

DOCUMENTO DI RICERCA

**RUOLO DELLA DIETA MEDITERRANEA  
BIOLOGICA SULLO STATO DI SALUTE**

di

*Antonino De Lorenzo*

*Laura Di Renzo*

Il presente documento di ricerca è stato elaborato nell'ambito del progetto SABIO finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali con D.M. 908001 del 26 maggio 2004.

Responsabile del progetto SABIO - U.O. Università di Roma "Tor Vergata":  
Prof. Antonino De Lorenzo, *professore ordinario di Alimentazione e Nutrizione Umana, direttore della Scuola di specializzazione in "Scienza dell'Alimentazione" e coordinatore del dottorato di ricerca in "Fisiologia dei distretti corporei", Università di Roma "Tor Vergata"*

Coordinamento: Laura Di Renzo, *ricercatore e docente, Università di Roma "Tor Vergata", direttore ricerche Istituto Nazionale per la Dieta Mediterranea e la Nutrigenomica*

Hanno collaborato alla ricerca:

1. U.O. Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Via Montpellier 1, 00133 Roma, Italia
2. Istituto Nazionale per la Dieta Mediterranea e la Nutrigenomica (I.N.Di.M), Reggio Calabria, Italia

Autori:

Laura Di Renzo<sup>1,2</sup>, Mariagiovanna Rizzo<sup>1</sup>, Donato Di Pierro<sup>3</sup>, Carmela Tozzo<sup>4</sup>, Annalisa Noce<sup>4</sup>, Nicola Di Daniele<sup>4</sup>, Valeria Sodi<sup>1</sup>, Benito Di Giorgio<sup>1</sup>, Giuseppe Di Giorgio<sup>1,2</sup>, Emidio Domino<sup>1</sup> e Antonino De Lorenzo<sup>1</sup>

*1 Dipartimento di Neuroscienze, Cattedra di Alimentazione e Nutrizione Umana, Università Di Roma Tor Vergata, Via Montpellier 1, 00133 Roma, Italia*

*2 I.N.Di.M, Reggio Calabria, Italia*

*3 Dipartimento di Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, Università Di Roma Tor Vergata, Via Montpellier 1, 00133 Roma, Italia*

*4 Dipartimento di Medicina Interna, Servizio di Nefrologia e Dialisi, Università Di Roma Tor Vergata, Via Montpellier 1, 00133 Roma, Italia*

Revisione Redazionale: Mariagiovanna Rizzo<sup>1</sup>

## Indice

<b>1. DIETA MEDITERRANEA ITALIANA DI RIFERIMENTO: PROTOTIPO DEL “BIOLOGICO”</b>	<b>5</b>
<b>2. OMOCISTEINA: INDICATORE DELLO STATO DI SALUTE</b>	<b>11</b>
2.1 Limiti di normalità dell’omocisteina plasmatica totale	11
2.2 Omocisteina e malattia cronico-degenerative	12
2.3 Omocisteina e malattie cardiovascolari	12
2.4 Omocisteina e malattie cardiovascolari in soggetti Uremici	14
<b>3. FOSFORO E STATO DI SALUTE</b>	<b>17</b>
3.1 Funzione biologica	17
3.2 Pesticidi fosforati	17
3.3 Linfomi e fosfati	19
3.4 Nefropatie e fosfati	21
<b>4. INFLUENZA DELL’ALIMENTAZIONE BIOLOGICA SULLA TAC EMATICA, SULLO STATO REDOX ED ENERGETICO CELLULARE, SUI LIVELLI DI MDA EMATICO, IN SOGGETTI UREMICI</b>	<b>25</b>
<b>5. RAZIONALE DELLO STUDIO</b>	<b>29</b>
<b>6. MATERIALI E METODI</b>	<b>31</b>
6.1 Valutazione clinica	33
6.2 Dispendio energetico	33
6.3 Analisi bioimpedenziometrica	34
6.4 Densitometria a doppio raggio di assorbimento	35

6.5	Rilevamento delle abitudini alimentari	36
6.6	Indici Nutrizionali	37
6.7	Analisi ORAC degli alimenti provenienti da agricoltura convenzionale e biologica	40
6.8	Valutazione dello stato energetico cellulare e dei livelli di MDA ematici (HPLC)	42
6.9	Elaborazione statistica	43
<b>7.</b>	<b>RISULTATI E CONCLUSIONI</b>	<b>45</b>
7.1	Variabili antropometriche, densitometriche ed analisi biochimico-cliniche	45
7.2	Valori calorimetrici	48
7.3	Risultati ORAC e HPLC	48
7.4	Apporto energetico	51
7.5	Conclusioni	57
<b>8.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>65</b>

# CAPITOLO 1

## DIETA MEDITERRANEA ITALIANA DI RIFERIMENTO: PROTOTIPO DEL “BIOLOGICO”

Durante gli ultimi dieci anni una rapida espansione di alcuni settori scientifici e soprattutto della quantità di evidenze epidemiologiche, ottenute nella popolazione generale, ha contribuito a chiarire il ruolo della dieta nella prevenzione e nel controllo della morbilità e mortalità precoce causate da malattie non trasmissibili. Inoltre, si è giunti all'identificazione di alcuni fra gli specifici componenti della dieta, che contribuiscono ad aumentare le probabilità di sviluppare questo tipo di malattie, e degli interventi da attuare nel singolo individuo per modificarne l'azione. Nonostante il miglioramento degli standard di vita, l'espansione e la diversificazione della disponibilità di alimenti, l'aumento dell'accesso ai servizi, si sono verificate ripercussioni negative, in termini di acquisizione di modelli dietetici impropri, riduzione dell'attività fisica e aumento dell'abitudine al fumo e di conseguenza, soprattutto nelle popolazioni povere, un corrispondente incremento delle malattie croniche legate alla dieta.

Prende sempre più piede l'idea che la dieta rappresenti il maggiore determinante modificabile delle malattie croniche, grazie anche al crescente sostegno, fornito dai dati scientifici, al concetto che le sue modificazioni inducono importanti effetti, sia positivi sia negativi, sulla salute durante tutta la vita. Adattamenti alla dieta possono non solo influenzare la salute di oggi, ma anche agire nel determinare se un soggetto svilupperà o meno, nel corso del tempo, varie patologie. Peraltro, questi concetti finora non hanno determinato cambiamenti nelle decisioni strategiche o nella pratica. Per ottenere i migliori risultati nella prevenzione delle malattie croniche è fondamentale che gli interventi decisionali e le strategie politiche che vengono messi in atto, riconoscano il ruolo essenziale della dieta, della nutrizione e dell'attività fisica.

Le implicazioni pratiche di queste raccomandazioni dovrebbero portare a un aumento del consumo di frutta e verdura e di pesce e a modificare la qualità dei grassi e degli olii, così come la quantità di zuccheri e di amido. Oltre alla prevenzione delle malattie croniche, esistono chiaramente molte altre ragioni per migliorare la qualità di vita della gente durante tutta l'esistenza. Lo sposta-

mento del profilo dell'intera popolazione verso una direzione più salutare è l'obiettivo degli interventi di prevenzione primaria.

Per coniugare salute e buona tavola bisogna ricordare che alimentarsi in modo sano vuol dire preferire prodotti non trattati, prediligere frutta e verdura di stagione, consumare prodotti di qualità. In questo contesto sembra importante introdurre il concetto di mangiare biologico, anche se accostarsi al tema dell'alimentazione biologica richiede, innanzitutto, una serie di chiarimenti. Nel contesto attuale il termine "biologico" rimanda tanto alla modalità della produzione quanto al cibo fornito da tali sistemi zootecnici ed agricoli. In termini più ampi, tuttavia, biologico è sinonimo di consumo attento alla salubrità del cibo che ingeriamo, consumo improntato ad un maggior rispetto per l'ambiente, e spesso ispirato da una maggior sensibilità alle condizioni lavorative nelle quali il cibo viene prodotto. Quest'ultimo aspetto, ancor più della considerazione per l'impatto ambientale, connota in termini politici questo preciso approccio alle scelte di consumo cui siamo quotidianamente sottoposti. L'opzione alternativa al consumo convenzionale: il "biologico" si afferma con un senso di maggior tutela della propria salute. Se nutrirsi, infatti, è un'esigenza fisiologica, nutrirsi "bio" è istanza eminentemente mentale. Quindi, è necessario un maggior sviluppo del mercato biologico in modo tale da consentire maggiori investimenti nella ricerca ed una maggior attenzione al problema della produzione alimentare.

Gli alimenti considerati nelle Filiere di frutticoltura, olivicoltura, orticoltura e colture erbacee da pieno campo rappresentano la colonna portante del regime alimentare noto come "Dieta Mediterranea", generalmente adottato, sebbene con numerose varianti, nei paesi che si affacciano sul bacino del Mar Mediterraneo e fra questi l'Italia. Il ruolo preventivo della dieta mediterranea è stato messo in evidenza dallo Studio Cooperativo Internazionale di Epidemiologia della Cardiopatia Coronarica, meglio noto come Seven Countries Study (Studio dei Sette Paesi: Alberti-Fidanza, 1999). Da questo studio è emerso che per quanto riguarda le nove coorti rurali europee, quelle mediterranee (Creta e Corfù in Grecia, Crevalcore e Montegiorgio in Italia e Dalmazia nella ex Jugoslavia), presentavano al venticinquesimo anno di riesame un tasso di mortalità per cardiopatia coronarica di 978/10.000, mentre quelle non mediterranee (Finlandia orientale ed occidentale, Slavonia e Velika Krsna nella ex-Jugoslavia) presentavano un tasso di mortalità doppio (1947/10 000).

La società italiana, dopo il 1950, è passata da un modello basato sull'agricoltura e incentrato sul nucleo familiare ad un modello industrializzato-collettivo, e questo passaggio ha indotto notevoli cambiamenti nello stile di vita

e nelle abitudini alimentari. Fidanza ed altri (1994) hanno esaminato longitudinalmente le modificazioni dei consumi alimentari, che si sono verificati non solo nelle coorti delle due aree rurali di Crevalcore (Bologna) e di Montegior- gio (Ascoli Piceno) ma anche in gruppi di anziani della città di Perugia e nelle famiglie di Pollica e Rofrano nel Cilento. Questo studio in particolare era finalizzato a valutare in maniera obiettiva i cambiamenti nella dieta, anche tramite l'elaborazione dell'indice di adeguatezza mediterraneo (IAM). Tale indice può essere facilmente ottenuto dividendo la somma della percentuale dell'energia totale fornita dai gruppi di alimenti definiti come "mediterranei" (pane, cereali, legumi, patate, vegetali, frutta, pesce, vino rosso, olio vegetale) per la somma delle percentuali dell'energia totale fornita dai gruppi alimentari definiti "non mediterranei" (latte, formaggio, carne, uova, grassi animali e margarina, bevande dolci, biscotti/torte, zucchero).

In seguito, nel 1960, la dieta dei cittadini di Nicotera è stata considerata la Dieta Mediterranea Italiana di Riferimento. De Lorenzo e altri, hanno recentemente valutato lo IAM della dieta di 43 uomini e 7 donne di età compresa tra i 40 e i 59 anni abitanti nella città di Nicotera. È emersa una diminuzione di tale indice rispetto ai valori osservati 36 anni prima (1960).

La Dieta Mediterranea (DM) è universalmente considerata come il regime ottimale per favorire lo stato di salute e, conseguentemente, la durata e la qualità della vita. Caratterizzata dal consumo bilanciato di alimenti ricchi di fibre, antiossidanti e grassi insaturi, la DM offrirebbe un approccio alternativo salutare volto ad abbassare il consumo di grassi animali e di colesterolo nella dieta ed inoltre l'appropriato bilancio tra apporto e dispendio energetico. I rapporti tra i macronutrienti energetici rispondono a quelli riconosciuti come adeguati, cioè 12-15% dell'energia totale da proteine, 25-30% da lipidi e la restante quota da carboidrati. L'energia da alcol etilico, fornito principalmente dal consumo di vino durante i pasti rientra nei valori accettabili: per l'uomo 2-3 bicchieri al giorno e per la donna 1-2 bicchieri. Le proteine sono ben ripartite tra proteine di origine animale e vegetale. I carboidrati sono rappresentati, come richiesto dal nostro organismo, prevalentemente da amido; essi sono forniti in gran parte da frumento (pane, pasta) e in quantità minore da altri cereali e da legumi secchi, mentre la quota di saccarosio, per il moderato consumo di zucchero come tale e di dolci, è decisamente bassa. Il prevalente consumo di carboidrati complessi (prodotti derivati da farine di cereali), a copertura del fabbisogno glucidico, assicura un corretto indice glicemico e previene diabete e patologie correlate. I cereali e i legumi secchi hanno un ruolo equilibratore nella

dieta grazie al loro potere saziante, all'elevato contenuto di carboidrati complessi, alla ricchezza in fibra, all'apporto di proteine, vitamine e minerali. Il ferro è in questi alimenti ben rappresentato. I lipidi, i prodotti della pesca e l'olio extravergine di oliva sono i principali responsabili dell'apporto di acidi grassi essenziali e di acido oleico, assicurando, in parallelo a un consumo ragionevolmente modesto di latte e derivati e di altri grassi di origine animale, i rapporti percentuali tra acidi grassi polinsaturi, saturi e monoinsaturi che i Comitati di esperti suggeriscono sull'energia totale giornaliera: 15% per l'acido oleico e un altro 15% tra acidi grassi saturi e poliinsaturi. La quota di energia da acido oleico (monoinsaturo) nell'ambito degli acidi grassi rappresenta infatti nella Dieta Mediterranea la quota maggiore, che può anche superare il 15% dell'energia, ma sempre nel rispetto dell'adeguatezza energetica della dieta, l'energia da acidi grassi saturi risulta non superiore al 7% dell'energia totale, cosicché il rapporto acidi grassi polinsaturi/saturi è di circa 1:1.

