tanto minore è la possibilità di rottura della placca. In generale le lesioni aterosclerotiche responsabili di un infarto acuto presentano una capsula fibrosa sottile, con spessore inferiore a 60 μm , e un *core* lipidico sottostante ben sviluppato.

Inflammatione e aterosclerosi

Negli ultimi anni particolare attenzione è stata posta sul ruolo dell'infiammazione nella vulnerabilità della placca aterosclerotica. La presenza di elevati livelli di marcatori infiammatori nel sangue periferico di pazienti con sindromi coronariche acute (1, 2) costituisce un'evidenza convincente che la rottura di placca possa essere mediata dall'infiammazione sistemica. Numerosi sono i marcatori di infiammazione studiati quali IL-18, TNF- α , molecole di adesione, metalloproteasi della matrice, IL-10, IL-6, e *heat-shock proteins* (3). In particolare, queste ultime appartengono alla famiglia di proteine *chaperon* ad alto potenziale immunogenico, che si trovano anche nella placca aterosclerotica, e i loro livelli correlano con il grado di instabilità.

È noto che la rottura della capsula fibrosa si associa ad una marcata infiltrazione locale di cellule immunocompetenti come macrofagi, linfociti T e plasmacellule. I macrofagi possono rilasciare alcune metalloproteinasi, tra cui le collagenasi, le gelatinasi e la stromelisinasi, in grado di degradare la matrice intracellulare e indebolirne la struttura connettivale. Ed è proprio

L'assottigliamento della capsula fibrosa, indotto dalle metalloproteinasi liberate dai macrofagi, l'elemento che favorisce la rottura della placca aterosclerotica (4). Inoltre alcune di queste sostanze possono assottigliare lo strato muscolare, contribuendo al fenomeno del rimodellamento positivo, che rappresenta un fattore di rischio per la rottura della placca. Di particolare interesse è il riscontro istologico della presenza di linfociti attivati all'interno della placca aterosclerotica (5). I linfociti T *helper* 1, infatti, secernono IFN γ , TNF- α e determinano l'attivazione dei macrofagi promuovendo il rilascio di citochine pro-infiammatorie che amplificano il processo in una sorta di circolo vizioso (6). Da tempo è stata inoltre documentata un'associazione tra elevati livelli di proteina C reattiva (PCR) e instabilità coronarica mediata prevalentemente dalla proliferazione di cellule muscolari lisce e macrofagi e dall'attivazione del complemento (7, 8). La PCR, infatti, si lega alla fosfolipina delle LDL-ossidate, up-regola l'espressione di molecole di adesione nelle cellule endoteliali, aumenta l'*up-take* delle LDL nei macrofagi, inibisce l'espressione della ossido-nitrico sintetasi endoteliale e aumenta l'espressione e l'attività dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno 1 (PAI-1). Inoltre la presenza concomitante di elevati livelli sia di PCR che di troponina costituisce un forte fattore predittivo di eventi coronarici avversi in pazienti con infarto miocardico acuto. Vi sono numerose e crescenti evidenze sulla correlazione esistente tra infiammazione e instabilità di placca e ciò porta ad importanti ripercussioni pratiche oltre all'interesse dal punto di vista fisiopatologico. In ambito terapeutico l'utilizzo estensivo di alte dosi di statine, farmaci ipolipemizzanti con potere antinfiammatorio, è risultato in grado di ridurre il rischio cardiovascolare e di favorire la stabilizzazione della placca aterosclerotica indipendentemente dai livelli lipidici (9). La scoperta che l'infiammazione è un fattore chiave che può predisporre e aggravare la cardiopatia ischemica, ha stimolato la ricerca di *marker* infiammatori diagnostici e prognostici tesi ad individuare sottogruppi di pazienti a maggior rischio di eventi cardiovascolari avversi. Anche se il marker clinicamente più utilizzato è rappresentato dalla PCR, le citochine sono destinate ad essere sempre più studiate per chiarire i diversi momenti fisiopatologici dell'aterosclerosi coronarica, per svelare il loro ruolo pro o anti-infiammatorio e per creare nuovi modelli interpretativi della cardiopatia ischemica.

Prevenzione della malattia coronarica

Le malattie cardiovascolari sono al primo posto tra le cause di morte in Italia, essendo responsabili del 44% di tutti i decessi; in particolare la cardiopatia ischemica è responsabile del 28% di tutte le morti mentre le patologie cerebrovascolari del 13%. I principali fattori di rischio cardiovascolare sono strettamente correlati con lo stile di vita e in particolare con l'uso di tabacco, le scorrette abitudini alimentari, la sedentarietà e lo stress psicosociale (10) tanto che l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha dichiarato che oltre tre quarti della mortalità cardiovascolare globale può essere prevenuta mediante l'attuazione di adeguate modifiche comportamentali. In effetti, nei Paesi in cui si è riusciti ad applicare misure di prevenzione nella pratica clinica, si è registrata una significativa riduzione della mortalità e morbilità cardiovascolare (11).

Tradizionalmente, i protocolli di prevenzione sono stati redatti su una valutazione unifattoriale del paziente (attraverso il trattamento dell'ipertensione, dell'iperlipidemia e del diabete) dando risalto in modo inappropriato al valore del singolo fattore di rischio cardiovascolare. Le recenti linee guida (12) introducono invece un nuovo concetto di "rischio globale" e multifattoriale. Questo approccio riconosce due assunti importanti: i fattori di rischio possono avere un effetto moltiplicativo e i medici hanno a che fare con il paziente nel suo complesso e non con fattori di rischio isolati. È attraverso la stima del rischio globale che si

stabilisce l'intensità degli interventi sullo stile di vita e, soprattutto, la necessità o meno di instaurare una terapia farmacologica.

Tra i fattori di rischio cardiovascolari particolare attenzione merita l'alimentazione. La dieta è un importante determinante del rischio di malattia coronarica incidendo sulla colesterolemia, sulla pressione arteriosa, sul peso corporeo e sul diabete. I nutrienti rilevanti sono rappresentati dagli acidi grassi (che incidono prevalentemente sui livelli delle lipoproteine), dai minerali (che influenzano prevalentemente la pressione arteriosa), dalle vitamine e dalle fibre. L'assunzione di acidi grassi saturi, in particolare quelli con 12-16 atomi di carbonio, correla con aumentati livelli di LDL che posseggono un elevato potere aterogeno (13), mentre la loro sostituzione isocalorica con acidi grassi polinsaturi si associa ad una riduzione delle LDL e, anche se in misura minore, ad un aumento delle lipoproteine ad alta densità (*High Density Lipoprotein*, HDL). In particolare gli acidi grassi polinsaturi appartenenti alla famiglia degli omega 3 hanno dimostrato ridurre significativamente la mortalità per cardiopatia ischemica e per ictus, indipendentemente dai valori di colesterolo (14, 15). Una dieta sana è pertanto caratterizzata da un basso contenuto di acidi grassi saturi e di colesterolo ed è ricca di omega 3.

Si stanno accumulando sempre più evidenze sull'effetto cardioprotettivo di una dieta ricca di frutta e vegetali ad elevato contenuto di antiossidanti (16). Studi osservazionali (17, 18) suggeriscono come un'elevata introduzione di questi alimenti possa ridurre il rischio di malattia coronarica, interferendo favorevolmente sui processi ossidativi delle lipoproteine nelle lesioni aterosclerotiche (19). Risultati analoghi sono stati ottenuti attraverso l'assunzione di composti non nutritivi come i flavonoidi presenti nel tè, nel vino rosso, nelle mele e nelle cipolle, anch'essi ad elevato potere antiossidante (20). Infine, una corretta alimentazione influisce positivamente anche sui livelli di pressione arteriosa e sul controllo del peso corporeo. Una dieta iposodica può ridurre la pressione arteriosa e prevenirne l'aumento correlato con l'età (21) e, in associazione ad una regolare attività fisica, contribuire alla prevenzione dell'obesità (22).

Conclusioni

Le malattie cardiovascolari rappresentano ancora oggi la causa principale delle morti premature in Italia e in Europa, nonostante negli ultimi decenni si sia registrata una considerevole diminuzione della mortalità cardiovascolare in molti Paesi europei. Le recenti acquisizioni hanno dimostrato come la severità di una stenosi coronarica abbia uno scarso potere predittivo nei confronti di eventi cardiaci avversi, come la morte improvvisa, spostando l'attenzione sulle caratteristiche biologiche della placca aterosclerotica e sulla funzionalità dell'endotelio. La scoperta che l'infiammazione è in relazione con le cause predisponenti e precipitanti della cardiopatia ischemica ha stimolato la ricerca di nuovi *marker* infiammatori diagnostici da affiancare a test routinari per individuare sottogruppi di pazienti a maggior rischio di eventi cardiovascolari avversi e per creare nuovi modelli interpretativi della cardiopatia ischemica.