D'altronde dai risultati epidemiologici del Seven Countries Study (1999) emerge che un elevato apporto di acido oleico è negativamente correlato con il colesterolo plasmatico e con la mortalità per coronaropatia. Nel contesto della quota di acidi grassi essenziali anche il rapporto omega-6/omega-3 è adeguato. È ben nota l'azione degli acidi grassi omega-3 di prevenzione e controllo non solo delle malattie cardiovascolari, ma di varie altre patologie, come cancro, artrite reumatoide, psoriasi, cataratta. Un abituale consumo di pesce, caratteristico della Dieta Mediterranea di Riferimento, permette il soddisfacimento del bisogno in acidi grassi omega-3. Gli omega-6, invece, sono contenuti in prevalenza negli oli vegetali (oli di girasole e mais che però non devono essere cotti in quanto termolabili). Tra questi è da ricordare l'acido linoleico contenuto in noci, cereali, legumi, olio di mais e girasole, da esso, sintetizzato, deriva l'acido gammalinoleico (GLA) utile nel combattere il colesterolo, l'artrite reumatoide, la neuropatia diabetica e l'eczema.

Molti dei componenti caratteristici della Dieta Mediterranea tradizionale sono conosciuti per avere effetti positivi sulla salute e sul benessere e possono essere utilizzati per descrivere il concetto di alimenti funzionali. I prodotti ortofrutticoli e le noci sono tutti ricchi in fenoli, flavonoidi, isoflavonoidi, fitosteroli e residui bioattivi acido-essenziali che forniscono protezione alle malattie. I carotenoidi, l'acido folico e la fibra, che sono abbondanti nella Dieta Mediterranea, sembrano svolgere ruoli importanti nella prevenzione della malattia coronarica. Il consumo di verdure, fonte importante di fitosteroli, è associato con una riduzione del livello del colesterolo nel siero e del rischio



cardiovascolare. Ciò ha potuto essere di grande importanza nelle società sviluppate dove la malattia cardiovascolare è la prima causa di morte. La frutta inoltre fornisce la fibra, così come le vitamine, i minerali, i flavonoidi e i terpeni, molti dei quali forniscono protezione contro i processi ossidativi.

A causa delle sostanze fitoestrogeniche contenute, l'aumentato consumo di frutta e verdura può offrire un'alternativa a terapia di riassetto ormonale nella donne in menopausa. Molti flavonoidi ed isoflavonoidi purificati fra gli abituali vegetali consumati nello stile Mediterraneo hanno mostrato di possedere questa attività estrogenica. Gli acidi grassi poli-insaturi (acido eicosapentaenoico e docosaesaenoico) contenuti nel pesce regolano efficacemente i fattori emostatici, proteggono dalle aritmie cardiache, dal cancro e dall'ipertensione e svolgono un ruolo vitale nel mantenimento delle funzioni neurali e nella prevenzione di determinati disordini psichiatrici. L'accumularsi delle evidenze scientifiche suggerisce che condire gli alimenti con l'olio d'oliva, riduce il rischio di malattie coronariche, previene l'insorgenza tumorale e modifica le risposte immuni ed infiammatorie. Inoltre sembra avere un ruolo anche nella mineralizzazione ossea, riducendo così il rischio di osteoporosi.

Gli effetti benefici dell'olio di oliva sui fattori di rischio di malattie cardiovascolari sono ormai riconosciuti ed attribuiti spesso soltanto agli elevati livelli di acidi grassi monoinsaturi (MUFA). L'olio d'oliva è un alimento funzionale. I componenti secondari dell'olio d'oliva, i quali costituiscono solo 1-2% del contenuto totale dell'olio vergine di oliva, sono classificati in due tipi: la frazione non saponificabile, definita come la frazione estratta dopo la saponificazione dell'olio tramite l'uso di solventi, e la frazione solubile che include i residui fenolici. Componenti della frazione non saponificabile sono: idrocarburi (squalene), tocoferoli, alcoli grassi, alcool triterpenico, 4-metilsteroli, steroli, altri residui terpenici e pigmenti polari (clorofilla e feofitine).

Per poter meglio comprendere le qualità benefiche dell'olio d'oliva bisogna chiarire ciò che rende il sistema cardiovascolare a rischio di patologie.

Il metabolismo delle lipoproteine LDL svolge un ruolo chiave nell'aterosclerosi e nello sviluppo di malattie cardiovascolari. Le LDL piccole e dense sono più inclini all'ossidazione, quindi ad entrare nella parete arteriosa rispetto alle particelle più grandi. La dimensione delle particelle della lipoproteina LDL è influenzata dal grasso dietetico. Le diete a basso contenuto di grassi portano ad un diminuzione delle dimensioni delle LDL, rispetto alle diete con alti livelli di grassi.

Evidenze scientifiche mostrano, inoltre, come l'olio d'oliva ed i suoi componenti principali e secondari, possano modulare l'infiammazione e l'attivazione dell'endotelio. Esposito ed altri, in pazienti con sindrome metabolica, hanno trovato un miglioramento del profilo lipidico con riduzione del rischio cardiovascolare.

Le erbe aromatiche, sapientemente utilizzate nella dieta Mediterranea, sono anche ottimi alleati nell'aumentare il valore nutritivo dell'alimento consumato. Il finocchio e l'erba cipollina contengono grandi quantità di flavonoidi; l'aglio e la cipolla di allucina; il capperi, con il suo effetto diuretico ed ipotensivo, contiene i flavonoidi kaempferolo, quercitina e gli acidi idrocinnamici che possiedono noti effetti antinfiammatori ed antiossidanti. I polifenoli del vino rosso possiedono attività antiossidante tale da apportare un'azione citoprotettiva i cui effetti si manifestano inducendo un cambiamento nel profilo delle lipoproteine, nella coagulazione del sangue, nell'aggregazione piastrinica, nei meccanismi ossido-riduttivi e nella funzione endoteliale. L'endotelio regola il tono vascolare circostante bilanciando delicatamente la vasodilatazione (ossido nitrico, NO) e la vasoconstrizione (endoteline, fattori prodotti dall'endotelio stesso) in risposta agli stimoli. Il vino ed altri derivati dell'uva rossa ricchi di resveratrolo (un polifenolo dello stilbene) determinano un effetto vasodilatatorio endotelio-dipendente tramite la up-regolazione della produzione di NO, ed esplicano una significativa attività antiossidante.

Per "Dieta Mediterranea biologica" si intende una dieta moderata in cui prevalgono alcuni gruppi di alimenti tipici mediterranei provenienti da agricoltura biologica: cereali, legumi, ortaggi, frutta fresca e secca, olio vergine di oliva, prodotti della pesca, e come bevande alcoliche vino rosso. L'idonea combinazione, qualitativa e quantitativa, di questi alimenti permette di prevenire le inadeguatezze nutrizionali per eccesso e per difetto e fornisce nutrienti e componenti alimentari dotati di elevati effetti protettivi, grazie alla loro proprietà antiossidante, nei riguardi delle malattie cronico-degenerative.

## CAPITOLO 2

### OMOCISTEINA: INDICATORE DELLO STATO DI SALUTE

#### 2.1 Limiti di normalità della omocisteina plasmatica totale (tHcy)

La definizione dei limiti di normalità della tHcy plasmatica o sierica a digiuno presenta aspetti tuttora irrisolti per via delle innumerevoli variabili coinvolte. In primo luogo va considerato l'aspetto alimentare. È ovvio attendersi che tanto maggiore è l'introduzione di metionina – e quindi di carne – con la dieta, tanto più alti saranno i livelli di tHcy. Peraltro, soggetti a stretta dieta vegetariana, e quindi con livelli normali od aumentati di folati, possono presentare iperomocisteinemia per carenza di vitamina B12 (anch'essa introdotta con la carne). Risulta quindi problematico stabilire se i limiti di normalità debbano essere rappresentativi della popolazione generale o del sottogruppo con livelli rigorosamente normali di metionina e dei cofattori vitaminici coinvolti nel metabolismo della omocisteina.

Inoltre, come atteso sulla base della diversa massa muscolare, i maschi hanno livelli di tHcy più alti delle femmine, per le quali giocano un ruolo anche i livelli ormonali di estrogeni e progestinici. Forti fumatori e bevitori di caffè hanno livelli aumentati di tHcy. L'ipotiroidismo, ma anche l'ipertensione essenziale, si associano ad iperomocisteinemia. Alcuni farmaci, principalmente antiepilettici e diuretici, causano innalzamento dei valori di tHcy. La funzionalità renale è particolarmente critica nel determinare i livelli circolanti di tHcy: una riduzione del filtrato glomerulare – anche se non associata a livelli patologici di creatininemia – è causa di iperomocisteinemia. Non è infine sorprendente che i livelli di tHcy aumentino con l'età. Risulta pertanto necessario, prima di diagnosticare lo stato di iperomocisteinemia moderata, raccogliere una accurata anamnesi del paziente, escludere l'assunzione di farmaci potenzialmente interferenti, e basarsi su intervalli di normalità specifici per sesso ed età. Nel plasma il valore normale è di 5-12  $\mu\text{mol/L}$ . Per valori compresi fra il 12-30  $\mu\text{mol/L}$  si parla di lieve iperomocisteinemia, per valori fra i 30-100  $\mu\text{mol/L}$  di iperomocisteinemia moderata, per valori superiori ai 100  $\mu\text{mol/L}$  di grave iperomocisteinemia

## 2.2 Omocisteina e malattie crónico-degenerative

Negli ultimi vent'anni, molto interesse ha destato il possibile ruolo dell'aumento dell'omocisteina plasmatica nella patogenesi della malattia cardiovascolare e tromboembolica. Il collegamento dell'omocisteina con alcune patologie umane è stato suggerito soltanto nel 1962 da Gerritsen e coll. e da Carson e coll., che descrissero i primi casi di iperomocisteinemia ed omocistinuria in bambini che presentavano gravi patologie vascolari, come tromboembolia polmonare, trombosi del seno sagittale superiore, della vena cava inferiore e/o della vena porta, ed occlusioni, simili a quelle aterosclerotiche, delle arterie renali, carotidee e coronarie.

In questi anni il ruolo dell'iperomocisteinemia risulta sempre più evidente in un'ampia gamma di condizioni fisiologiche o patologiche, quali complicanze nel corso della gravidanza e della nascita, menopausa, insufficienza renale cronica, trapianto di rene, diabete di tipo 1 e 2, ipotiroidismo. Inoltre l'aumento plasmatico di omocisteina è stato correlato con neoplasie del colon-retto, pancreas, mammella, cervice uterina e con i tumori del distretto testa-collo. Al fine di evidenziare maggiormente il ruolo patogenetico dell'omocisteina nel processo di carcinogenesi, in associazione con il deficit di folati e di vitamina B12, si stanno sviluppando negli ultimi anni nuove ricerche. Tra le correlazioni omocisteina-patologie quella maggiormente documentata, finora, è quella che vede l'omocisteina come fattore di rischio cardiovascolare.

## 2.3 Omocisteina e malattie cardiovascolari

I meccanismi attraverso i quali l'iperomocisteinemia favorisce lo sviluppo di malattie vascolari non sono stati ancora del tutto delucidati. In compenso numerosi sono stati i tentativi volti a chiarirli. Esperimenti in vitro hanno dimostrato che elevate concentrazioni di omocisteina colpiscono le cellule endoteliali su vari livelli. Possibili meccanismi attraverso i quali l'omocisteina provoca trombosi e aterosclerosi sono: lesioni dirette alle cellule endoteliali, attivazione piastrinica, effetti deleteri sull'espressione della trombomodulina, con aumento dell'adesività ed aggregabilità piastrinica, riduzione dell'attivazione della proteina C ed incremento dell'ossidabilità delle lipoproteine a bassa densità. L'omocisteina in eccesso, infatti, si combina con il colesterolo LDL inducendone l'ossidazione, promuovendo così lo sviluppo di lesioni aterosclerotiche.

Le cellule endoteliali giocano un ruolo cruciale nella regolazione e nel mantenimento della salute vascolare. Inoltre queste cellule sono essenziali nei processi emostatici di adesione cellulare, migrazione, coagulazione e fibrinolisi. Il sistema di regolazione delle cellule endoteliali coinvolge l'enzima ossido-nitrico sintasi che sintetizza ossido-nitrico e citrullina dalla L-arginina. La disfunzione endoteliale osservata in soggetti con iperomocisteinemia potrebbe essere dovuta ad una ridotta biodisponibilità di ossido nitrico prodotto dall'endotelio. Si ipotizza che alle normali concentrazioni di omocisteina, quest'ultima potrebbe reagire con l'ossido nitrico per formare S-nitroso-omocisteina, composto che inibisce l'aggregazione piastrinica, ha azione vasodilatatrice e previene la formazione di specie reattive dell'ossigeno. La continua esposizione dell'endotelio alle alte concentrazioni di omocisteina le rende meno abili a ridurre la tossicità, indebolisce la produzione di ossido nitrico, predisponendo i vasi sanguigni allo spasmo e riducendo, così, l'apporto ematico ai tessuti periferici.

La relazione fra folati e malattie cardiovascolari è stata esplorata soprattutto considerando gli effetti sull'omocisteina. L'acido folico è necessario per la metilazione dell'omocisteina a metionina. Ridotti livelli plasmatici di folati sono stati significativamente associati con elevati livelli plasmatici di omocisteina ed è stato dimostrato che una supplementazione di folati determina una riduzione di questi livelli. Una metanalisi pubblicata recentemente da Durga et al., 2007, ha rivelato che una maggiore assunzione di folati (0,8 mg di acido folico) potrebbe determinare una riduzione del 16% del rischio di cardiopatia ischemica e del 24% di quello di ictus.

Non dimentichiamo la chiara azione pro-trombotica dell'iperomocisteinemia. L'iperomocisteinemia è forse l'unico tra gli stati trombofilici che possa essere trattato con la supplementazione vitaminica. L'iperomocisteinemia è causata da un insieme di più fattori; ma mentre molti di questi possono essere difficilmente modificati (stati patologici; terapie o condizioni acquisite), essi stessi coesistono con fattori modificabili, ad esempio determinati stili di vita: il tabagismo, l'eccessivo consumo di caffè e di bevande alcoliche, un'alimentazione non equilibrata, una ridotta attività fisica possono essere associate ad iperomocisteinemia.

## 2.4 Omocisteina e malattie cardiovascolari in soggetti Uremici

La morbilità e la mortalità per cause cardiovascolari sono da dieci a cento volte più elevate nella popolazione uremica rispetto a quella generale, e questo fenomeno non trova adeguata spiegazione nella prevalenza dei fattori di rischio aterosclerotico convenzionali (fumo, diabete, dislipidemia, ipertensione, età). È stato chiaramente dimostrato il ruolo preminente svolto da agenti aterogeni di recente caratterizzazione come lo stress ossidativo e l'iperomocisteinemia. Il ruolo dell'aumentata concentrazione plasmatica dell'omocisteina sembra correlato ai seguenti motivi:

- è un fattore indipendente di aterosclerosi, aterotrombosi e disfunzione endoteliale (vasculopatia periferica),
- ha una prevalenza elevata nei soggetti uremici (sino al 90%), peraltro scarsamente modificata dalle tecniche dialitiche, sia intraperitoneale sia extracorporea,
- vi sono prove convincenti che almeno per valori di tHcy >30  $\mu\text{mol/L}$ , la prognosi cardiovascolare è peggiore anche in emodialisi.

I fattori che influenzano i livelli plasmatici di Hcy possono essere sia genetici che acquisiti.

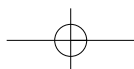
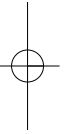
Per quanto concerne i primi sono state identificate diverse mutazioni dei vari geni implicati nel metabolismo dell'Hcy. La mutazione meglio caratterizzata è sicuramente quella relativa al gene della metilen-tetraidrofolato reduttasi (MTHFR). Tra i fattori acquisiti che possono determinare una condizione di iperomocisteinemia, figurano il sesso, l'età, la funzionalità renale e lo stile di vita. Le donne presentano livelli di Hcy più bassi rispetto agli uomini; questo può essere dovuto all'influenza degli ormoni sessuali, al diverso stato vitaminico ed alla minore massa muscolare. La funzionalità renale è un forte determinante dei livelli plasmatici di Hcy. Infatti, le patologie renali croniche sono caratterizzate da concentrazioni plasmatiche di omocisteina elevate che costituiscono un fattore di rischio indipendente per eventi aterotrombotici. Il primo che ha osservato un aumento dei livelli plasmatici di Hcy negli emodializzati è stato Wilken. Successivamente è stato dimostrato che, fin dall'inizio dell'insufficienza renale cronica, può manifestarsi iperomocisteinemia, che aumenta parallelamente alle concentrazioni di creatinina.

In letteratura i fattori presi in considerazione per spiegare l'innalzamento dei valori plasmatici di omocisteina in condizioni di uremia sono:

- malnutrizione e carenza di vitamine del gruppo B,
- accumulo di tossine uremiche,
- riduzione progressiva del metabolismo renale.

Studi recenti hanno evidenziato la presenza nel parenchima renale del *pool* di enzimi coinvolti nel metabolismo dell'omocisteina.

Un ruolo sempre più importante, nell'ambito dei determinanti acquisiti, va assumendo la carenza di fattori nutrizionali come le vitamine B6, B12 ed acido folico. In particolare, bassi livelli ematici di acido folico, causando un aumento dei livelli di omocisteina, risultano inversamente correlati ai livelli della tHcy, ed il fenomeno è amplificato nei pazienti in emodialisi. Inoltre, l'ipero-mocisteinemia può essere causata anche dal fumo, dal consumo cronico di alcool e di caffè e da alcuni farmaci come il metotrexate e gli antiepilettici. Per questi ultimi, il meccanismo di azione è in genere riconducibile ad una interferenza nel metabolismo dei folati.





## CAPITOLO 3

### FOSFORO E STATO DI SALUTE

#### 3.1 Funzione biologica

Il fosforo è un minerale che rappresenta più dell'1% del peso corporeo, è presente in tutte le cellule del corpo, ma in buona parte si trova nei denti e nelle ossa. È presente, infatti, per l'85% nel tessuto osseo e per il 15% nei tessuti molli e nei liquidi extracellulari. È un elemento delle nucleoproteine e partecipa alla formazione di fosfolipidi, alla trasmissione intracellulare di messaggi ormonali, alla regolazione dell'equilibrio acido-base dei fluidi corporei. Inoltre le vitamine del complesso B e molti enzimi necessitano di fosforo per diventare attivi. Fonti alimentari di fosforo sono cereali, verdure, latte, carni bovine, pesce, pollame e legumi.

Gli esseri umani hanno cambiato radicalmente il rifornimento naturale di fosforo tramite l'introduzione di concimi ricchi di fosfato per il terreno e l'uso di detersivi contenenti fosfati. Fosfati vengono inoltre aggiunti ad un certo numero di derrate alimentari, come formaggio, salsicce e prosciutti.

Dai 25 anni in poi la dose raccomandata di fosforo è di 800 mg/die. I neonati sino a 6 mesi hanno un fabbisogno di 300 mg/die, mentre dai 6 mesi a 1 anno la dose raccomandata è di 600 mg/die. I bambini da 1 a 10 anni hanno un fabbisogno di 800 mg/die; dagli 11 ai 24 anni il fabbisogno è pari a 1200 mg/die. Sebbene la carenza di fosforo sia rara in quanto il minerale è presente in una grande varietà di alimenti, un'assunzione insufficiente può determinare difficoltà nella crescita, disturbi ossei come l'osteoporosi, alterazioni della conduzione nervosa, stanchezza mentale e fisica.

#### 3.2 Pesticidi fosforati

I pesticidi sono sostanze tossiche nei confronti di erbe spontanee, batteri, muffe, funghi, insetti, topi e di qualsiasi specie vivente capace di nuocere alle

colture. Ne esistono moltissimi in commercio, di origine naturale o sintetica, ciascuno attivo rispetto a determinati parassiti.

I pesticidi fosforati sono una classe di pesticidi caratterizzati dalla presenza di un gruppo fosforico nella molecola variamente sostituito, (pirofosfati, tiofosfati, alchil fosfati ecc.). Sono composti facilmente degradabili, soprattutto per via idrolitica. Nonostante ciò non si possono escludere, per alcuni di loro, fenomeni di persistenza nell'ambiente: esteri fosforici e loro derivati sono stati ripetutamente identificati anche nelle acque superficiali in Italia e in altri paesi.

La maggioranza dei pesticidi oggi in uso, in particolare gli organofosforici, ha effetti neurotossici sull'uomo. Come i carbammati e i piretroidi, gli organofosfati inibiscono l'azione dell'enzima acetilcolinesterasi (AChE), responsabile dell'inattivazione del neurotrasmettitore acetilcolina sia nel sistema nervoso centrale che periferico. Il risultato dell'inibizione dell'AChE è l'accumulo del neurotrasmettitore nella sinapsi, con conseguente sovrastimolazione della trasmissione colinergica. Gli effetti acuti della intossicazione da organofosforici includono perciò paralisi, debolezza muscolare, convulsioni, fino alla morte; l'esposizione prolungata ad alte concentrazioni può indurre gravi neuropatie.

Gli effetti dannosi alla salute provocati dai pesticidi sono proporzionali alla quantità di sostanza assorbita e ai tempi di esposizione, oltre che alle caratteristiche proprie di ciascuna sostanza. Gli agricoltori sono la categoria più esposta al rischio di intossicazione acuta, per inalazione e contatto diretto per uso di pesticidi come atrazina, mancozeb e triazoli.

Particolare attenzione va prestata ai bambini perché recenti studi stanno mettendo in evidenza una serie di disfunzioni dell'apparato riproduttore (malformazioni del tratto urogenitale maschile, neoplasie al testicolo in età adolescenziale e una diminuzione della qualità del seme), finora collegate a fattori di tipo sociale, economico, culturale e sociologico, attualmente correlate alla presenza di composti in grado di interferire con la normale regolazione ormonale, e quindi con un corretto sviluppo. Queste sostanze sono denominate collettivamente come interferenti endocrini (Endocrine Disrupting Chemicals, EDC).

A risultati analoghi sono giunti i pediatri del Mount Sinai Hospital di New York, che hanno rilevato la maggior vulnerabilità dei bambini ai pesticidi, essendo anche i principali consumatori di concentrati di frutta e verdura, con danni al sistema immunitario in fase di sviluppo, sul sistema nervoso centrale e su quello ormonale, dichiarando di avere chiare prove che l'esposizione del

feto agli antiparassitari organofosforati conduca alla nascita di bambini con minor circonferenza cranica e rischio deficit intellettivo.

L'Università di Berkeley (California), ha avviato una campagna a favore del consumo di cibi biologici e per una minor esposizione dei bambini agli antiparassitari a seguito di studi che hanno rilevato la maggior vulnerabilità dei più piccoli verso questo tipo di sostanze chimiche di sintesi e il chiaro collegamento tra esposizione e tumori. I residui di pesticidi su prodotti ortofrutticoli in Italia sono controllati in base a limiti di legge calcolati sulla loro pericolosità rispetto all'organismo umano adulto. Questo modello quindi non tiene in considerazione fattori molto importanti quali la compresenza di più principi attivi contemporaneamente (multiresiduo), e, per quanto riguarda il valore del singolo residuo, gli effetti calcolati su organismi diversi da quello "tipico" di maschio, adulto di circa 60 chilogrammi.

### 3.3 Linfomi e fosfati

I linfomi maligni sono tumori del sistema linfatico, per lo più ad andamento cronico o subacuto, caratterizzati dalla proliferazione neoplastica di linfociti di tipo B o di tipo T.

Si suddividono in due categorie:

**Linfomi di Hodgkin:** descritti per la prima volta nel 1832 da Thomas Hodgkin, rappresentano circa il 10-15% di tutti i linfomi diagnosticati ogni anno. Per quanto concerne le cause, sebbene siano state avanzate diverse ipotesi sulla possibilità che alcuni fattori ambientali, in particolare di tipo occupazionale, possano contribuire a causare l'insorgere dei linfomi di Hodgkin, al momento non esistono dimostrazioni precise in merito. Una possibile eziologia virale trova sostegno nella osservazione che alcuni casi sono associati all'infezione con il virus Epstein-Barr; ciò nonostante, il ruolo preciso di questo virus nel causare una predisposizione o l'insorgenza della malattia è ancora oggetto di studio.

**Linfomi non- Hodgkin(LnH):** sono tumori del tessuto linfatico, vengono classificati in diversi sottotipi a seconda delle loro caratteristiche biologiche e cliniche e rappresentano attualmente il 6° tumore più frequente nel mondo occidentale, con un'incidenza che è andata continuamente crescendo nel corso degli ultimi trent'anni.

Analizzando le probabili cause, i pareri sono ancora piuttosto discordanti

ed i più sembrano propendere per un'eziologia incerta o sconosciuta, non tanto perchè non sia stato sufficientemente approfondito l'argomento, quanto piuttosto per la difficoltà di assemblare in studi epidemiologici riproducibili la mole di dati ottenuti. L'esposizione a sostanze chimiche contenute in alcuni erbicidi e pesticidi è stata associata ad un rischio più elevato di sviluppare linfomi, anche se l'esistenza di queste associazioni è tuttora oggetto di studio. Nell'ambito degli insulti chimici alla cellula, infatti, i pesticidi sono da tempo correlati a diversi disordini linfoproliferativi, in particolare ai LnH. Nella fattispecie si è notata un'aumentata incidenza della malattia tra i residenti in zone rurali, in particolare nell'ambito di famiglie dedite al lavoro agricolo o in categorie impegnate in attività lavorative dove ingente è la manipolazione di dette sostanze.

Nell'ambito delle sinergie e del processo cancerogenico multifattoriale, l'analisi dell'associazione pesticidi- linfoma è articolata e polimorfa ed ha come cardine l'anamnesi di tutte le possibili esposizioni quali-quantitative ai fattori di rischio, con particolare riguardo anche al tempo ed alle modalità di contatto.

In ogni caso, oggi si è arrivati ad individuare un certo numero di sostanze che si reputano altamente indiziate nell'insorgenza del LnH: esse comprendono gli erbicidi 2,4-D, 2,4,5-T e l'MCPA cosiddetti fenossiacetici, le triazine, gli insetticidi organofosforici, i fungicidi ed i fumiganti. Gli erbicidi fenossiacetici sono da sempre largamente impiegati e negli USA, l'Agenzia per la Protezione Ambientale stima un consumo annuo di circa 40-65 milioni di libbre solo per il 2,4-D, mentre il 2,4,5-T è stato bandito a partire dal 1978. Diversi studi basati sui certificati di morte hanno dimostrato una correlazione inequivocabile tra la patologia linfomatosa e l'uso pro capite di tali sostanze, mentre un'ancora più netta conferma di ciò deriva da indagini caso-controllo effettuate nello stesso ambito. Nel 1981 Hardell in Svezia, ha riscontrato un valore di rischio per l'incidenza del tumore 6 volte maggiore in persone esposte ad erbicidi fenossiacetici o clorofenolici rispetto ai non esposti, segnalando a causa del contatto con queste sostanze un aumento anche per la patologia di Hodgkin (MH).