Le malattie cardiovascolari sono strettamente connesse allo stile di vita, in particolar modo all'uso di tabacco, alle scorrette abitudini alimentari, alla sedentarietà e allo stress psicosociale. Nonostante molti progressi si siano compiuti negli ultimi anni, la prevenzione cardiovascolare rappresenta tuttora una delle maggiori sfide in ambito cardiologico.

Bibliografia

1. Serneri GG, Abbate R, Gori AM, Attanasio M, Martini F, Giusti B, Dabizzi P, Poggesi L, Modesti PA, Trotta F, Rostagno C, Boddi M, Gensini GF. Transient intermittent lymphocyte activation is responsabile for the instability of angina. *Circulation* 1992;86(3):790-7.
2. Biasucci LM, Liuzzo G, Giubilato S, Della Bona R, Leo M, Pinnelli M, Severino A, Gabriele M, Brugaletta S, Piro M, Crea F. Delayed neutrophil apoptosis in patients with unstable angina: relation to C-reactive protein and recurrence of instability. *Eur Heart J* 2009;30(18):2220-5.
3. Biasucci LM, Liuzzo G, Ciervo A, Petrucca A, Piro M, Angiolillo DJ, Crea F, Cassone A, Maseri A. Antibody response to chlamydial heat shock protein 60 is strongly associated with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;107(24):3015-7.
4. Moreno PR, Bernardi VH, López-Cuéllar J, Murcia AM, Palacios IF, Gold HK, Mehran R, Sharma SK, Nemerson Y, Fuster V, Fallon JT. Macrophages, smooth muscle cells, and tissue factor in unstable angina. Implications for cellmediated thrombogenicity in acute coronary syndromes. *Circulation* 1996;94(12):3090-7.
5. De Palma R, Del Galdo F, Abbate G, Chiariello M, Calabró R, Forte L, Cimmino G, Papa MF, Russo MG, Ambrosio G, Giombolini C, Tritto I, Notaristefano S, Berrino L, Rossi F, Golino P. Patients with acute coronary syndrome show oligoclonal T-cell recruitment within unstable plaque: evidence for a local, intracoronary immunologic mechanism. *Circulation* 2006;113(5): 640-6.
6. Young JL, Libby P, Schönbeck U. Cytokines in the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2002;88(4):554-67.
7. Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 2001;158(3):1039-51.
8. Ishikawa T, Hatakeyama K, Imamura T, Date H, Shibata Y, Hikichi Y, Asada Y, Eto T. Involvement of C-reactive protein obtained by directional coronary atherectomy in plaque instability and developing restenosis in patients with stable or unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2003;91(3):287-92.
9. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Brown BG, Ganz P, Vogel RA, Crowe T, Howard G, Cooper CJ, Brodie B, Grines CL, DeMaria AN; REVERSAL Investigators. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291(9):1071-80.
10. World Health Organization. *Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report No. 916*. Geneva: WHO; 2003.
The Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Mortality rates after 10.5 years for participants in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Findings related to a priori hypotheses of the trial. *JAMA* 1990;263(13):1795-801.
11. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren WM, Albus C, Benlian P, Boysen G, Cifkova R, Deaton C, Ebrahim S, Fisher M, Germanò G, Hobbs R, Hoes A, Karadeniz S, Mezzani A, Prescott E, Ryden L, Scherer M, Syvanne M, Scholte Op Reimer WJ, Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F; Comitato per Linee Guida Pratiche (CPG) dell'ESC. Linee guida europee sulla prevenzione delle malattie cardiovascolari nella pratica clinica (versione 2012). Quinta Task Force congiunta della Società Europea di Cardiologia e di altre Società sulla Prevenzione delle Malattie Cardiovascolari nella Pratica Clinica (costituita da rappresentanti di nove società e da esperti invitati). *G Ital Cardiol* (Rome) 2013;14(5):328-92.
12. Clarke R, Frost C, Collins R, Appleby P, Peto R. Dietary lipids and blood cholesterol: quantitative meta-analysis of metabolic ward studies. *BMJ* 1997;314(7074):112-7.

13. Wood DA, Riemersma RA, Butler S, Thomson M, Macintyre C, Elton RA, Oliver MF. Linoleic and eicosapentaenoic acids in adipose tissue and platelets and risk of coronary heart disease. *Lancet* 1987;1(8526):177-83.
14. de Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Guidollet J, Touboul P, Delaye J. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet* 1994;343(8911):1454-9.
15. Ness A, Powles JW. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int J Epidemiol* 1997;26(1):1-13.
16. Stampfer MJ, Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willett WC. Vitamin E consumption and the risk of coronary disease in women. *New Engl J Med* 1993;328(20):1444-9.
17. Enstrom JE, Kanim LE, Klein MA. Vitamin C intake and mortality among a sample of the United States population. *Epidemiology* 1992;3(3):194-202.
18. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *New Engl J Med* 1989;320(14):915-24.
19. Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993;342(8878):1007-11.
20. The fifth report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC V). *Arch Intern Med* 1993;153(2):154-83.
21. Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C, Buchner D, Ettinger W, Heath GW, King AC, Kriska A, Leon AS, Marcus BH, Morris J, Paffenbarger Jr RS, Patrick K, Pollock ML, Rippe JM, Sallis J, Wilmore JH. Physical activity and public health. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA* 1995;273(5):402-7.

PANDEMIA OSSEA

Gianfranco Pisano

Associazione Ricerca di Terapie Oncologiche Integrate, Arezzo

Introduzione

L'osteopenia e l'osteoporosi primitive sono anche definite come patologie da fragilità ossea. Questa terminologia è giustificata dal fatto che la maggioranza delle fratture da fragilità avviene in soggetti che non corrispondono alla definizione di soggetti affetti da osteoporosi sulla base del *T-score* (differenza, espressa in numero di deviazioni standard, fra il valore individuale osservato e il valore medio della popolazione sana di riferimento). In una persona adulta, la diagnosi viene effettuata valutando di quanto questo valore si differenzia da quello del campione di riferimento (soggetti sani dello stesso sesso e di età pari a 25-30 anni, ossia esaminati nel momento in cui si raggiunge il picco di massa ossea), come dimostrato da studi epidemiologici (1, 2).

In Europa si verifica una frattura di femore ogni 30 secondi con un milione e mezzo di fratture da fragilità ogni anno, suddivise in: 46% vertebrali, 19% femorali, 16% del polso, 19% in altri siti. La mortalità da fratture del femore nell'immediatezza dell'evento è del 15%; entro un anno dalla frattura, tuttavia, tale percentuale raggiunge il 25%, mentre circa il 30% dei pazienti con la frattura non sono più in grado di svolgere una vita indipendente o devono ricorrere ad una assistenza istituzionalizzata.

L'innalzamento delle aspettative di vita della popolazione ha determinato inoltre l'aumento del numero assoluto di fratture e, per quelle del femore, è atteso un aumento annuale del 13%. Ogni anno in Italia si verificano nei soli ultrasessantacinquenni circa 150.000 nuove deformità vertebrali incluse quelle asintomatiche. Di queste, 50.000 sono fratture vertebrali clinicamente evidenziate che conducono il paziente al pronto soccorso e in circa 15.000 casi, esitano nel ricovero ospedaliero. Il costo totale stimato in Italia di tutte le 150.000 nuove fratture vertebrali, inclusi i ricoveri e gli interventi, è di circa 100 milioni di euro all'anno; il costo annuale in Italia per le fratture di femore è di circa 500 milioni di euro all'anno senza però considerare la riabilitazione, la ortesizzazione, l'impiego di ausili per il cammino, l'assistenza domiciliare ecc.

In Italia si sono verificate nel periodo tra il 2000 e il 2010 oltre mezzo milione di fratture femorali che sono state responsabili di circa 800.000 ricoveri; i decessi si stimano in circa 120.000 e oltre 150.000 sono stati i casi di invalidità permanente. I costi diretti totali per il sistema sanitario nazionale sono pari a circa 8,5 miliardi di euro, più un miliardo di euro pagato dall'INPS per le pensioni di invalidità, raggiungendo la cifra di quasi 10 miliardi di euro in meno di 10 anni.

L'*Epidemiological Study On the Prevalence of Osteoporosis* (ESOPO) condotto in Italia, basandosi sui valori del *T-score*, ha messo in evidenza che il 42,3% di persone comprese tra i 40 e i 79 anni sono affette da osteopenia, mentre il 22,8% presenta osteoporosi. Se si esamina la percentuale di soggetti osteopenici si osserva che questa rimane costante intorno al 40% nel periodo da 40-49 anni e sino a 70-79 anni (3).

L'osteoporosi è stata anche definita un'epidemia silenziosa poiché il 77% delle fratture da fragilità vertebrale non viene né diagnosticata né trattata. All'interno di quest'ultima casistica, solo il 14% dei casi viene diagnosticato, mentre il 9% viene diagnosticato e trattato (4).

Nei soggetti osteopenici, definiti in base ai risultati della mineralometria, il cui *T-score* è compreso tra -1,00 e -2,5, risulta sottostimata la probabilità di frattura. In numeri assoluti, infatti le fratture da fragilità sono superiori in questa categoria di soggetti (1,5). La causa di questa apparente contraddizione va ricercata nel fatto che il *T-score* è un valore indicativo della sola mineralizzazione dell'osso e non tiene in considerazione quella che è la microarchitettura, fondamentale per la resistenza elastica dell'osso, sulla quale si depositano i cristalli di idrossiapatite.

Resistenza ossea

La resistenza dell'osso è legata a vari fattori come il tasso di *turnover*, l'architettura, il grado di mineralizzazione, l'accumulo di microdanni, le proprietà del collagene e della matrice. Ad oggi la qualità dell'osso, intesa come microarchitettura e intelaiatura formata dall'intrecciarsi delle fibre collagene di tipo 1 è di difficile valutazione sia clinicamente che strumentalmente e la *Bone Mineral Density* (BMD, densità di minerali dell'osso) è l'unico valore utilizzabile, oltre a quello epidemiologico, per verificare l'efficacia dei farmaci antiosteoporotici.

La trabecola ossea è costituita da una matrice collagenica, nella quale sono inseriti in lacune gli osteociti. Gli osteociti presentano dei prolungamenti dendritici che li pongono in relazione sia con la superficie della trabecola sia con altri osteociti. Ben lungi dall'essere cellule inattive, gli osteociti hanno numerose funzioni come meccanosensori, recettori di gravità, sensori di danno trabecolare, e regolano il rimodellamento osseo tramite la sintesi di molecole coinvolte nella maturazione osteoblastica (6, 7). Sulla superficie trabecolare sono presenti sia cellule di origine macrofagica, gli *osteal tissue macrofage* (o *OsteoMac*) che tuttavia non contribuiscono alla maturazione degli osteoclasti, che di origine osteoblastica, attive nella sintesi e deposizione del collagene, che si trasformeranno almeno in parte in *bone lining cell* (8).

A seguito dell'indebolimento della trabecola ossea si verificano delle microfratture in corrispondenza delle quali gli osteociti cessano il proprio ciclo vitale attraverso uno di questi tre meccanismi: apoptosi, autofagocitosi e necrosi. Indipendentemente dal meccanismo che conduce a morte l'osteocita, si liberano alcune molecole come le *Heat Shock Protein* (HSP), adenosintrifosfato e acidi urici che vengono rilasciate attraverso i canalicoli che partono dalle lacune e arrivano alla superficie ossea, e al flusso vascolare. Questi fattori facilitano il reclutamento e l'attivazione dei macrofagi e promuovono la produzione di citochine pro-infiammatorie quali il TNF- α , l'IL-6 e l'IL-1 che inducono l'osteoclastogenesi e il riassorbimento osseo. Si forma così la *Basic Multicellular Unit* (BMU) che rappresenta un ambiente chiuso sigillato in periferia dalle integrine. Ogni BMU è costituita da osteoclasti, osteoblasti, da un capillare centrale, da un supporto nervoso ed è ricoperta da una superficie chiamata canopi costituita dalle *linings cell* e da *OsteoMac*. Si calcola che in ogni istante siano attive nell'adulto 1×10^6 BMU. Ciascuna BMU ha un periodo vitale di circa 6-9 mesi, la vita degli osteoclasti è di circa 2 settimane, quella degli osteoblasti di circa 3 mesi, l'intervallo tra ciascun rimodellamento è di 2-5 anni e il turnover dell'intero scheletro è di circa il 10% all'anno portando ad un rinnovamento totale di tutto lo scheletro ogni 10 anni circa. Dalla trabecola che ha subito il *microcrack* si libera il *Transforming Growth Factor* (TGF) beta 1 che attiva la produzione della *Bone Morphogenetic Protein* (BMP) 6 e sfingosina 1 fosfato da parte degli osteoclasti che, insieme alla *Wingless protein 10* (Wnt-10b), stimolano la maturazione dei preosteoblasti in osteoblasti.

La BMU si presenta quindi come un'area delimitata all'interno della quale, con un ciclo temporale predeterminato, si susseguono le varie fasi del rimodellamento (9). Esse sono inizialmente legate al riassorbimento della parte ossea indebolita ad opera degli osteoclasti.

Questa fase che ha una durata di circa 18 giorni e viene seguita dalla fase di attività degli osteoblasti i quali vengono attivati attraverso un recettore di membrana, l'*Ephrin receptor* (Eph) che appartiene alla famiglia dei recettori della tirosina chinasi. Il recettore e il suo ligando, EphB2 prodotto dagli osteoclasti, contrariamente alla maggior parte dei recettori appartenenti a questa famiglia, ha la capacità di essere bidirezionale innescando una cascata di azioni intracellulari sia nella cellula dotata di recettore, *forward*, sia in quella dotata del ligando, *reverse*, fungendo quindi da pulsante di accensione degli osteoblasti e spegnimento degli osteoclasti (10, 11).

Osteopenia, osteoporosi e stress ossidativo

Il rimodellamento osseo che tende a riparare e sostituire le zone indebolite, ad esempio a causa delle microfratture, può subire alterazioni nell'equilibrio tra rimozione dell'area indebolita ad opera degli osteoclasti e la deposizione di nuova matrice collagenica ad opera degli osteoblasti nell'ambito delle BMU. Ciò può essere causato da una sovrapproduzione di specie reattive dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS), oppure da processi di invecchiamento.

Durante l'invecchiamento, infatti, si verifica un incremento di sintesi di glucocorticoidi endogeni ma anche una riduzione della capacità di autofagocitosi dei corpuscoli endocellulari danneggiati. I mitocondri danneggiati e non rimossi causano un accumulo di ROS che altera il rimodellamento osseo. Anche la produzione di omocisteina viene incrementata durante l'invecchiamento ed è stata dimostrata essere un elemento di rischio indipendente per osteoporosi o meglio per la patologia da fragilità ossea. Si assiste inoltre ad un incremento di TNF- α che contribuisce alla generazione di ROS. L'accumulo di ROS causato da questi fattori attiva la via di trasduzione del segnale PKC β /p66shc/JNK responsabile dell'apoptosi degli osteoblasti. Inoltre, l'adattatore p66shc-transforming protein, una volta attivato agisce attraverso la via del *thymoma viral protooncogene 1* (Akt), fosforilando e quindi inattivando i fattori di trascrizione FoxO, e bloccando la stimolazione dei geni responsabili della sintesi di antiossidanti, come *Manganese SuperOxide Dismutase* (MnSOD) e inibendone l'attività di stimolo positivo nei confronti della beta catenina. Le FoxO sono inoltre conosciute come capaci di sopprimere l'espressione e l'attività di trascrizione del *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR) γ , che è un potente repressore dell'osteoblastogenesi (12).

L'insieme di queste reazioni porta ad un incremento della durata di vita degli osteoclasti, via riduzione della loro apoptosi, e ad una riduzione dell'osteoblastogenesi con uno sbilanciamento nel rimodellamento osseo, causando un difetto di deposizione di matrice collagenica e quindi non solo una riduzione del contenuto minerale osseo ma soprattutto determinando un danno nella microarchitettura ossea che porta ad avere una qualità dell'osso inferiore anche in presenza di una normale mineralizzazione.

Conclusioni

Tutto ciò ci porta a riconsiderare le procedure diagnostiche dell'osteoporosi, che devono prevedere una maggiore attenzione agli indici di qualità dell'osso, e le terapie, che devono prendere in considerazione non solo la riduzione del riassorbimento ma, tramite l'eliminazione dello stress ossidativo, anche un miglioramento della qualità dell'osso.