Che gli erbicidi 2,4-D, 2,4,5-T e l'MCPA siano in qualche modo collegati alla sindrome linfomatosa, è stato ormai più o meno verificato in numerosi lavori sull'argomento. Il problema a questo punto è stabilire se la causa della neoplasia sia da ricercarsi nell'azione genotossica delle molecole sopracitate, o se invece risultino altre sostanze, ivi comprese le diossine contaminanti il prodotto commerciale, il "primum movens" dell'insulto cellulare.

Nonostante studi su animali da esperimento non abbiano sancito verdetti chiari ed inequivocabili sull'effetto cancerogeno di queste sostanze e risultino

ancora controverse le evidenze sul loro ruolo genotossico, è ormai evidente che entrambe le formulazioni 2,4-D e 2,4,5-T possano interrompere la comunicazione cellulare e ci sono anche numerose conferme che il 2,4-D provochi un aumento di scambi cromatidici (SCE) in colture di linfociti umani ed animali con la presenza di chiare aberrazioni cromosomiche.

Per quanto riguarda il ruolo svolto dai nitrati è invece emerso un dato interessante: un recente rapporto di Ward riguardante 156 persone sottoposte a tale anione in concentrazioni giornaliere superiori a 4 mg/litro in presidi di acqua potabile dello Stato del Nebraska, ha evidenziato un significativo aumento di tale malattia in relazione all'assunzione prolungata di questo composto rispetto al gruppo di controllo costituito da 527 individui. Accanto a questo dato è emerso che la dose di nitrati assunta con la dieta non sembra associata al tumore, risultando a rischio decisamente ridotto coloro che ricevono più di 130mg/giorno di vitamina C con alimenti vegetali rispetto a persone deficitarie in tale assunzione; il tutto in pieno accordo anche con altri elaborati sperimentali in cui cellule trattate in vitro con b-carotene e vitamina C, risultano più protette da eventuali insulti provocati da agenti esogeni ma soprattutto endogeni (111).

La preoccupazione che da qualche decennio ha sortito l'imponente utilizzo dei chimici nelle colture agricole per ottimizzare i raccolti, si è tradotta in test biologici sempre più frequenti e completi per monitorare la genotossicità di tali sostanze sull'uomo.

### 3.4 Nefropatie e fosfati

La funzione primaria dei reni consiste nella rimozione dei prodotti di scarto del metabolismo dal sangue e nella regolazione del volume dei fluidi extracellulari. Una perdita della funzione renale dipende quindi da una riduzione della capacità di filtrazione glomerulare.

Le malattie renali si possono suddividere in cinque gruppi:

1. Nefropatie glomerulari: sono infiammazioni dei glomeruli di entrambi i reni e si distinguono in forme acute e croniche; esse sono caratterizzate da proteinuria, ematuria e cilindruria. Ci sono numerose forme di glomerulonefriti con decorso e prognosi differenti; le cause sono sconosciute per cui non vi sono ancora terapie etiologiche.
2. Nefropatie tubulointerstiziali: descrivono un'infiammazione renale

che interessa il tessuto posto tra i glomeruli ed i tubuli. Si possono distinguere infiammazione batteriche e non. Le forme batteriche (pielonefriti acute e croniche), possono svilupparsi per via ascendente, cioè per penetrazione degli agenti infettanti attraverso le vie urinarie, oppure per via ematica, nel qual caso l'agente infettante raggiunge il rene attraverso la circolazione sanguigna.

3. Nefropatie ereditarie: a questo gruppo appartengono le innumerevoli tubulopatie ereditarie tra cui il diabete insipido renale, la sindrome di Alport, e le malattie renali cistiche che possono causare l'insufficienza renale terminale (es. rene policistico).
4. Nefropatie vascolari: sono spesso associate a ipertensione arteriosa e ad alterazioni vascolari.
5. Nefropatie secondarie: in questo gruppo sono comprese quelle nefropatie nelle quali la disfunzione renale insorge secondariamente ad altre patologie.

L'insufficienza renale cronica è molto più frequente negli anziani e anche se le sue cause sono moltissime, alcune malattie croniche di comune osservazione nell'anziano (diabete mellito, ipertensione, ostruzione delle vie urinarie, carcinoma della prostata) possono causare insufficienza renale cronica o predisporre gli anziani alla sua insorgenza.

La progressione di tale patologia può essere rallentata, talvolta, modificando il regime alimentare, con la terapia antiipertensiva e con l'adozione di altre misure protettive per il rene.

Per quanto concerne la dieta, la velocità della riduzione della funzionalità renale, nei pazienti con malattie renali progressive, può essere leggermente rallentata con la restrizione dell'apporto proteico. È stato infatti osservato che una dieta povera di proteine può essere utile per la prevenzione di complicazioni che possono intervenire in pazienti con un'insufficienza renale cronica; questo perchè si riduce l'apporto di fosfato, sodio, potassio. I benefici del rallentamento della progressione della nefropatia, ottenuto con tale provvedimento, devono essere confrontati con la piccola riduzione che si osserva a carico di diversi indici dello stato nutrizionale.

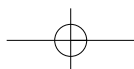
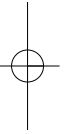
Ovviamente di fronte a questo dato non è possibile non chiedersi se una dieta con un ridotto apporto proteico possa causare uno stato di malnutrizione. Tale quesito nasce anche dall'osservazione di una riduzione spontanea nell'as-

sorbimento di proteine e altri indici dello stato nutrizionale in pazienti con insufficienza renale cronica che seguono una dieta priva di restrizioni, e dall'associazione tra l'ipoalbuminemia e un aumento di mortalità di pazienti in emodialisi. In realtà appare ormai chiaro che una dieta appropriata benchè povera di proteine favorisca un rallentamento nella progressione delle malattie renali, inoltre il meccanismo che causa l'ipoalbuminemia in pazienti in emodialisi sembra essere correlato maggiormente allo stato di infiammazione piuttosto che ad una dieta inadeguata.

Un regime alimentare di questo tipo è quindi sicuro anche perchè sembra che i pazienti siano in grado di attivare meccanismi compensatori per preservare lo stato nutrizionale.

Per quanto concerne la relazione tra malattie renali e fosfati, è stato già detto che l'omeostasi dei fosfati non è un processo statico ma dinamico, che dipende dal costante apporto di fosforo attraverso la dieta. In un individuo sano il livello dei fosfati è mantenuto tra 2.5 e 4.5 mg/dL attraverso l'escrezione renale, ma quando interviene una riduzione della funzione renale si può incorrere nel pericolo della iperfosfatemia. È bene sottolineare che in questi casi l'iperfosfatemia così come l'ipocalcemia e l'iperparatiroidismo diventano problemi seri, perché la ritenzione del fosfato inizia precocemente nell'insufficienza renale cronica; tale ritenzione stimola l'ipersecrezione di ormone paratiroideo che, a sua volta, contribuisce a far tornare la fosfatemia entro i valori normali. Pertanto il controllo dei livelli sierici di fosfato è essenziale per la prevenzione e la terapia dell'iperparatiroidismo secondario. Gli antiacidi a base di carbonato e di acetato di calcio sono i farmaci di elezione per la chelazione del fosfato e spesso è necessaria l'assunzione di maggiori quantità di calcio alimentare.

Quando la fosfatemia diventa elevata in presenza di un aumento dell'ormone paratiroideo, il fosfato precipita insieme con il calcio, producendo calcificazioni diffuse dei tessuti molli e accentuazione dell'ipocalcemia.





## **CAPITOLO 4**

### **INFLUENZA DELL'ALIMENTAZIONE BIOLOGICA SULLA TAC EMATICA, SULLO STATO REDOX ED ENERGETICO CELLULARE, SUI LIVELLI DI MDA EMATICO, IN SOGGETTI UREMICI**

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

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

I sistemi antiossidanti deputati alla detossificazione dai radicali liberi sono essenzialmente di due tipi: enzimatici e non enzimatici. I sistemi enzimatici includono la superossido dismutasi (SOD), la catalasi (CAT) e la glutatione perossidasi (GSH-Px). Fra i sistemi non enzimatici, sostanze antiossidanti, le molecole più importanti sono il glutatione, l'alpha-tocoferolo (vitamina E), l'acido ascorbico (vitamina C) ed il beta-carotene. L'alterazione dell'attività o la carenza di uno di questi, senza variazioni compensatorie degli altri, può rendere le membrane cellulari vulnerabili al danno da radicali liberi. Il danno indotto esita nella perossidazione delle membrane lipidiche, che ne rende instabili

la struttura, la fluidità, la permeabilità ed altera la trasduzione del segnale, determinando alterazioni recettoriali e del DNA mitocondriale e nucleare. Gli acidi grassi polinsaturi, che sono i maggiori costituenti dei fosfolipidi di membrana, sono altamente suscettibili all'insulto dei radicali liberi ed all'autossidazione tanto da formare perossiradicali e composti intermedi. L'esistenza di perossiradicali all'interno delle membrane cellulari determina una instabilità di membrana, alterandone la fluidità e la permeabilità ed interferendo sui meccanismi di trasduzione del segnale. Gli idroperossidi possono ulteriormente decomorsi in altre specie tossiche (aldeidi, compresa la malondialdeide) che possono danneggiare le cellule adiacenti, gli enzimi ed i recettori legati alle membrane, causare cross-linking tra i vari tipi di molecole e determinare rotture di membrana, citotossicità, mutagenicità e cambiamenti enzimatici. Mentre i radicali perossilici non hanno una notevole mobilità, alcuni dei prodotti secondari, come la malondialdeide (MDA), diffondono dal sito di produzione e possono estendere il danno ossidativo. La malondialdeide è in grado infatti di reagire con i gruppi funzionali di diverse biomolecole, come i gruppi amminici e sulfidrilici, alterandone la struttura, e di formare addotti con le basi azotate degli acidi nucleici, con proteine e fosfolipidi, esplicando un potere mutageno/cancerogeno.

Gli studi scientifici degli ultimi anni, partendo dal presupposto che il mantenimento di adeguati livelli ematici di antiossidanti sia alla base della prevenzione degli effetti nocivi dei radicali liberi, hanno messo in evidenza l'importanza della biodisponibilità da fonti naturali.

Partendo quindi dal presupposto che il cibo è da considerarsi il primo farmaco solo nel caso che sia in grado di apportare tutti i macronutrienti ed i micronutrienti dei quali l'organismo ha bisogno per gli scopi essenziali alla vita, è oggi sempre più frequente il riscontro di carenze di tali elementi dovute a una varietà di cause, sia legate ad una alimentazione non equilibrata, sia agli stimoli nocivi da parte dell'ambiente ed ai processi industriali che manipolando gli alimenti possono ridurre la presenza degli elementi essenziali.

Il mantenimento dell'omeostasi degli antiossidanti ematici è fondamentale per il ruolo che queste sostanze chemioprotettive svolgono nei meccanismi cellulari deputati a controllare lo stress ossidativi.

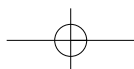
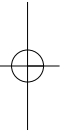
La nostra attenzione sulla biodisponibilità di antiossidanti da fonti naturali ci ha portato ad intraprendere gli studi in oggetto su soggetti volontari, con stile e abitudini di vita omogenei ed in un contesto alimentare equilibrato, con alimenti di origine biologica, sfruttando in tal modo le potenzialità intrinseche

dell'alimento "bio", confrontandole con quelle dell'alimento di origine convenzionale.

L'importanza di tale studio risiede dunque sia nel valutare gli effetti nutrizionali su una popolazione sana, sia nella possibilità, utilizzando tali informazioni, di estendere le indagini a pazienti affetti da patologie su base infiammatoria o che riconoscono nell'infiammazione cronica una possibile componente eziopatogenetica, entrando quindi nell'ottica della nutrizione.

Ogni antiossidante è in grado di espletare la sua attività secondo meccanismi diversi e con una diversa efficienza a seconda della sua struttura chimica e dell'ambiente in cui si trova. Per questo motivo una valutazione integrata del potenziale antiossidante può essere persino più importante della concentrazione dei singoli antiossidanti. Da qui l'esigenza di valutare la Capacità Antiossidante Totale di un alimento (TAC), cioè la capacità di un alimento di preservare un substrato ossidabile, inattivare una specie radicalica o ridurre un ossidante nell'unità di tempo.

Abbiamo studiato l'efficacia dell'alimentazione biologica, su soggetti sani e su soggetti nefropatici tramite la determinazione della Total Antioxidant Capacity (TAC) degli alimenti e della TAC ematica. In aggiunta a tali determinazioni abbiamo svolto indagini di biochimica miranti alla valutazione dello stato redox ed energetico e della malondialdeide (MDA) quale indice della lipoperossidazione.

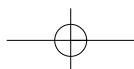
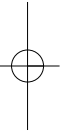


## CAPITOLO 5

### RAZIONALE DELLO STUDIO

Lo studio ha avuto per oggetto il confronto fra alimenti prodotti con metodi di agricoltura biologica e tradizionale, ed il loro effetto sullo stato di salute di soggetti sani e soggetti affetti da insufficienza renale cronica, in termini di modificazioni della composizione corporea, del metabolismo basale e dei parametri biochimici ed ematochimici. Ulteriore obiettivo è stato quello di valutare la capacità totale antiossidante plasmatica ed i livelli di citochine proinfiammatorie circolanti di tutti i soggetti arruolati nello studio.