Bibliografia

1. Schuit SC1, van der Klift M, Weel AE, de Laet CE, Burger H, Seeman E, Hofman A, Uitterlinden AG, van Leeuwen JP, Pols HA. Fracture incidence and association with bone mineral density in elderly men and women: the Rotterdam Study. *Bone* 2004;34(1):195-202.
2. Hofman A, van Duijn CM, Franco OH, Ikram MA, Janssen HL, Klaver CC, Kuipers EJ, Nijsten TE, Stricker BH, Tiemeier H, Uitterlinden AG, Vernooij MW, Witteman JC. The Rotterdam Study: 2012 objectives and design update. *Eur J Epidemiol* 2011;26(8):657-86.
3. Adami S, Giannini S, Giorgino R, Isaia G, Maggi S, Sinigaglia L, Filippini P, Crepaldi G, Di Munno O. The effect of age, weight, and lifestyle factors on calcaneal quantitative ultrasound: the ESOP study. *Osteoporos Int* 2003;14(3):198-207.
4. Tarantino U, Capone A, Planta M, D'Arienzo M, Letizia Mauro G, Impagliazzo A, Formica A, Pallotta F, Patella V, Spinarelli A, Pazzaglia U, Zarattini G, Roselli M, Montanari G, Sessa G, Privitera M, Verdoia C, Corradini C, Feola M, Padolino A, Saturnino L, Scialdoni A, Rao C, Iolascon G, Brandi ML, Piscitelli P. The incidence of hip, forearm, humeral, ankle and vertebral fragility fractures in Italy: results from a 3-year multicentric study. *Arthritis Res Ther* 2010;12(6):R226.
5. Wainwright SA, Marshall LM, Ensrud KE, Cauley JA, Black DM, Hillier TA, Hochberg MC, Vogt MT, Orwoll ES; Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Hip fracture in women without osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(5):2787-93.
6. Galli C, Passeri G, Macaluso GM. Osteocytes and WNT: the mechanical control of bone formation. *J Dent Res* 2010;89(4):331-43.
7. Sapir-Koren R1, Livshits G. Osteocyte control of bone remodeling: is sclerostin a key molecular coordinator of the balanced bone resorption-formation cycles? *Osteoporos Int*. 2014;25(12):2685-700.
8. Chang MK, Raggatt LJ, Alexander KA, Kuliwaba JS, Fazzalari NL, Schroder K, Maylin ER, Ripoll VM, Hume DA, Pettit AR. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo. *J Immunol* 2008;181(2):1232-44.
9. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem* 2010;285(33):25103-8.
10. Fan WB, Zhao JN, Bao NR. Effects of bidirectional EphB4-EphrinB2 signaling on bone remodeling. *Zhongguo Gu Shang* 2013;26(8):705-8.
11. Matsuo K. Eph and ephrin interactions in bone. *Adv Exp Med Biol* 2010;658:95-103.
12. Manolagas SC. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocr Rev* 2010;31(3):266-300.

TRATTAMENTO DELLE PATOLOGIE OCULARI DEL TERZO MILLENNIO: SPERANZA O REALTÀ?

Decio Capobianco

Oculistica, Presidio ASL NA/1 Centro, Napoli

Introduzione

Il costante aumento dell'aspettativa di vita soprattutto nei Paesi occidentali industrializzati, che tenderà a mantenersi per i prossimi anni, comporta una maggior frequenza di malattie oculari legate all'età. Le cause più frequenti di diminuzione visiva dipendenti dall'invecchiamento sono la cataratta, il glaucoma, la retinopatia diabetica e la degenerazione maculare, ma anche la disfunzione lacrimale e in minor misura la presbiopia che, pur non agendo direttamente sulla visione, riducono la qualità di vita in modo significativo. Tra le patologie oculari legate all'età la degenerazione maculare e il glaucoma sono quelle maggiormente responsabili di cecità. Pertanto, è di fondamentale importanza implementare la prevenzione di queste patologie intervenendo su quei comportamenti personali quali il fumo, l'alimentazione, l'attività fisica che hanno un forte impatto sulla fisiologia dell'occhio.

Degenerazione maculare senile

La Degenerazione Maculare Legata all'Età (DMLE) rappresenta la principale causa di cecità dopo i 55 anni e la sua prevalenza aumenta costantemente con l'avanzare dell'età. Questa patologia è caratterizzata dal deterioramento dei fotorecettori nella macula, una regione specializzata della retina responsabile dell'attività visiva fine (1). Da un punto di vista clinico, il processo patologico esordisce con la formazione di depositi di materiale extracellulare nella membrana di Bruch, denominati *drusen*, che impediscono il movimento di piccole molecole e fluidi attraverso la membrana. Nonostante le fasi precoci della DMLE non siano generalmente associate a perdita apprezzabile della vista, il numero e le dimensioni dei drusen fungono da indicatori della progressione della malattia.

Tale patologia oculare può evolvere in due forme:

- 1) atrofia geografica (o secca), con atrofia nella regione maculare della retina, ad evoluzione molto lenta ma progressiva, che colpisce dopo i 70-80 anni e determina un crescente calo del visus con difficoltà alla lettura;
- 2) atrofia neovascolare (o umida), conseguente alla crescita di capillari al di sotto e all'interno della retina stessa, con edema ed emorragie maculari che causano inizialmente la distorsione improvvisa delle immagini seguita dalla percezione di una zona centrale scura nella fase cicatriziale, con rapida compromissione del visus.

La diagnosi precoce è un fattore molto importante per il trattamento di questa patologia. A tale proposito, esiste uno strumento di autoesame semplice e veloce, utile per l'identificazione precoce della DMLE, denominato il test di Amsler. Il test è costituito da una griglia, cioè un foglio a quadretti con un punto nero centrale: coprendo prima un occhio e poi l'altro si controlla

se c'è una distorsione delle linee rette nella zona visiva centrale. La visione distorta delle linee nella zona visiva centrale può essere indicativo di anomalie.

La DMLE è caratterizzata da una eziologia multifattoriale che coinvolge diversi fattori di rischio sia genetici che ambientali (geni, invecchiamento, fumo, storia familiare, abitudini alimentari, stress ossidativo e ipertensione). La presenza di composti ossidativi e specie reattive dell'ossigeno rappresenta un fattore importante in grado di aumentare significativamente l'incidenza della malattia. Diversi studi genetici e molecolari hanno evidenziato il ruolo chiave di molecole infiammatorie (citochine e chemochine), cellule del sistema immunitario (macrofagi) e proteine del complemento nello sviluppo e nella progressione della DMLE (2).

Glaucoma

Il glaucoma rappresenta la seconda causa di cecità nel mondo occidentale. In Italia questa patologia rappresenta oggi una vera e propria patologia sociale. Infatti, tre diversi studi epidemiologici condotti nell'ultimo decennio in Sicilia, nel Lazio e nel Trentino Alto Adige, hanno rivelato che 1.500.000 persone presentano ipertensione oculare con valori di pressione intra-oculare superiori alla norma (> 21 mmHg), in assenza di danni morfologici o funzionali a carico delle fibre nervose del nervo ottico, mentre oltre 541.000 soggetti sono affetti da glaucoma a livello nazionale. Il glaucoma congenito colpisce un neonato ogni 10.000, ed è caratterizzato sin dalla nascita, dall'aumento della pressione intraoculare, responsabile della fotofobia (fastidio alla luce) e della lacrimazione. Il glaucoma comprende un insieme di patologie oculari caratterizzate dalla progressiva perdita di cellule gangliari retiniche (*Retinal Ganglion Cells*, RGC) e dei loro assoni che possono essere distinte, sulla base dell'aspetto anatomico dell'angolo irido-corneale, in glaucoma ad angolo aperto (60% dei glaucomi dell'adulto) e glaucoma ad angolo chiuso.

Sono state fatte diverse ipotesi sulle cause che determinano la morte delle RGC: in passato, si riteneva che l'elevata pressione intraoculare (*IntraOcular Pressure*, IOP) rappresentasse il determinante maggiore di queste patologie. Studi più recenti hanno invece stabilito che la IOP, pur essendo il principale fattore di rischio per il glaucoma, non è di per sé sufficiente a definire questa patologia, che può insorgere anche in assenza di elevati livelli di IOP e viceversa, esistono glaucomi in cui non si riscontra alta IOP (3). La sequenza di eventi che determina il danno glaucomatoso non è stata ancora del tutto chiarita, ma elementi come le anomalie vascolari, l'attività gliale, la risposta immunitaria, gli stimoli infiammatori e lo stress ossidativo possano rappresentare fattori causali importanti per la morte progressiva delle RGC osservata nel glaucoma (4). C'è oggi buona evidenza che lo stress ossidativo è presente nei pazienti con glaucoma e che questo contribuisce alla perdita delle RGC. L'eccessiva produzione di ROS (*Reactive Oxygen Species*) può avere effetti tossici diretti sulle RGC o contribuire secondariamente alla loro degenerazione influenzando altre cellule e strutture oculari quali la glia, le cellule immuni o il *meshwork* trabecolare, la via di deflusso dell'umor acqueo, importante per il mantenimento della pressione oculare. Le RGC sono molto ricche in mitocondri che producono l'alta energia richiesta per la conduzione nervosa e per il mantenimento delle funzioni neuronali ottimali. Funzioni mitocondriali alterate sono state osservate nei pazienti con glaucoma primario ad angolo aperto e possono influenzare negativamente la biologia delle RGC rendendole più suscettibili agli insulti esterni (es. la luce) che in altre condizioni sarebbero invece tollerati. Altri insulti possono venire da sostanze quali il glutammato, le prostaglandine e l'ossido nitrico rilasciati da astrociti e cellule della glia nella regione del nervo ottico (5).

Ruolo dell'alimentazione e degli anti-ossidanti nella prevenzione delle patologie oculari

L'occhio, rispetto ad altri organi, è estremamente sensibile allo stress ossidativo, dato l'alto consumo di ossigeno, l'elevato contenuto in acidi grassi polinsaturi (*PolyUnsaturated Fatty Acids*, PUFA) e l'esposizione alla luce visibile. Infatti, i fotorecettori sono molto ricchi in PUFA e questi lipidi di membrana sono molto proni alla perossidazione dovuta all'alta tensione di ossigeno. La retina invece è molto ricca di sostanze antiossidanti quali la vitamina E e C, e i carotenoidi della macula (luteina e zeaxantina) ritardano lo stress ossidativo indotto dalla luce. Data la sensibilità del sistema oculare ai componenti della dieta appare evidente come un'alimentazione equilibrata che assicuri il giusto apporto di nutrienti con proprietà antiossidanti (carotenoidi, vitamine e flavonoidi) e che sia ricca in PUFA possa fornire un valido aiuto per la salute dell'occhio (6). Considerata nel suo insieme come una mistura complessa di componenti o precursori biologicamente attivi, un'alimentazione ottimale è necessaria in tutte le fasi della vita, ma richiede apporti diversi in relazione all'età. La crescita, il mantenimento e il riparo di cellule dell'apparato visivo richiede tutte le vitamine essenziali, idrosolubili e liposolubili, alcuni nutrienti sono invece necessari per la struttura fisica (es. la taurina e l'acido amino sulfonico), altri per la trasduzione di segnali di base (vitamina A), altri ancora per proteggere cristallino e retina (antiossidanti, PUFA) (Tabella 1).

Tabella 1. Principali componenti bioattivi presenti negli alimenti di maggior consumo

Classe di composti	Elemento bioattivo	Alimenti
Carotenoidi	Luteina	Cavoli, lattuga, peperoni, broccoli, spinaci, papaia, kiwi, pesche
	Licopene	Pomodori
	Carotene	Carote
	Astaxantina	Crostacei, salmone
Acidi grassi polinsaturi	Omega 3	Pesce, olio di semi di lino
	Omega 6	Frutta secca e olii di semi di mais, girasole, oliva
Vitamine	E	Cereali, legumi, broccoli, verdure a foglia verde, uova, latte e derivati
	A	Fegato, uova, latte, frutta, ortaggi di colore giallo-arancione
	B1	Cereali, latte, uova, noci, arachidi
	B2	Latte, verdure fresche, uova
	B6	Carni e vegetali
	B9	Fegato e verdure a foglie verdi
	B12	Carne, latticini, uova
	PP	Latte e derivati, frumento, carne, pesce
C	Agrumi, kiwi, pomodori, peperoni, verdure verdi e gialle, patate, fragole	
Bioflavonoidi	Gallati	Tè verde, cioccolato fondente
	Antocianosidi	Agrumi, frutti di bosco
	Fenoli	Vino rosso
	Lecitina	Soia
Sali minerali	Zinco	Carne, frutti di mare, uova, fegato
	Selenio	Pesce, frutti di mare, carne rossa, uova, patate, grano e derivati
	Rame	Frutti di mare, legumi, nocciole, cioccolato, carni, grano
	Manganese	Vegetali a foglie verdi, legumi, frutta, cereali

Conclusioni

Le conoscenze attuali sui meccanismi patogenetici delle malattie oculari legate all'età e sul ruolo che l'alimentazione e gli stili di vita possono avere nella prevenzione e trattamento di queste patologie evidenziano la necessità di sviluppare approcci terapeutici nuovi basati sulla combinazione di principi tra di loro sinergici che:

- a) siano capaci di interferire con le cascate infiammatorie esistenti;
- b) siano mirati non solo al processo patogenetico in corso ma anche alle sorgenti della malattia, agendo ove possibile in modo preventivo;
- c) abbiano un basso livello di tossicità e possano essere utilizzati nel lungo termine.

Bibliografia

1. Cascella R, Ragazzo M, Strafella C, Missiroli F, Borgiani P, Angelucci F, Marsella LT, Cusumano A, Novelli G, Ricci F, Giardina E. Age-related macular degeneration: insights into inflammatory genes. *J Ophthalmol* 2014;2014:582842.
2. Gao J, Liu RT, Cao S, Cui JZ, Wang A, To E, Matsubara JA. NLRP3 inflammasome: activation and regulation in age-related macular degeneration. *Mediators Inflamm* 2015;2015:690243.
3. Casson RJ, Chidlow G, Wood JP, Crowston JG, Goldberg I. Definition of glaucoma: clinical and experimental concepts. *Clin Experiment Ophthalmol* 2012;40(4):341-9.
4. Vohra R, Tsai JC, Kolko M. The role of inflammation in the pathogenesis of glaucoma. *Surv Ophthalmol* 2013;58(4):311-20.
5. Osborne NN. Mitochondria: Their role in ganglion cell death and survival in primary open angle glaucoma. *Exp Eye Res* 2010;90(6):750-7.
6. Lien EL, Hammond BR. Nutritional influences on visual development and function. *Prog Retin Eye Res* 2011;30(3):188-203.

APPROCCIO MOLECOLARE NELLE PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE

Lucia Chico, Annalisa Lo Gerfo, Gabriele Siciliano

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Clinica Neurologica, Università di Pisa, Pisa

Introduzione

Le malattie neurodegenerative, tra cui la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), la malattia di Alzheimer (*Alzheimer disease*, AD) e il Morbo di Parkinson (*Parkinson disease*, PD), sono un gruppo eterogeneo di patologie caratterizzate da una lenta e progressiva perdita di una o più funzioni del sistema nervoso conseguente a un processo degenerativo che selettivamente coinvolge specifiche popolazioni neuronali. Sebbene l'eziopatogenesi delle malattie neurodegenerative rimanga incerta e, verosimilmente, ad origine multifattoriale (1), fra le varie teorie eziopatogenetiche proposte al fine di chiarire il processo di neurodegenerazione, alcune chiamano in causa lo stress ossidativo e le alterazioni del mitocondrio, nonché il ruolo che alcuni fattori ambientali quali metalli, pesticidi e alimenti svolgono quali possibili fattori di rischio. In tal senso, l'approccio molecolare può essere considerato un rilevante campo investigativo in espansione in grado di approfondire i meccanismi di base della neurodegenerazione e di definire il razionale su cui sviluppare possibili mirate strategie terapeutiche.

Sclerosi laterale amiotrofica

La SLA colpisce i motoneuroni della corteccia motoria, del bulbo e del midollo spinale; la progressiva degenerazione porta a denervazione e atrofia muscolare (2). Nonostante ampi studi su pazienti e su modelli animali, la patogenesi della SLA rimane ancora poco chiara; circa il 90-95% dei casi sono sporadici (sSLA), tuttavia, il 5-10% dei casi hanno un'origine familiare (fSLA) con un pattern di ereditarietà di tipo mendeliano. Sono stati identificati diversi geni che causano le fSLA; tra questi, mutazioni nel gene *Cu/Zn-superoxide dismutase 1* (SOD1), *TAR DNA binding protein* (TARDBP), *fusion in sarcoma* (FUS), *angiogenin*, *ribonuclease*, *RNase A family*, 5 (ANG) e *optineurin* (OPTN) causano un tipico fenotipo clinico (3) e più recentemente la mutazione C9orf72. Nell'ambito dei diversi meccanismi che intervengono nella degenerazione dei motoneuroni nelle forme sSLA, sono state proposte numerose ipotesi tra cui l'interazione di fattori ambientali e genetici, un danno di tipo eccitotossico (dovuto ad un eccesso di glutammato) (4) nonché alterazioni a carico del mitocondrio e danno da radicali liberi.

Negli ultimi anni, i progressi tecnologici nell'elaborazione di studi di associazione *Genome-Wide* (GWA) e di *Whole Exome Sequencing* (WES) hanno permesso l'esame simultaneo di più geni consentendo di ampliare le conoscenze delle basi genetiche e dei meccanismi coinvolti nelle malattie neurodegenerative. Sono stati così identificati nuovi geni che sembrano essere coinvolti nella SLA, tra cui *Valosin-containing protein* (VCP) (5), *Profilina-1* (6) e *Kinesin-associated protein 3* (KIFAP-3) (7), *matrin3* (8), *TUBA4A* (9), *CHCHD10* (10).