Lo studio è stato eseguito su 2 gruppi: gruppo A, costituito da 9 soggetti, clinicamente sani, non fumatori, non sottoposti ad alcuna terapia farmacologica; gruppo B, costituito da 9 soggetti affetti da insufficienza renale cronica. Tutti i partecipanti erano di età compresa tra i 28 e 67 anni, con le stesse abitudini alimentari e stile di vita (l'omogeneità di abitudini alimentari e di stile di vita sono state garantite dal fatto che i soggetti di studio sono stati arruolati all'interno di una stessa comunità, provvista di un servizio mensa); I soggetti selezionati hanno consumato per 7 giorni prodotti provenienti da agricoltura convenzionale, e per i successivi 14 giorni prodotti provenienti da agricoltura biologica. I soggetti inclusi nello studio hanno sottoscritto il consenso informato per tutte le fasi di studio. Le modalità di svolgimento dello studio sono le stesse del progetto SABIO, pubblicato in precedenza (Working Paper n. 2 Progetto SABIO, "Nutrire per Prevenire. Quali nuovi indicatori di rischio Nutrizionale?", A. De Lorenzo e L. Di Renzo, 2007).



## CAPITOLO 6

### MATERIALI E METODI

Lo stato nutrizionale dei soggetti presi in esame è stato valutato mediante tecniche di misurazione della composizione corporea affiancate da indagini laboratoristiche, utili a fini diagnostici, terapeutici, di monitoraggio ma anche e soprattutto prognostici e di screening.

Lo studio è stato suddiviso in quattro tempi:

- T0:
  1. Visita medica comprendente anamnesi patologica, familiare, individuale, esame obiettivo, compilazione della cartella clinica e rilevamento delle abitudini alimentari
  2. Misurazione della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca
  3. Antropometria (peso, statura e circonferenze)
  4. Composizione corporea (BIA, DXA)
  5. Analisi biochimico-cliniche: emocromo completo con formula, glicemia, azotemia, creatininemia, colesterolo tot., HDL, LDL, trigliceridemia, PCR, sodiemia, calcemia, potassiemia, fosforemia, omocisteinemia, es. urine delle 24h
  6. Analisi immunologiche: determinazione delle citochine infiammatorie plasmatiche
  7. Analisi genetiche
  8. Determinazione della capacità antiossidante ematica (metodica ORAC)
  9. Prescrizione di un regime alimentare nutrizionalmente adeguato, utilizzando alimenti prodotti con tecniche di agricoltura convenzionale, per un periodo di 7 giorni. La razione alimentare del campione è suddivisa in 5 pasti ed è la stessa per tutti i soggetti arruolati.

- T1 (dopo 7 giorni di alimentazione convenzionale):
  1. Analisi biochimico-cliniche: emocromo completo con formula, glicemia, azotemia, creatininemia, colesterolo tot., HDL, LDL, trigliceridemia, PCR, sodiemia, calcemia, potassiemia, fosforemia, omocisteinemia, es. urine delle 24h
  2. Analisi immunologiche: determinazione delle citochine infiammatorie plasmatiche
  3. Determinazione della capacità antiossidante ematica (metodica ORAC)
  4. Prescrizione di un regime alimentare nutrizionalmente adeguato, utilizzando alimenti prodotti con tecniche di agricoltura biologica, per un periodo di 14 giorni, con le stesse ricette utilizzate nella settimana di “convenzionale”. La razione alimentare del campione è suddivisa in 5 pasti ed è la stessa per tutti i soggetti arruolati.
  
- T2 (dopo 7 giorni di alimentazione biologica):
  1. Analisi biochimico-cliniche: emocromo completo con formula, glicemia, azotemia, creatininemia, colesterolo tot., HDL, LDL, trigliceridemia, PCR, sodiemia, calcemia, potassiemia, fosforemia, omocisteinemia, es. urine delle 24h
  2. Analisi immunologiche: determinazione delle citochine infiammatorie plasmatiche
  3. Determinazione della capacità antiossidante ematica (metodica ORAC)
  4. Composizione corporea (DXA, BIA)
  
- T3 (dopo 14 giorni di alimentazione biologica):
  1. Analisi biochimico-cliniche: emocromo completo con formula, glicemia, azotemia, creatininemia, colesterolo tot., HDL, LDL, trigliceridemia, PCR, sodiemia, calcemia, potassiemia, fosforemia, omocisteinemia, es. urine delle 24h
  2. Analisi immunologiche: determinazione delle citochine infiammatorie plasmatiche
  3. Determinazione della capacità antiossidante ematica (metodica ORAC)



## 6.1 Valutazione clinica

1. Anamnesi. L'anamnesi clinico-nutrizionale è volta a raccogliere la storia clinica del paziente, dall'infanzia ad oggi, con un occhio di riguardo all'eventuale presenza di familiarità per determinate patologie (diabete, patologie cardiovascolari, dislipidemie, obesità, ipertensione arteriosa, neoplasie), alle abitudini voluttuarie (tabagismo, abuso di alcolici) ed allo stile di vita (sedentario e non).
2. Esame obiettivo. Un esame obiettivo attento può identificare il grado di malnutrizione. A tale scopo, la prima valutazione clinica da effettuare si basa essenzialmente sulla misurazione dei parametri antropometrici, quali: il peso, l'altezza, l'indice di massa corporea (BMI, ottenuto dal rapporto fra il peso corporeo in chilogrammi ed il quadrato della statura in metri ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), la circonferenza vita, la circonferenza fianchi ed il loro rapporto (WHR).
3. Esami di laboratorio. L'iter diagnostico viene completato con l'esecuzione di specifiche determinazioni biochimiche.

## 6.2 Dispendio energetico

Nel nostro studio è stata utilizzata la *calorimetria indiretta*, che nell'analizzare il metabolismo basale dei soggetti, determina anche il quoziente respiratorio (QR), cioè il rapporto tra anidride carbonica prodotta e ossigeno consumato durante la raccolta dei gas. Negli individui sani il QR è compreso tra 0,8 e 0,9. Un QR inferiore a 0,7 è compatibile con una chetogenesi attivata dal metabolismo degli acidi grassi endogeni con scarsa produzione di anidride carbonica. Un QR superiore ad 1 indica una netta litogenesi o la conversione dei carboidrati in lipidi, condizione che si verifica nell'ipernutrizione.

La calorimetria indiretta (CI) permette di valutare il dispendio energetico calcolando, tramite la misura del *consumo d'ossigeno* ( $\text{VO}_2$ , *ml/min*) e della *produzione di anidride carbonica* ( $\text{VCO}_2$ , *ml/min*), il calore (o energia) prodotto dall'organismo nell'unità di tempo, secondo l'equazione di Weir (1):

$$\text{REE} = 3,9 \text{VO}_2 + 1,1 \text{VCO}_2 \quad (1)$$

### 6.3 Analisi bioimpedenziometrica

L'impedenziometria (BIA, *Bioelectrical Impedance Analysis*) (Schoeller D. A.) è stata messa a punto allo scopo di misurare numerosi aspetti della composizione corporea, incluso l'acqua totale corporea (TBW, *Total Body Water*), l'acqua intracellulare (ICW, *Intra Cellular Water*), l'acqua extracellulare (ECW, *Extra Cellular Water*), la massa magra (FFM, *Fat Free Mass*), la massa cellulare metabolicamente attiva (BCM, *Body Cell Mass*) e il grasso corporeo (FM, *Fat Mass*). Più correttamente, l'impedenziometria non è in grado di *misurare* direttamente nessuno dei parametri citati. Per essere più esatti, questa tecnica misura la resistenza del corpo al passaggio di una corrente elettrica. La resistenza, o il suo opposto, la conduttanza, è una delle proprietà colligative di una soluzione. Dipende dalla concentrazione salina della soluzione, dalla forza ionica dei sali, dalla mobilità degli ioni, e dalla geometria del fluido, per citare solo i principali fattori che influenzano la conduttività. L'impedenziometria può fornire una misura diretta del volume della soluzione. Più specificamente, se una soluzione acquosa di note proprietà ioniche è posta in un cilindro di dimensioni uniformi, allora la resistenza  $R$  della soluzione potrebbe essere data da (1):

$$R = \rho L/A \quad (1)$$

dove  $\rho$  è la resistività specifica per unità di lunghezza e per area della sezione,  $L$  è la lunghezza del cilindro, ed  $A$  è l'area della sezione. Riarrangiando questa equazione si ha quanto segue (2):

$$A = \rho L/R \quad (2)$$

Moltiplicando tutti e due i membri di questa equazione per la lunghezza del cilindro si ottiene la seguente formula (3):

$$V = \rho L^2/R \quad (3)$$

dove  $V$  è il volume. La misurazione della resistenza può, quindi, essere correlata direttamente al volume della soluzione. Questa proprietà ha permesso l'utilizzazione della metodica BIA (*impedenza bioelettrica*) per la valutazione dei distretti corporei, sfruttando le caratteristiche elettriche dei tessuti al passaggio di corrente alternata (la corrente non può essere erogata in modo continuo per evitare fenomeni di elettrolisi). Si considera il tessuto biologico come costituito da due distretti fluidi: extracellulari (ECW, *Extra Cellular Water*) ed intracellulari (ICW, *Intra Cellular Water*). Il comportamento elettrico dei tessuti corporei è equiparabile a quello di un circuito elettrico costituito da una resistenza ed un condensatore in parallelo, in cui il comparto intracellulare (ICW)

funge da condensatore e quello extracellulare (ECW) simula la resistenza. La corrente ( $I$ ) attraverserà il tratto capacitivo ICW ( $I_{ICF}$ ) e, preferenzialmente, il tratto resistivo ECW ( $I_{ECF}$ ). Il tratto resistivo esplicherà il suo effetto oppositivo in modo continuo e costante nel tempo e proporzionalmente alla quantità di elettroliti presenti nel comparto ECW. Il tratto ICW, ossia il condensatore, permetterà un buon passaggio di corrente da una certa frequenza di corrente in poi ( $>5$  Khertz), determinando uno sfasamento del flusso di corrente in uscita. Tale effetto si chiama reattanza capacitiva ( $X_c$ ). L'impedenza ( $Z$ ), rappresentata in forma vettoriale, esprime l'impedimento totale al passaggio di corrente essendo la somma degli effetti del tratto resistivo  $A$ . e capacitivo ( $X_c$ ).

Il corpo umano viene, quindi, assimilato ad un cilindro conduttore in cui  $R = \rho H/S$  (dove  $R$  è la resistenza,  $H$  è la statura del soggetto sottoposto alla misurazione, ed  $S$  è la sezione traversa, che per convenzione si assume costante).

Da qui:

$$V = \rho H^2/R \quad (4)$$

(equazione che relaziona il volume del cilindro con il valore della resistenza). Tale equazione risulta alla base delle formule per la determinazione della TBW o della FFM. In particolare, la seguente equazione (5):

$$TBW = a (H^2/R) + b \quad (5)$$

(equazione di tipo lineare, dove i coefficienti  $a$  e  $b$  sono calcolati su popolazioni specifiche) pone in relazione il volume di acqua totale corporea (TBW) e l'indice BIA ( $H^2/R$ ). Quindi, dopo la misura dell'impedenza corporea ( $Z$ ) con l'apposito strumento (impedenziometro), essa viene inserita in apposite formule per la determinazione della TBW o della FFM.

#### 6.4 Densitometria a doppio raggio di assorbimento

Assieme alla bioimpedenziometria, nella valutazione dei distretti corporei, è stata utilizzata la Dual energy X-ray Absorptiometry (DXA). Questa è una tecnica relativamente nuova, inizialmente utilizzata per la determinazione della densità minerale ossea e successivamente impiegata anche nell'analisi dei tessuti molli, massa lipidica (FM) e massa alipidica (FFM). L'attenuazione che un tessuto biologico oppone ad un fascio incidente di radiazioni è funzione dello spessore, della densità e della composizione chimica del tessuto stesso. La metodica DXA per lo studio della massa lipidica ed in generale dei tessuti molli si basa sul principio che tali tessuti determinano una attenuazione costante alla emissione

di due definite radiazioni energetiche di 40 kV e 70 kV (raggi X). Il fenomeno dell'attenuazione si basa sull'effetto fotoelettrico e sull'effetto *Compton*.

I valori misurati con metodica DXA per la massa ossea, massa alipidica e massa lipidica sono stati comparati con misure effettuate con altre tecniche. In particolare, il confronto con misure derivate dall'analisi dell'attivazione neutronica (NAA) ha dato una buona correlazione per il calcio totale corporeo (2-3% di variabilità).

L'errore di tale metodica è stato valutato intorno al 3-4% per la massa lipidica corporea e dipende prevalentemente da stati di alterata idratazione e dallo spessore antero-posteriore corporeo (quest'ultimo se maggiore di 20 cm comporta un errore superiore a quello definito). La riproducibilità della misura dipende invece dalla risoluzione adottata (numero di punti scansionati per  $cm^2$  di area corporea); tale riproducibilità risulterebbe ottimale per misurazioni che consentono l'analisi di 5-10 punti per  $cm^2$ .

La tecnica DXA risulta un metodo preciso ed accurato per la misura della massa lipidica corporea totale e distrettuale. La misura della massa lipidica distrettuale risulta più accurata e precisa in soggetti adulti con peso corporeo inferiore a 100 kg. La misura della massa lipidica corporea a livello intraddominale è stata studiata con la metodica tomografica (TC, metodica di riferimento) e confrontata con le determinazioni ottenute mediante antropometria (plicometria) e DXA; le misure della massa lipidica addominale ottenute con metodica DXA risultavano valide ( $r = 0,9$ , s.e.e. = 7%) ed il valore predittivo veniva migliorato dalla combinazione con le misure antropometriche.

Quindi la bassa invasività (circa 0,06 *mrem*) rispetto alle metodiche di immagine (es: Tomografia Computerizzata) e la possibilità di ottenere misure segmentali corporee (tessuto adiposo intraddominale), consigliano l'utilizzo di tale tecnica a scopo prognostico e diagnostico per il paziente obeso.

## 6.5 Rilevamento delle abitudini alimentari

Per il rilevamento delle abitudini alimentari si può utilizzare la tecnica della storia dietetica, che permette la registrazione per ricordo degli alimenti assunti in precedenza mediante valutazione quantitativa. L'intervista viene eseguita da personale esperto ed i dati vengono registrati su un apposito formulario ove si indicano il consumo giornaliero, settimanale, o mensile degli alimenti.