Malattia di Alzheimer

La AD è la più comune tra le forme di demenza e comprende circa il 70% di tutti i casi di demenza (11). Dal punto di vista macroscopico un cervello affetto da AD presenta un aspetto atrofico a causa di una progressiva perdita neuronale. L'atrofia è diffusa e interessa il lobo temporale, le aree associative neocorticali, l'area entorinale e in particolare l'ippocampo, una struttura fondamentale per i processi di formazione della memoria a breve termine (12).

Dal punto di vista genetico, la AD può essere distinta in forme sporadiche e forme familiari. Complessivamente, più del 90% dei pazienti con AD sono sporadici, con un'età di esordio tardiva (*late onset*, LOAD), mentre il restante 10% dei casi rende conto delle forme familiari, in cui i sintomi compaiono precocemente, di solito prima dei 60 anni (*early onset*, EOAD). Sono state identificate mutazioni in geni diversi che sono responsabili della patofisiologia delle forme familiari di AD:

- il gene della proteina precursore dell'amiloide (APP),
- il gene della presenilina 1 (PSEN1),
- il gene della presenilina 2 (PSEN2),

che codificano per proteine implicate nel processamento della APP e nella generazione del peptide β -amiloide (11).

Gli studi di associazione hanno condotto ad un quadro molto complesso in cui numerosi geni sono stati proposti come fattori di predisposizione alla malattia anche se non è chiaro il ruolo esatto di ciascuno di essi nella patogenesi, né i meccanismi di interazione tra i vari fattori. Tra i geni studiati, solo il gene che codifica per l'apolipoproteina E (ApoE), e in particolar modo la presenza dell'allele ApoE ϵ 4 è stato inconfutabilmente riconosciuto essere associato alle LOAD (13). Nell'encefalo, l'ApoE è implicata nel trasporto del colesterolo e molteplici studi ne supportano il coinvolgimento nella sinaptogenesi, nella crescita neuritica e nell'arborizzazione dendritica, nella modulazione della plasticità sinaptica, nella neurogenesi e nella neuroinfiammazione, spesso con efficacia isoforma-specifica (14).

Gli studi di associazione *genome-wide* (GWA), condotti su ampie popolazioni, hanno permesso di identificare più di 20 nuovi loci che sembrano conferire un aumentato rischio di sviluppare LOAD (11). I primi studi hanno identificato diversi nuovi geni: il gene CLU, il gene *Phosphatidylinositol Binding Clathrin Assembly Protein* (PICALM), il *gene receptor for the complement C3b protein* (CR1); il *gene bridging integrator 1* (BIN1) (15) e il *gene sortilin-related receptor, L (DLR class) A repeats containing* (SORL1) (11).

Malattia di Parkinson

La PD è un disturbo progressivo caratterizzato da lentezza e povertà di movimenti volontari accompagnati da tremore, bradicinesia, instabilità posturale e rigidità muscolare.

La malattia ha come base neurofisiologica la ridotta funzionalità del sistema dopaminergico mesencefalico determinata dalla degenerazione dei neuroni della *substantia nigra*. La ridotta "competenza" di questi neuroni comporta una serie di compromissioni "a catena" sui sistemi diencefalici e cerebellari deputati al corretto svolgimento e controllo del movimento e del tono muscolare (16). Gli studi epidemiologici rivelano che il 10-25% di casi sono familiari; sono state descritte diverse grandi famiglie affette da PD con una trasmissione autosomica dominante associate ad una mutazione del gene PARK 1. Questo gene codifica per una proteina, l' α -sinucleina, localizzata nei corpi di Lewy; tuttavia, questa mutazione è rara e non è osservata nei casi sporadici di morbo di Parkinson. In compenso, le forme precoci di morbo di Parkinson, sia

di tipo familiare a trasmissione autosomica recessiva, sia di tipo sporadico, sono frequentemente associate ad una mutazione di un altro gene che codifica per una proteina chiamata parkina (PARK 2); queste forme si distinguono anatomicamente per l'assenza di corpi di Lewy (17, 18). Altri geni o loci molto meno conosciuti sono implicati nelle forme familiari autosomiche dominanti (PARK 3, 4, 5 e 8), particolarmente il gene UCH-L1 implicato nel processo di degradazione delle proteine dell'ubiquitina, o nelle forme autosomiche recessive (PARK 6 e 7) (18). Ampi studi di popolazione, condotti mediante GWA, hanno permesso di identificare nuovi geni coinvolti nel PD tra cui *α-synuclein* (SNCA), *leucine-rich repeat kinase 2* (LRRK2), e *microtubule-associated protein tau* (MAPT) (19).

Meccanismi patogenetici

Nonostante i molteplici e diversi meccanismi che intervengono nella patogenesi della malattie neurodegenerative, le ricerche degli ultimi anni hanno evidenziato come alla base della degenerazione ci siano numerosi meccanismi che si intrecciano tra loro tra cui l'anormale aggregazione proteica, disfunzioni del mitocondrio e lo stress ossidativo (1), motivo per cui l'approccio molecolare a tali malattie ha progressivamente visto aumentare il significato del suo ruolo, anche in termini diagnostici e di possibilità di individuare marcatori surrogati di progressione della malattia e della eventuale risposta di questa ai trattamenti somministrati.

I cambiamenti conformazionali della struttura proteica (*misfolding*) possono essere il risultato di varie alterazioni, tra cui mutazioni geniche a carico della codificazione proteica nella struttura primaria, deficit nei sistemi di controllo del corretto processo di ripiegamento della catena polipeptidica una volta avvenuta la sintesi proteica, insulti tossici, che possono alterare la fase post-trasduzionale durante il ciclo di vita cellulare. L'impiego di animali transgenici, ha dimostrato che le alterazioni conformazionali possono determinare una perdita di funzione, parziale o totale, della proteina ma anche produrre un'augmentata attività fisiologica della proteina fino alla comparsa di nuove proprietà le quali vanno sotto il nome di "guadagno di funzione" e risultano altrettanto tossiche per la cellula (20).

Il mitocondrio, per mezzo della catena respiratoria mitocondriale, e tramite il processo di fosforilazione ossidativa, assolve alle richieste di ATP e quindi al mantenimento del metabolismo energetico della cellula. La catena respiratoria rappresenta un meccanismo molto efficiente, ma durante la fase di trasporto degli elettroni, una piccola percentuale di questi può ridurre prematuramente l'ossigeno, generando specie reattive dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS); quando i livelli delle ROS aumentano drammaticamente, possono verificarsi danni significativi alle strutture cellulari. Questo evento viene usualmente identificato con il termine di stress ossidativo (21), una condizione in cui viene a mancare il normale equilibrio intracellulare tra sostanze ossidanti, prodotte fisiologicamente durante i processi metabolici, e i sistemi di difesa antiossidante che hanno la funzione di neutralizzarle. Il conseguente disequilibrio provoca un aumento dei livelli delle molecole ossidanti le quali, superando il valore soglia, causano tossicità alla cellula (22). Diversi studi hanno messo in evidenza un incremento dello stress ossidativo nei pazienti affetti da SLA, AD e PD valutato mediante incremento dei livelli dei biomarcatori di danno ossidativo e un decremento dell'efficacia del sistema antiossidante, come una diminuzione dell'attività degli enzimi antiossidanti, rispetto ai soggetti di controllo (23).

Possibili approcci terapeutici

Attualmente, il trattamento di queste malattie prevede terapie farmacologiche la cui efficacia è limitata e produce un modesto beneficio; per tale motivo vi è un crescente interesse nel progettare e sperimentare nuove modalità di trattamento non farmacologico per migliorare lo stile di vita e il benessere generale dei pazienti. Sempre più studi dimostrano che lo stile di vita, come ad esempio il praticare una regolare attività fisica, può avere un ruolo importante nel migliorare il benessere generale dei pazienti (24).