Il soggetto in esame riferisce sulla sua dieta abituale per un periodo di tempo che va da 6 mesi ad 1 anno. La valutazione quantitativa viene eseguita con l'ausilio di un atlante fotografico dove sono riportati fedelmente i più comuni alimenti e ricette consumati in Italia, presentati in 3 differenti porzioni, indicate con A, B e C. L'individuo intervistato, quindi, viene invitato ad indicare se le porzioni degli alimenti e delle ricette consumate corrispondono alle 3 porzioni (A, B e C) riportate nell'atlante, o a porzioni intermedie, inferiori o superiori.

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

## 6.6 Indici Nutrizionali

Vengono di seguito riportati gli indici di qualità nutrizionale, calcolati per caratterizzare e sintetizzare i principi salutistici e nutrizionali di ciascuna dieta.

### 6.6.1 L'Indice di Qualità Nutrizionale (INQ)

Tale indice rappresenta il rapporto tra la percentuale di copertura del fabbisogno di nutrienti e la percentuale di copertura del fabbisogno calorico per la porzione di alimento considerato. L'INQ è una misura delle qualità nutrizionali dei singoli macronutrienti o dei micronutrienti contenuti nella pietanza rispetto ai valori standardizzati e di riferimento di una dieta bilanciata con importo calorico medio di 2400 kcalorie (Larn). Esisteranno quindi tanti Indici di Qualità Nutrizionale quanti sono le classi di macro e micronutrienti (INQ protidi, INQ glucidi, ecc.) e ciò per ciascun alimento, per ciascuna pietanza o per l'intera dieta. Nella tabella 6.1 sono indicati i valori corrispondenti dell'INQ giornalieri per i macronutrienti assunti dai partecipanti allo studio. I valori maggiori di 1 indicano che l'alimento preso in esame è una buona fonte del nutriente consi-

derato, mentre valori inferiori ad 1 indicano che l'alimento non contiene una quantità adeguata del nutriente dato. Si potrà quindi integrare la quota mancante di nutriente mediante l'assunzione di altri prodotti alimentari ricchi del nutriente in questione, in modo da ottenere una cosiddetta "razione bilanciata".

*Tabella 6.1 - Indici di qualità nutrizionale (INQ) giornalieri*

	Indici di qualità Nutrizionali (INQ)					
	Giorno 1	Giorno 2	Giorno 3	Giorno 4	Giorno 5	Giorno 6
Glucidi	0,96	0,93	1,01	0,93	0,93	0,95
Lipidi	0,97	1,04	0,93	1	1,08	1,04
Protidi	1,3	1,27	1,14	1,33	1,16	1,16

#### 6.6.2 Il Rapporto tra Protidi (V/A)

Come già detto, una Dieta Mediterranea prevede una percentuale di protidi totali che può variare dal 10 al 15%, mentre l'apporto dei protidi vegetali deve essere doppio rispetto all'apporto dei protidi di origine animale. Il rapporto V/A dovrà attestarsi intorno a 2. Oltre ai protidi è possibile caratterizzare anche la classe dei glucidi presenti in una particolare dieta e verificare se essa è composta da circa il 60% di tale specie. Gli alimenti più ricchi in glucidi o carboidrati sono il pane, la pasta, il riso e i dolci in generale. È possibile distinguere tra carboidrati semplici e carboidrati complessi ed il loro indice nutrizionale è rappresentato dall'indice glicemico (IG). Questo indice non è altro che il rapporto espresso in percentuale tra l'incremento della risposta glicemica post-prandiale di un certo alimento e quella che si ha da un alimento standard (pane bianco) che è consumato in quantità isoglucidica e che viene preso come riferimento. In pratica ciò che più interessa è la capacità che ha un alimento di innalzare il livello di glucosio nel sangue in un certo periodo di tempo, e sono già disponibili tabelle dove alcuni alimenti vengono classificati per range di IG, ossia per velocità di assorbimento.

#### 6.6.3 I rapporti tra acidi grassi

I grassi alimentari rappresentano un utile magazzino energetico e la Dieta Mediterranea ne prescrive una percentuale del 30%. Tuttavia se assunti in grandi

quantità e in maniera continuata i grassi possono essere causa di malattie cronicodegenerative. La qualità nutrizionale dei lipidi contenuti nei vari cibi è strettamente connessa alla loro composizione in acidi grassi a diverso grado d'insaturazione. È ormai risaputo che esiste una forte correlazione tra il numero dei doppi legami negli acidi grassi e l'aumento del rischio cardio-vascolare. Su questa base, i nutrizionisti hanno elaborato due semplici criteri di valutazione:

- IL RAPPORTO TRA GRASSI MONOINSATURI/SATURI (M/S) - Una dieta mediterranea ha generalmente un rapporto tra la quantità in grammi di acidi monoinsaturi rispetto a quelli saturi che dovrebbe essere uguale o maggiore di 2 al fine di presentare acidi meno condizionanti la colesterolemia.

- IL RAPPORTO TRA GRASSI POLINSATURI/SATURI (P/S) - Analogamente al rapporto precedente, una dieta mediterranea ha generalmente un rapporto tra la quantità in grammi di acidi polinsaturi rispetto a quelli saturi, che potrebbe variare da 0.4 a 1. Proprio perché gli acidi grassi hanno effetti differenti sul nostro organismo, i nutrizionisti trovano utile differenziare più accuratamente la tipologia degli acidi grassi. Gli acidi a lunga catena, come ad esempio l'acido stearico e l'acido palmitico hanno un effetto trombogenico maggiore degli acidi a catena corta risultando ulteriore causa di rischio cardiovascolare. Viceversa, acidi corti, come l'acido oleico, si dimostrano meno trombogenici e pertanto vengono preferiti ai grassi a catena lunga.

Al fine, quindi, di controllare tali aspetti, è stato introdotto, dapprima:

- L'INDICE DI ATEROGENICITÀ (IA) - L'IA prende in considerazione i grassi monoinsaturi e distingue anche tra differenti tipi di acidi grassi nel calcolare il potenziale aterogenico della dieta. E di seguito:

- L'INDICE DI TROMBOGENICITÀ (IT) - L'IT (1) attribuisce differente peso ai diversi acidi grassi  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 in accordo con il loro potere antitrombogenico e include anche acidi grassi monoinsaturi. L'ipercolesterolemia, quale possibile causa di malattie cronicodegenerative, può essere controllata mediante due parametri: il Colesterolo Esogeno, ossia il colesterolo introdotto con i vari alimenti; il Colesterolo Endogeno, ossia il colesterolo prodotto naturalmente dall'organismo e di norma visto nella sua forma ossidata. Ovviamente, il colesterolo totale all'interno dell'organismo si somma e può portarsi a livelli di rischio. Pertanto, sia nelle condizioni fisiologiche, tanto più nelle condizioni patologiche, dovrà essere tenuto sotto controllo l'apporto di colesterolo proveniente dalla dieta. A tal fine alcuni ricercatori americani individuano nell'Indice colesterolo/grassi saturi (ICS) un indice aderente ai valori metabolici.

• L'INDICE COLESTEROLO/GRASSI SATURI (ICS) - L'ICS viene usato per comparare differenti cibi e ricette e per valutare l'introito giornaliero di grassi. Esso esprime la qualità lipidica degli alimenti o dei menù e fornisce nel contempo un valido indicatore per l'individuazione del rischio aterogenico. Il valore dell'ICS viene espresso in scala da 1 a 1000. Il potenziale aterogenico del cibo si riferisce al colesterolo e ai grassi saturi in esso contenuti; minore è questo indice, più basse sono le probabilità di incidenza di malattie cardiovascolari.

• L'INDICE DI ADEGUATEZZA MEDITERRANEA (IAM) - La Dieta Mediterranea, definita come "il modello alimentare tipico di molte regioni del Mediterraneo nei primi anni '60", è oggi universalmente riconosciuta per il suo valore salutistico. La dieta seguita dagli abitanti di Nicotera (città inclusa nel Seven Countries Study) nel 1960 era considerata la dieta italiana di riferimento. Con l'evolversi della società italiana da un modello prettamente agricolo ad uno industrializzato, notevoli sono stati i cambiamenti nello stile di vita e nelle abitudini alimentari. Al fine di valutare in maniera obiettiva i cambiamenti intervenuti nella dieta è stato elaborato ad opera di Alberti-Fidanza et al., 2004, (3) un indice di adeguatezza alla Dieta Mediterranea (IAM). Questo indice può essere facilmente ottenuto dividendo la somma delle percentuali di energia totale proveniente dai gruppi alimentari appartenenti alla Dieta Mediterranea (pane, cereali, legumi, patate, vegetali, frutta, pesce, vino rosso, olio d'oliva) per la somma delle percentuali di energia totale fornita dai gruppi alimentari non appartenenti alla Dieta Mediterranea (latte, formaggio, carne, uova, grassi animali e margarina, bevande dolci, biscotti/torte, zucchero). Va specificato che questo indice non può riferirsi ad una singola pietanza ma deve essere calcolato in relazione all'intero regime alimentare. Può essere pertanto definito da chi somministra la dieta.

## 6.7 Analisi ORAC degli alimenti provenienti da agricoltura convenzionale e biologica

### 6.7.1 Dosaggio ORAC

La metodica è stata messa a punto allo scopo di valutare la protezione che le sostanze antiossidanti forniscono all'organismo nei confronti di idrossidi e perossidi reattivi. Il metodo è stato studiato per testare campioni di siero umani ed animali, prodotti vegetali, cibi, ingredienti di cibi, prodotti farmaceutici e cibi per animali domestici. Al momento, è ritenuto l'unica metodica in grado di mi-



surare la capacità inibente che può esercitare un antiossidante sui radicali liberi. Il dosaggio ORAC viene utilizzato per determinare la capacità antiossidante totale. Si tratta di un metodo molto sensibile che utilizza la beta-ficoeritrina (beta-PE) come proteina indicatrice (*marker* di fluorescenza) e il 2,2'-azobis (2-amindinopropano) dicloridrato (AAPH), azocomposto solubile in acqua che si decompone termicamente, portando alla formazione, a velocità costante, di radicali perossilici acquosi. La fluorescenza della beta-ficoeritrina è altamente sensibile alla conformazione e all'integrità chimica della proteina stessa. Nelle condizioni appropriate la perdita della fluorescenza in presenza di radicali perossilici è un indice del danno ossidativo generato dalle specie reattive. In un dato campione l'inibizione della degradazione della beta-ficoeritrina (che si riflette nella conservazione della sua fluorescenza), grazie all'azione protettiva degli antiossidanti presenti, è una misura della capacità antiossidante del campione nei confronti delle specie reattive. Finché gli antiossidanti sono in grado di catturare i radicali, essi proteggono il *marker* di fluorescenza dal decadimento; terminato l'effetto degli antiossidanti, i radicali reagiscono con la beta-ficoeritrina che perde fluorescenza. Il tempo di decadimento della fluorescenza è proporzionale alla quantità ed alla attività degli antiossidanti presenti nel campione. L'analisi può determinare la capacità antiossidante totale quantitativamente, così come determinare qualitativamente nel campione in esame la quantità di antiossidanti ad azione rapida in rapporto a quelli ad azione lenta. Il dosaggio ORAC misura, dunque, il decremento tempo-dipendente nella fluorescenza della proteina *marker* beta-ficoeritrina, come conseguenza del danneggiamento operato dal radicale incentrato sull'ossigeno. Su una base molare, la beta-ficoeritrina reagisce con i radicali dell'ossigeno oltre 100 volte più lentamente della maggior parte degli antiossidanti biologici come tioli, acido urico, bilirubina e ascorbato. Perciò, tutti gli altri antiossidanti attivi sono completamente ossidati prima che lo sia la beta-ficoeritrina, facilitando così la misura della capacità antiossidante del campione in esame. In ogni caso, la beta-ficoeritrina è oltre 60 volte più reattiva di altre proteine non antiossidanti, che dunque non interferiscono nell'analisi. I risultati del saggio sono quantificati permettendo alla reazione di giungere a completamento e integrando successivamente l'area al di sotto della curva cinetica relativamente ad una reazione in bianco (*blank reaction*) non contenente antiossidanti aggiunti. L'area al di sotto della curva (AUC) è proporzionale alla concentrazione di tutti gli antiossidanti presenti nel campione. Questa metodica consente di combinare due parametri, il *tempo di inibizione* e la *quota percentuale di inibizione* delle specie reattive dovuta agli antiossidanti totali calcolati come quantità singola: per questo il metodo è migliore di quelli analoghi che uti-

lizzano l'inibizione percentuale a un tempo fisso o il tempo di inibizione ad una quota percentuale fissa di inibizione.

I risultati finali sono calcolati usando la differenza delle AUC di decadimento della beta-ficoeritrina (fluorescenza relativa vs tempo) tra il campione in esame ed il bianco (Equazione 1).

### Equazione 1

$$20k [(S \text{ campione} - S \text{ bianco}) / (S \text{ Trolox} - S \text{ bianco})]$$

k = fattore di diluizione

S = area sotto la curva di decadimento della fluorescenza

Ciascuna reazione è calibrata usando uno *standard Trolox*<sup>®</sup> (acido 6-idrossi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carbossilico) un analogo idrosolubile della vitamina E. I risultati del saggio sono riportati sulla base dell'equivalenza:

$$1 \text{ unità ORAC} = 1 \mu\text{M di equivalenti Trolox}^{\text{®}}$$

All'unità di misura del potere antiossidante è stato attribuito il nome di *unità ORAC*.

Oggi i ricercatori stanno cercando di individuare quante unità ORAC siano necessarie per il benessere dell'organismo.