Nonostante i dati in letteratura siano molto contrastanti, sembrerebbe che l'attività fisica, sebbene induca uno squilibrio temporaneo tra la produzione di ROS e loro eliminazione, a lungo termine potrebbe avere effetti positivi nel migliorare l'efficacia del sistema di difesa antiossidante (25). Al fine di testare tale ipotesi abbiamo valutato se, in pazienti affetti da SLA, una moderata attività fisica sia in grado di migliorare alcuni marcatori plasmatici di stress ossidativo, in particolare il livello circolante periferico di prodotti di ossidazione avanzata delle proteine (AOPP), mentre per misurare la componente antiossidante è stata valutata la capacità antiossidante ferro-riducente (FRAP) e i gruppi tiolici totali plasmatici. È stata analizzata una popolazione di 32 pazienti con SLA che, dopo essere stati sottoposti ad un primo prelievo basale (T0), sono stati chiamati ad effettuare un secondo prelievo dopo 50 giorni (T1), suddivisi in due gruppi: un gruppo di 11 pazienti SLA sottoposti (per 50 giorni) ad una moderata attività fisica, che consisteva in un'attività di camminata di 30 minuti/die, e un gruppo di 21 pazienti SLA non sottoposti ad alcun protocollo di training fisico. Dal confronto dei marcatori di stress ossidativo, per il gruppo di pazienti non sottoposti al training è stato osservato al T1 rispetto al T0 un incremento statisticamente significativo dei prodotti di ossidazione delle proteine (AOPP) ($p < 0,01$) (Figura 1) e una diminuzione dei marker antiossidanti FRAP ($p < 0,01$) (Figura 2) e tioli ($p < 0,001$) (Figura 3), quale possibile marcatore di progressione di malattia.

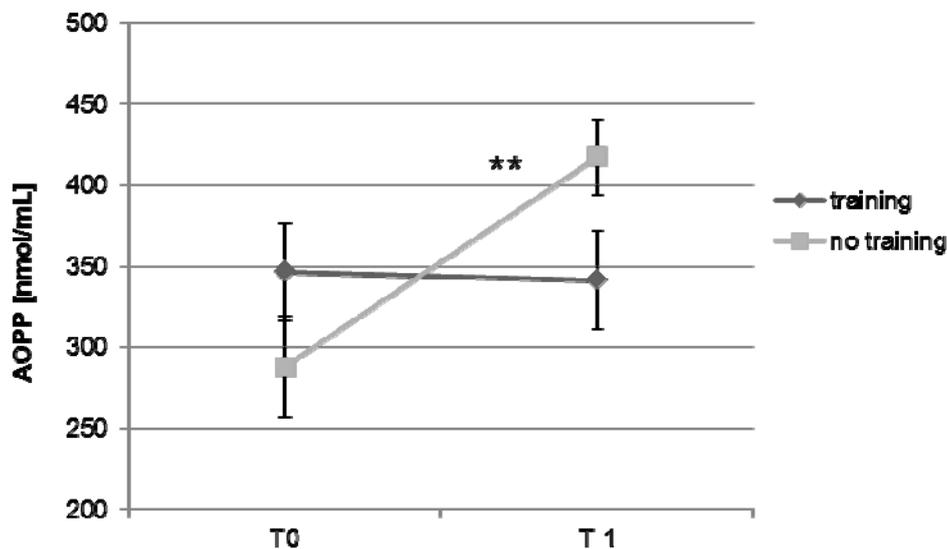


Figura 1. Livelli plasmatici dei prodotti di ossidazione avanzata delle proteine nei pazienti sottoposti al training e nei pazienti no training al tempo T1 vs T0 $p < 0,01$ (T1 vs T0 no training)

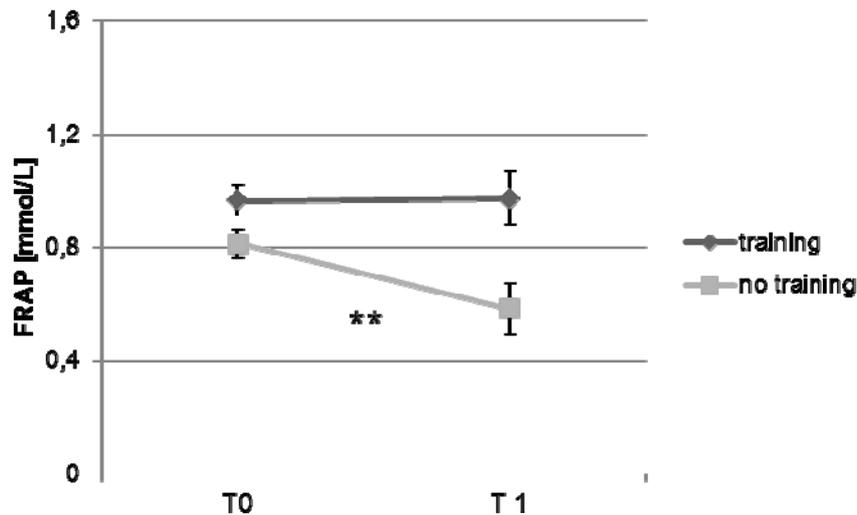


Figura 2. Livelli plasmatici della capacità antiossidante ferro-riducente nei pazienti sottoposti al training e nei pazienti no training al tempo T1 vs T0 $p < 0,01$ (T1 vs T0 no training)

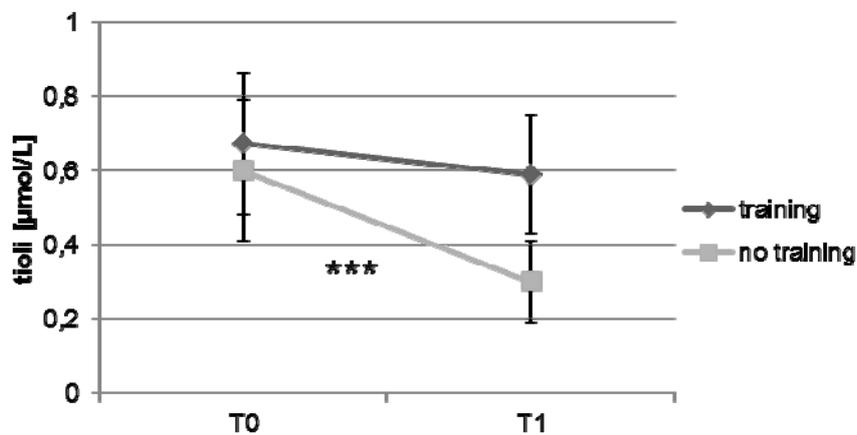


Figura 3. Livelli plasmatici dei gruppi tiolici totali nei pazienti sottoposti al training e nei pazienti no training al tempo T1 vs T0 $p < 0,001$ (T1 vs T0 no training)

Al contrario, analizzando il gruppo di pazienti sottoposti al protocollo di attività fisica, si osserva che al T1 rispetto al T0 non vi sono differenze statisticamente significative nei livelli medi dei biomarcatori analizzati, indicando che, dopo attività fisica, tali parametri non peggiorano, ma restano costanti nel tempo (vedi Figure 1-3).

Dal confronto dei marcatori di stress ossidativo valutati prima e dopo il periodo di training è emerso che tali valori si sono mantenuti costanti nel tempo, mentre sono peggiorati nel gruppo di pazienti non sottoposti a training, suggerendo che l'esercizio fisico, se praticato in modo continuo e con una moderata intensità, può essere d'aiuto nel migliorare l'equilibrio ossido-riduttivo cellulare e, probabilmente, il benessere dell'apparato muscolo-scheletrico.

Conclusioni

In conclusione, appare oggi evidente come, in considerazione della quantità di conoscenze che si stanno accumulando a riguardo dei meccanismi patogenetici delle malattie neurodegenerative, un approccio molecolare verso queste sia una risorsa rilevante in grado non solo di aumentare la comprensione della sequenza di eventi che invariabilmente porta alla morte neuronale, ma anche e soprattutto di gettare le basi per razionalmente individuare bersagli terapeutici per trattamenti appositamente disegnati e auspicabilmente in grado di migliorare la prognosi in tali condizioni.