È stato stimato che ogni persona per contrastare i processi degenerativi alla base dell'invecchiamento delle cellule, dovrebbe introdurre una quantità di vegetali pari a 5000 unità ORAC al giorno per godere pienamente dei benefici degli antiossidanti contenuti.

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

I campioni di sangue ottenuti dai soggetti in studio sono stati prelevati in tubi contenenti EDTA, e mantenuti in ghiaccio per tutto l'operazione di preparazione dell'estratto da analizzare.

Il sangue intero è stato sottoposto a deproteinizzazione usando HClO<sub>4</sub> 1,2 M (1:2 v/v), successivamente neutralizzato con K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e analizzato usando il metodo HPLC per la determinazione diretta della MDA, dei nucleotidi, dei coenzimi nicotinici, delle basi azotate, e dell'acido ascorbico.

Le concentrazioni di MDA sono determinate su 100 $\mu$ L di estratto perclorico ematico attraverso la metodica ion-pairing HPLC, utilizzando un sistema HPLC con colonna KROMASIL 250 x 4,6 mm, diametro particelle 5 $\mu$ m e tetrabutylammonio idrossido come accoppiante ionico.

La separazione dei diversi metaboliti è ottenuta attraverso l'eluizione a gradiente di due tamponi di composizione diversa: **il tampone A**, 10 mM idrossido di tetrabutylammonio, 10 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,25% di metanolo, pH 7; **il tampone B**, 2,8 mM idrossido di tetrabutylammonio, 100mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 30% metanolo, pH 5,5.

Il gradiente è così composto: 10 min 100% tampone A; 3 min 90% tampone A; 10 min 70% tampone A; 12 min 55% tampone A; 15 min 45% tampone A; 10 min 25% tampone A; 5 min 0% tampone A. Il flusso di eluizione è 1,2 mL/min e la temperatura della colonna è mantenuta costante a 23 °C.

L'apparato HPLC consiste di una Pompa Surveyor LC (Thermo Finnigan Italia, Rodano, Milano, Italia) connessa con un sistema rilevatore Surveyor PDA Detector (ThermoFinnigan Italia) a 200-800 nm. L'acquisizione e l'analisi dei dati è effettuata usando il programma ChromQuest (thermoQuest Italy). La comparazione delle aree, del tempo di ritenzione e dello spettro di assorbimento dei picchi nel cromatogramma, con quelli degli standards, permette di identificare i differenti metabolici e di calcolarne la concentrazione.

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

La carica energetica potenziale, ECP (Energy Charge Potential) è calcolata secondo la relazione (1):

$$ECP = \frac{ATP + 0.5 ADP}{\Sigma NT} \quad (1)$$

dove  $\Sigma NT = (ATP + ADP + AMP)$

## 6.9 Elaborazione statistica

Le analisi dei valori dei parametri derivanti dalle diete sono stati mediati insieme, attribuendo importanza al tipo di alimentazione più che al singolo componente della dieta. Per la misura della variabilità dei parametri è stata utilizzata la deviazione standard ed i valori sono stati espressi come media  $\pm$  deviazione

standard. Per il confronto tra i gruppi è stato utilizzato il test di significatività di Student (t test). I parametri relativi alla composizione corporea sono stati comparati fra i gruppi attraverso il metodo One Way ANOVA (ANalysis Of VAriance), test parametrico per la diseguaglianza delle medie delle popolazioni. Le differenze sono state considerate significative se  $p \leq 0,05$ . L'elaborazione statistica è stata effettuata utilizzando il programma SPSS (SPSS Inc.; Chicago, IL, USA).

## CAPITOLO 7

### RISULTATI E CONCLUSIONI

#### 7.1 Variabili antropometriche, densitometriche ed analisi biochimico-cliniche

I parametri antropometrici e le variabili impedenziometriche misurati al tempo T1 e T3 nei soggetti sani e nei pazienti affetti da insufficienza renale cronica (IRC) sono riassunti rispettivamente nelle tabelle 7.1 e 7.2.

*Tabella 7.1 - Variabili antropometriche e densitometriche al tempo T1 e T3 in soggetti sani*

	T1		T3		P*
	Media	SD	Media	SD	
BMI	31,69	± 6,62	31,83	± 7,01	NS
Weight (kg)	90,66	± 17,50	91,05	± 18,72	NS
Fat (%)	35,5	± 2,33	25,07	± 2,47	0,001
Fat (kg)	27,42	± 3,79	21,31	± 3,91	0,001
Lean (%)	64,5	± 2,33	74,93	± 2,47	0,001
Lean (kg)	55,27	± 2,41	63,69	± 2,09	0,004

\*  $P < 0,05$  Test Non Parametrico di Wilcoxon

\*  $P \leq 0,05$  è stato considerato statisticamente significativo

*Tabella 7.2 - Variabili antropometriche e densitometriche al tempo T1 e T3 in pazienti affetti da IRC*

	T1		T3		P*
	Media	SD	Media	SD	
Weight (kg)	85,17	± 13,97	79,52	± 10,41	0,0365
BMI	26,95	± 3,30	25,36	± 2,50	0,0059
Fat (%)	26,06	± 5,79	19,91	± 1,99	0,0007
Fat (kg)	23,36	± 8,88	16,18	± 3,34	0,0054
Fat trunk(%)	37,86	± 3,57	34,38	± 4,53	0,0033
Lean (%)	73,9	± 5,83	80,08	± 1,99	0,001

\*  $P < 0,05$  Test Non Parametrico di Wilcoxon

\*  $P \leq 0,05$  è stato considerato statisticamente significativo

I risultati nei pazienti affetti da insufficienza renale cronica mostrano una evidente diminuzione del peso corporeo, con una conseguente riduzione del valore dell'indice di massa corporea (Body Mass Index, BMI, ottenuto dal rapporto fra il peso corporeo in chilogrammi ed il quadrato della statura in metri,  $\text{kg/m}^2$ ) da T1 a T3: il peso varia infatti da un valore medio di 85,7 ad un valore medio di 79,52. Conseguentemente il BMI varia da un valore medio di 26,95 ad un valore medio di 25,36 con una significatività pari a  $p \leq 0,05$ .

Il valore percentuale di massa grassa, Fat (%), varia da T1 a T3 da un valore medio di 26,6 ad un valore medio di 19,91. Accanto a questi valori si riscontra un aumento del magro, Lean %, il cui valore percentuale varia da 73,9 a 80,08 con una significatività pari a  $p \leq 0,05$ .

I risultati ottenuti dallo studio sui nefropatici confermano i dati relativi allo studio effettuato sui consumatori sani, mostrando una riduzione della percentuale di massa grassa e un aumento della percentuale di massa magra con una significatività pari a  $p \leq 0,05$ .

Gli esami di laboratorio effettuati sui pazienti nefropatici presi in esame e riportati nella tabella 7.3, mostrano tra i tempi T1 e T3 variazioni significative ( $p \leq 0,05$ ) per i valori dell'omocisteina, che presenta una riduzione dei valori medi da 22,12 a 17,81  $\mu\text{M/L}$  tra le due misurazioni effettuate ( $p < 0,0026$ ) e per il fosforo, che varia significativamente da un valore medio di 4,10 ad un valore medio di 3,54  $\text{mg/dl}$  tra le due misurazioni effettuate ( $p < 0,0382$ ).

Inoltre è stata riscontrata una diminuzione significativa del colesterolo totale ( $\text{mg/dl}$ ), che varia da un valore di 181,57 ad un valore di 165,57 ( $p < 0,0369$ ), una variazione significativa del calcio ( $\text{mg/dl}$ ), che varia da 9,93 a 9,33 ( $p < 0,0001$ ) ed una riduzione della Microalbuminuria ( $\text{mg/L}$ ) da 93,55 a 71,7 ( $p < 0,00286$ ).

Una significativa riduzione del valore dell'omocisteina e del fosforo con relativo aumento della vitamina B12 si verifica anche nei consumatori sani ( $p \leq 0,05$ ).



## 7.2 Valori calorimetrici

Tutti i soggetti sani analizzati sono stati sottoposti al T0 a misurazione del metabolismo basale mediante tecnica calorimetrica indiretta. La tabella 7.4 mostra i valori medi ed il range dei parametri calorimetrici presi in esame: metabolismo basale (RMR), consumo d'ossigeno ( $VO_2$ ), produzione di anidride carbonica ( $VCO_2$ ), quoziente respiratorio (QR).

Tabella 7.4 - Valori calorimetrici al T0 in soggetti sani

	T0	
	Mediana	Range
RMR (Kcal/die)	1866	1281
$VO_2$ (l/min)	278	198
$VCO_2$ (l/min)	193	117
QR	0,72	0,22

\*  $P < 0.01$

\*\*  $P < 0.05$  Test Non Parametrico di Wilcoxon

Abbreviazioni: metabolismo basale (RMR), consumo d'ossigeno ( $VO_2$ ), produzione di anidride carbonica ( $VCO_2$ ), quoziente respiratorio (QR).

## 7.3 Risultati ORAC e HPLC

Gli alimenti di origine biologica mostrano possedere in generale un potere antiossidante maggiore rispetto a quelli di origine convenzionale, tranne alcune eccezioni, quali: lattuga, pera, finocchio e mandarino che risultano avere un potere antiossidante inferiore rispetto ai corrispettivi di origine convenzionale; la passata di pomodoro non mostra differenze di potere antiossidante.

Dopo 14 gg di alimentazione biologica sui 9 pazienti si è ottenuto uno stesso andamento con dei valori che mediati hanno dato il seguente risultato:

- la Total Antioxidant Capacity (TAC) è aumentata del 16% circa.
- La MDA è diminuita del 36% circa.
- La fosforemia è diminuita del 12% circa.
- L'ATP è aumentato del 27% circa
- La ECP è aumentata del 3% circa.
- Il rapporto Na/K scambiabile (BIA) è aumentato dell'8% circa



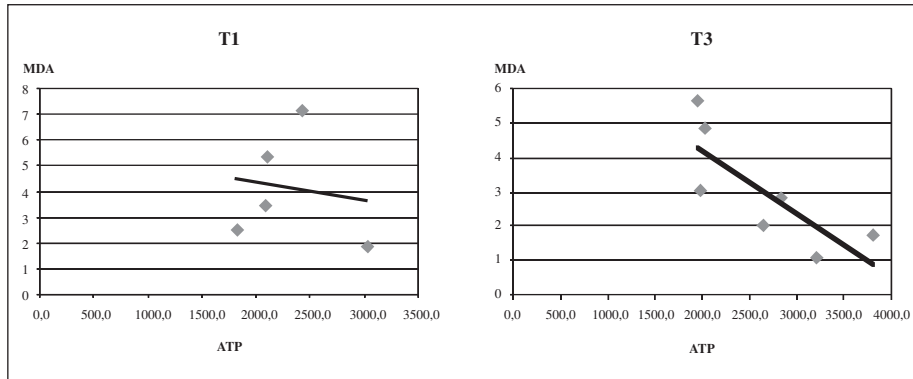
Tabella 7.5 - Risultati ORAC convenzionale versus biologico (unità ORAC)

	Convenzionale (unità ORAC)		Biologico (unità ORAC)		%
	Mediana	Range	Mediana	Range	
Aglione	4288	117	6361	87	48**
Arancia	1500	83	2677	93	79**
Banana	343	27	566	64	65**
Carota	194	45	278	97	43**
Fagioli	84	35	346	52	312**
Fragola	1411	62	1535	69	9*
Lattuga	1261	166	1014	135	-20**
Limone	2508	90	2672	80	7*
Mela	757	137	1018	78	34**
Patata	498	7	706	85	42**
Passata di pomodoro	342	33	356	98	4
Pera	411	220	309	97	-25**
Piselli	147	70	275	108	87**
Pomodoro	468	121	792	164	69**
Sedano	443	200	692	67	56**
Vino	5220	467	7875	273	51**
Zucchine	1290	248	1490	101	15**
Latte	326	131	361	64	11*
Broccoletto	447	43	1070	101	139**
Finocchio	253	56	170	46	-33**
Cipolla	361	60	690	69	91**
Mandarino	2030	206	1890	199	-7*
Cavolo	210	55	330	40	57**

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

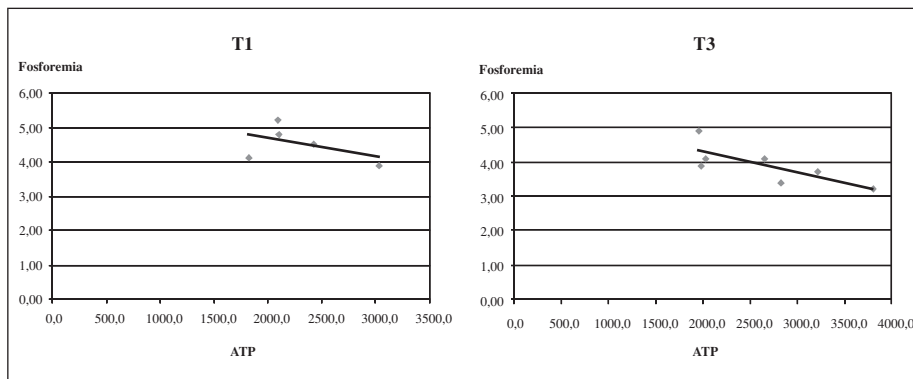
Nelle condizioni sperimentali di invariate abitudini alimentari e stili di vita, si è osservato che mangiare biologico per la durata di due settimane ha apportato un miglioramento della TAC del 16% con una significativa diminuzione dei valori di MDA (marker della perossidazione lipidica) del 36% circa. Questa diminuzione sembra essere correlata direttamente allo stato metabolico energetico e redox della cellula che risulta essere migliorato.