Bibliografia

1. Ross CA, Poirier MA. Protein aggregation and neurodegenerative disease. *Nat Med* 2004;10 Suppl:S10-7.
2. Abhinav K, Al-Chalabi A, Hortobagyi T, Leigh PN. Electrical injury and amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the literature. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78(5):450-3.
3. Thonhoff JR, Ojeda L, Wu P. Stem cell-derived motor neurons: applications and challenges in amyotrophic lateral sclerosis. *Curr Stem Cell Res Ther* 2009;4(3):178-99.
4. Matsumoto Y, Suzuki A, Ishii G, Oshino S, Otani K, Goto K. The -181 A/C polymorphism in the excitatory amino acid transporter-2 gene promoter affects the personality trait of reward dependence in healthy subjects. *Neuroscience*. 2007;427(2):99-102.
5. Johnson JO, Mandrioli J, Benatar M, Abramzon Y, Van Deerlin VM, Trojanowski JQ, Gibbs JR, Brunetti M, Gronka S, Wu J, Ding J, McCluskey L, Martinez-Lage M, Falcone D, Hernandez DG, Arepalli S, Chong S, Schymick JC, Rothstein J, Landi F, Wang YD, Calvo A, Mora G, Sabatelli M, Monsurro MR, Battistini S, Salvi F, Spataro R, Sola P, Borghero G; ITALSGEN Consortium, Galassi G, Scholz SW, Taylor JP, Restagno G, Chiò A, Traynor BJ. Exome sequencing reveals VCP mutations as a cause of familial ALS. *Neuron* 2010;68(5):857-864.
6. Wu CH, Fallini C, Ticozzi N, Keagle PJ, Sapp PC, Piotrowska K, Lowe P, Koppers M, McKenna-Yasek D, Baron DM, Kost JE, Gonzalez-Perez P, Fox AD, Adams J, Taroni F, Tiloca C, Leclerc AL, Chafe SC, Mangroo D, Moore MJ, Zitzewitz JA, Xu ZS, van den Berg LH, Glass JD, Siciliano G, Cirulli ET, Goldstein DB, Salachas F, Meininger V, Rossoll W, Ratti A, Gellera C, Bosco DA, Bassell GJ, Silani V, Drory VE, Brown RH Jr, Landers JE. Mutations in the profilin 1 gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 2012;488(7412):499-503.
7. van Doormaal PT, Ticozzi N, Gellera C, Ratti A, Taroni F, Chiò A, Calvo A, Mora G, Restagno G, Traynor BJ, Birve A, Lemmens R, van Es MA, Saris CG, Blauw HM, van Vught PW, Groen EJ, Corrado L, Mazzini L, Del Bo R, Corti S, Waibel S, Meyer T, Ludolph AC, Goris A, van Damme P, Robberecht W, Shatunov A, Fogh I, Andersen PM, D'Alfonso S, Hardiman O, Cronin S, Rujescu D, Al-Chalabi A, Landers JE, Silani V, van den Berg LH, Veldink JH. Analysis of the KIFAP3 gene in amyotrophic lateral sclerosis: a multicenter survival study. *Neurobiol Aging* 2014;35(10):2420.e13-4.

8. Johnson JO, Pioro EP, Boehringer A, Chia R, Feit H, Renton AE, Pliner HA, Abramzon Y, Marangi G, Winborn BJ, Gibbs JR, Nalls MA, Morgan S, Shoaib M, Hardy J, Pittman A, Orrell RW, Malaspina A, Sidle KC, Fratta P, Harms MB, Baloh RH, Pestronk A, Wehl CC, Rogaeva E, Zinman L, Drory VE, Borghero G, Mora G, Calvo A, Rothstein JD; ITALSGEN Consortium, Drepper C, Sendtner M, Singleton AB, Taylor JP, Cookson MR, Restagno G, Sabatelli M, Bowser R, Chiò A, Traynor BJ. Mutations in the *Matrin 3* gene cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Neurosci* 2014;17(5):664-6.
9. Smith BN, Ticozzi N, Fallini C, Gkazi AS, Topp S, Kenna KP, Scotter EL, Kost J, Keagle P, Miller JW, Calini D, Vance C, Danielson EW, Troakes C, Tiloca C, Al-Sarraj S, Lewis EA, King A, Colombrita C, Pensato V, Castellotti B, de Belleruche J, Baas F, ten Asbroek AL, Sapp PC, McKenna-Yasek D, McLaughlin RL, Polak M, Asress S, Esteban-Pérez J, Muñoz-Blanco JL, Simpson M; SLAGEN Consortium, van Rheenen W, Diekstra FP, Lauria G, Duga S, Corti S, Cereda C, Corrado L, Sorarù G, Morrison KE, Williams KL, Nicholson GA, Blair IP, Dion PA, Leblond CS, Rouleau GA, Hardiman O, Veldink JH, van den Berg LH, Al-Chalabi A, Pall H, Shaw PJ, Turner MR, Talbot K, Taroni F, García-Redondo A, Wu Z, Glass JD, Gellera C, Ratti A, Brown RH Jr, Silani V, Shaw CE, Landers JE. Exome-wide rare variant analysis identifies TUBA4A mutations associated with familial ALS. *Neuron* 2014;84(2):324-31.
10. Ronchi D, Riboldi G, Del Bo R, Ticozzi N, Scarlato M, Galimberti D, Corti S, Silani V, Bresolin N, Comi GP. CHCHD10 mutations in Italian patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*. 2015;138(Pt 8):e372.
11. Reitz C, Mayeux R. Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol* 2014;15;88(4):640-51.
12. Frisoni GB, Fox NC, Clifford RJ Jr, Scheltens P, Thompson PM. The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 2010;6(2):67-77.
13. Coon KD, Myers AJ, Craig DW, Webster JA, Pearson JV, Lince DH, Zismann VL, Beach TG, Leung D, Bryden L, Halperin RF, Marlowe L, Kaleem M, Walker DG, Ravid R, Heward CB, Rogers J, Papassotiropoulos A, Reiman EM, Hardy J, Stephan DA. A high-density whole-genome association study reveals that APOE is the major susceptibility gene for sporadic late-onset Alzheimer's disease. *J Clin Psychiatry* 2007;68(4):613-8.
14. Gomez-Isla T, West HL, Rebeck GW, Harr SD, Growdon JH, Locascio JJ, Perls TT, Lipsitz LA, Hyman BT. Clinical and pathological correlates of apolipoprotein E epsilon 4 in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology* 1996;39:62-70.
15. Carrasquillo MM1, Belbin O, Hunter TA, Ma L, Bisceglia GD, Zou F, Crook JE, Pankratz VS, Sando SB, Aasly JO, Barcikowska M, Wszolek ZK, Dickson DW, Graff-Radford NR, Petersen RC, Morgan K, Younkin SG. Replication of BIN1 association with Alzheimer's disease and evaluation of genetic interactions. *J Alzheimers Dis* 2011;24(4):751-8.
16. Guttman M, Kish SJ, Furukawa Y. Current concepts in the diagnosis and management of Parkinson's disease. *CMAJ* 2003;168(3):293-301.
17. Kim HJ, Jeon BS. Hypothesis: somatic mosaicism and Parkinson disease. *Exp Neurobiol* 2014;23(4):271-6.
18. Broussolle E, Thobois S. [Genetics and environmental factors of Parkinson disease]. *Rev Neurol (Paris)*. 2002;158(Spec no 1):S11-23.
19. Sharma M, Ioannidis JP, Aasly JO, Annesi G, Brice A, Van Broeckhoven C, Bertram L, Bozi M, Crosiers D, Clarke C, Facheris M, Farrer M, Garraux G, Gispert S, Auburger G, Vilarinho-Güell C, Hadjigeorgiou GM, Hicks AA, Hattori N, Jeon B, Lesage S, Lill CM, Lin JJ, Lynch T, Lichtner P, Lang AE, Mok V, Jasinska-Myga B, Mellick GD, Morrison KE, Opala G, Pramstaller PP, Pichler I, Park SS, Quattrone A, Rogaeva E, Ross OA, Stefanis L, Stockton JD, Satake W, Silburn PA, Theuns J, Tan EK, Toda T, Tomiyama H, Uitti RJ, Wirdefeldt K, Wszolek Z, Xiromerisiou G, Yueh KC,

- Zhao Y, Gasser T, Maraganore D, Krüger R; GEO-PD Consortium. Large-scale replication and heterogeneity in Parkinson disease genetic loci. *Neurology* 2012;79(7):659-67.
20. Rothstein JD, Tsai G, Kuncl RW, Clawson L, Cornblath DR, Drachman DB, Pestronk A, Stauch BL, Coyle JT. Abnormal excitatory amino acid metabolism in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1990;28(1):18-25.
21. Maiese K, Chong ZZ, Hou J, Shang YC. Erythropoietin and Oxidative Stress. *Curr Neurovasc Res* 2008;5(2):125-42.
22. Sompol P, Ittarat W, Tangpong J, Chen Y, Doubinskaia I, Batinic-Haberle I, Mohammad HA, Butterfield DA, St. Clair DK. A neuronal model of Alzheimer's disease: An insight into the mechanisms of oxidative stress-mediated mitochondrial injury. *Neuroscience* 2008;153:120-30.
23. Cahill-Smith S, Li JM. Oxidative stress, redox signalling and endothelial dysfunction in ageing-related neurodegenerative diseases: a role of NADPH oxidase 2. *Br J Clin Pharmacol* 2014;78(3):441-53.
24. Kiernan MC. Amyotrophic lateral sclerosis and the neuroprotective potential of exercise. *J Physiol* 2009;587(Pt 15):3759-60.
25. Bherer L, Erickson KI, Liu-Ambrose T. A review of the effects of physical activity and exercise on cognitive and brain functions in older adults. *J Aging Res* 2013;2013:657508.

*Serie Rapporti ISTISAN
numero di novembre 2015, 2° Suppl.*

*Stampato in proprio
Settore Attività Editoriali – Istituto Superiore di Sanità*

Roma, novembre 2015