Figura 7.1 - Analisi di regressione lineare tra livelli di ATP e MDA



La diminuzione della fosforemia ematica (12%), di grande rilevanza in pazienti uremici, può essere in parte da collegare all'aumentata fosforilazione dell'AMP e ADP a beneficio di una più alta concentrazione di ATP come risulta evidente dopo i 15 gg di alimentazione biologica.

Figura 7.2 - Analisi di regressione lineare tra livelli di ATP e fosforemia

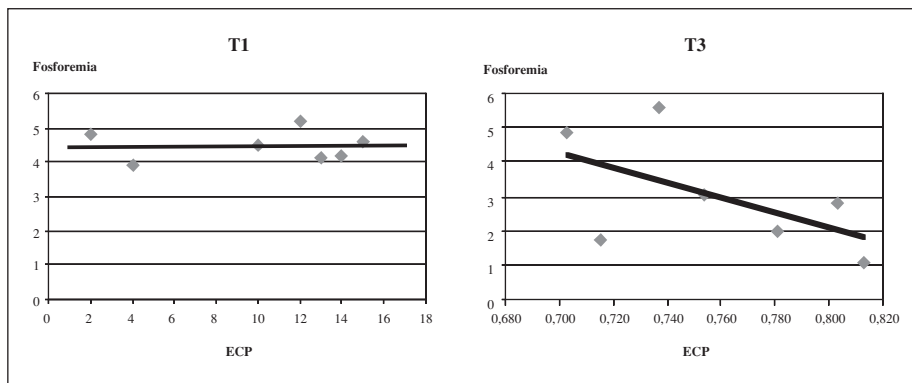


Il miglioramento della Carica Energetica Potenziale dopo l'alimentazione biologica è ovviamente da imputare all'aumento della concentrazione di ATP a spese di una diminuzione del fosforo ematico.

Infatti gli eritrociti, come anche altri tipi di cellule, mostrano differenti meccanismi di difesa contro il danno indotto dai radicali liberi; fra questi si conoscono difese di tipo enzimatico, che richiedono energia sotto forma di ATP

(come la catalasi, la superossido-desmutasi, la glutatione-perossidasi) e difese non enzimatiche (come l'azione riducente del glutatione e gli antiossidanti derivanti dal tipo di alimentazione). È chiaro dunque che l'aumento della TAC grazie alla alimentazione di tipo biologica ha determinato un aumento delle difese non-enzimatiche. Per questo motivo non attivando gli enzimi antiossidanti si è ottenuto un risparmio energetico (ATP), un maggiore consumo di fosforo inorganico ed in generale un'aumentata carica energetica potenziale.

Figura 7.3 - Analisi di regressione lineare tra ECP e fosforemia



Inoltre è da osservare come l'aumento di ATP e di ECP abbiano portato a delle variazioni anche a livello del metabolismo elettrolitico. Analizzando i valori del rapporto Na/K scambiabili, ottenuti con esame impedenziometrico, si osserva un aumento generale di circa l'8%, che rappresenta una stima degli scambi di membrana e quindi dell'attività ATPasica che consuma energia. Questo aumento è in accordo con la diminuzione dell'ICW dell'8% e con un aumento di quella Extracellulare di circa il 13%.

#### 7.4 Apporto energetico

Per non introdurre variabili sperimentali dipendenti dal cambiamento del regime alimentare, la dieta somministrata, uguale per ciascun soggetto e mostrata nella tabella 7.6, è stata elaborata sulla base del risultato del rilevamento delle abitudini alimentari. La tabella 7.7 mostra le percentuali di energia apportate nei giorni di dieta dai tre diversi macro-nutrienti: carboidrati, lipidi e proteine.

Tabella 7.6 - Schema dietetico giornaliero

	Giorno 1	Giorno 2	Giorno 3	Giorno 4
COLAZIONE	latte parz. scremato (200g) caffè (50g) biscotti secchi (50g)	latte parz. scremato (200g) caffè (50g) fette biscottate (40g) marmellata (5g)	latte parz. scremato (200g) caffè (40g) biscotti secchi (50g)	latte parz. scremato (200g) caffè (40g) fette biscottate (40g) marmellata (5g)
SPUNTINO	mele (150g)	pere (150g)	mele (150g)	mandarini (150g)
PRANZO	petto di pollo ai ferri (120g) melanzane grigliate (250g) mandarini (150g) pane (100g)	mozzarella fresca (125g) pane (100g) insalata di lattuga (100g) mele cotte con miele (150g)	uova strapazzate (65g) cavolfiore lessato (250g) pane (100g) mandarini (150g)	maiale magro ai ferri (120g) insalata di pomodori (250g) mele (150g) pane (100g)
SPUNTINO	yogurt parz. scremato bianco (125g)	yogurt parz. scremato bianco (125g)	yogurt parz. scremato bianco (125g)	yogurt parz. scremato bianco (125g)
CENA	risotto al pomodoro (100g) cicoria lessata (250g)	risotto al pomodoro (100g) piselli lessati (100g)	pasta al pomodoro (110g) zucchine al vapore (250g)	penne alle verdure (100g) cicoria lessata (250g)
	Giorno 5	Giorno 6	Giorno 7	Giorno 8
COLAZIONE	latte parz. scremato (200g) caffè (50g) biscotti secchi (50g)	latte parz. scremato (200g) caffè (40g) fette biscottate (40g)	latte parz. scremato (200g) caffè (50g) biscotti secchi (50g)	latte parz. scremato (200g) caffè (40g) fette biscottate (40g)
SPUNTINO	mandaranci (150g)	mandarini (150g)	mandarini (150g)	mandarini (150g)
PRANZO	ricotta di pecora (150g) finocchi crudi (150g) pane (100g) carote grattugiate (100g) pere (150g)	frittata con zucchine (65g) zucchine grigliate (250g) pane (100g) mandarini (150g)	involtini di pollo al forno (120) zucchine al pomodoro (250g) pane (100g) pere (150g)	maiale magro ai ferri (120g) insalata di lattuga (100g) pane (100g) mele cotte al naturale (250g)
SPUNTINO	yogurt parz. scremato bianco (125g)	yogurt parz. scremato bianco (125g)	yogurt parz. scremato bianco (125g)	yogurt parz. scremato bianco (125g)
CENA	tagliatelle zucchine (100g) insalata di lattuga (100g)	risotto agli asparagi (100g) cavolfiore al pomodoro (150g)	maccheroncini al pomodoro (100g) melanzane grigliate (250g)	pasta e piselli (100g) finocchi in insalata (150g) carote grattugiate (100g)
CONDIMENTI	olio extra vergine di oliva (25g)	olio extra vergine di oliva (40g)	olio extra vergine di oliva (35g)	olio extra vergine di oliva (30g)

Per quanto riguarda l'energia apportata dai carboidrati il valore è leggermente superiore a quello di riferimento (55-60%); la percentuale delle proteine giornaliere è leggermente inferiore al valore di riferimento (15-20%), mentre quello dei lipidi è adeguato (20-25%).

Nel complesso, dunque, non si riscontra una situazione che si discosti eccessivamente dai valori raccomandati.

*Tabella 7.7 - Valori percentuali giornalieri forniti da carboidrati, lipidi e proteine*

	<b>Glucidi</b>	<b>Lipidi</b>	<b>Protidi</b>	<b>Kcal totali</b>
Giorno 1	58%	27%	15%	1730
Giorno 2	58%	27%	15%	1693
Giorno 3	64%	23%	13%	1690
Giorno 4	59%	25%	16%	1735
Giorno 5	60%	26%	14%	1704
Giorno 6	60%	26%	14%	1750
Giorno 7	60%	23%	17%	1744
Girono 8	60%	23%	17%	1757

Sulla base delle quantità definite dalle analisi bromatologiche di ogni singolo alimento e delle sostanze che lo compongono per ogni giorno di dieta, si possono utilizzare degli indici capaci di definire la "qualità nutrizionale" di ciascun alimento ed all'occorrenza, dell'intera dieta. Per "qualità" si intende l'insieme delle proprietà e delle caratteristiche di un prodotto che conferiscono ad esso le capacità di soddisfare varie esigenze. Nel settore alimentare la definizione di "qualità" fa riferimento ai requisiti specifici delle derrate alimentari. Ai fini di una dieta salutare, è fondamentale conoscere il prodotto in termini qualitativi e quantitativi. D'altro canto, per gli stessi nutrizionisti sussiste l'esigenza di classificare gli alimenti secondo proprietà più attinenti ai principi nutritivi, in termini di macro e micro nutrienti, alla loro tipologia e alla biodisponibilità di questi ultimi.

Tabella 7.8 - Tabelle bromatologia del giorno 1

Campo	u.m.	Colazione	Spuntino	Pranzo	Spuntino	Cena	Spuntino	Totale
Calorie	kcal	296,15	67,7	760,23	151,67	604,68	188,81	<b>2069,24</b>
KJoule	kJ	1239,68	283,39	3182,33	634,89	2531,17	790,36	<b>8661,82</b>
Protidi	g	9,44	1,4	23,61		3,97	49,54	<b>0</b>
Protidi vegetali	g	1,88	1,4	23,61	0,6	11,2	0	<b>38,69</b>
Saturi	g	5,44	0,06	1,47	0,01	6,73	3,39	<b>17,1</b>
Insaturi	g	0,73	0,08	2,07	0,1	2,97	1,86	<b>7,8</b>
Monoinsaturi	g	3,38	0,08	4,82	0,1	4,56	15,63	<b>28,58</b>
Glucidi semplici	g	17,5	15,6	13,76	33,47	7,5	0	<b>87,84</b>
Glucidi complessi	g	24,12	0	129	0	59,1	0	<b>212,22</b>
Colesterolo	mg	73,2	0	0	5,5	111,6	0	<b>190,3</b>
Tiamina	mg	0,11	0,12	0,2	0,06	1,54	0	<b>2,03</b>
Riboflavina	mg	0,45	0,1	0,44	0,26	1,66	0	<b>2,91</b>
Niacina	mg	1,35	0,4	5,55	0,2	9,8	0	<b>17,3</b>
Acido pantotenico	mg	0,66	0,4	0,1	0,1	1,06	0	<b>2,32</b>
Piridossina	mg	0,14	0,2	0,47	0,08	1,07	0	<b>1,97</b>
Acido folico	mcg	17,2	62	143,84	14,38	277	0	<b>514,41</b>
Cianocobalamina	mcg	1,27	0	0,13	0,52	0,16	0	<b>2,09</b>
Acido ascorbico	mg	2	100	32,52	8,55	48	0	<b>191,07</b>
Biotina	mcg	6,92	3,8	14,36	0,4	2,5	0	<b>27,98</b>
Retinolo	mcg	74	0	346,72	14,88	526	7,56	<b>969,15</b>
Calciferolo	mcg	0,06	0	0,29	0	0	0	<b>0,35</b>
Tocoferolo	mg	0,7	0,48	5,19	1	4,1	4,7	<b>16,17</b>
Menadione	mcg	8,2	10,6	110	0	0	0	<b>128,8</b>
Sodio	mg	265	6	539,99	70,63	760,8	0,1	<b>1642,52</b>
Potassio	mg	481,5	400	959,2	475,25	1090	0	<b>3405,95</b>
Ferro	mg	0,66	0,4	3,47	0,68	4,24	0,04	<b>9,49</b>
Calcio	mg	249,8	98	98,56	194,88	162,4	0	<b>803,64</b>
Fosforo	mg	257,3	44	346,96	144,88	409	0	<b>1202,14</b>
Rame	mg	0,17	0,13	0,77	0,1	0,77	0,01	<b>1,96</b>
Magnesio	mg	33,6	20	85,16	30,5	121,6	0	<b>290,86</b>
Manganese	mg	0	0,06	1,13	0,1	1,31	0	<b>2,6</b>
Zinco	mg	1,1	0,4	2,34	0,93	4,81	0	<b>9,58</b>
Selenio	mcg	3,2	0,4	5,96	0	27,2	0	<b>36,76</b>
Cromo	mcg	5	2	45,46	4	37	0	<b>93,46</b>
Nichel	mg	5	20	41,22	32	34	0	<b>132,22</b>
Iodio	mcg	6,6	4,2	30,08	3	165,8	1,05	<b>210,73</b>
Cloro	mg	204	8	425,88	4	450	21	<b>1112,88</b>
Fluoro	mg	0,03	0,01	0,04	0,02	0	0	<b>0,11</b>
Calcio/fosforo	mg	2,79	4,45	2,39	3,05	4,93	0	<b>17,61</b>
Acqua	g	222,58	174,4	277,88	268,8	332,88	0	<b>1276,54</b>
Acido urico	mg	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
Acido fitico	mg	0	0	0,34	0	0,05	0	<b>0,39</b>
Acido caffeico	mg	0	10	38	16	0	0	<b>64</b>
Acido malico	mg	0	320	20,4	340	0	0	<b>680,4</b>

segue

*segue Tabella 7.8 - Tabelle bromatologia del giorno 1*

<b>Campo</b>	<b>u.m.</b>	<b>Colazione</b>	<b>Spuntino</b>	<b>Pranzo</b>	<b>Spuntino</b>	<b>Cena</b>	<b>Spuntino</b>	<b>Totale</b>
Acido citrico	mg	420	2120	15,4	280	0	0	<b>2835,4</b>
Acido tartarico	mg	0	48	9,86	6	1380	0	<b>1443,86</b>
Acido ossalico	mg	0	0	0,66	0	1300	0	<b>1300,66</b>
Etanolo	g	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
Purine	mg	0	0	81,08	4	15	0	<b>100,08</b>
Fibra alimentare	g	1,04	3,2	8,72	7,6	5,6	0	<b>26,16</b>
Fibra solubile	g	0,53	1,2	2,7	2,58	1,86	0	<b>8,87</b>
Fibra insolubile	g	0,53	2	4,67	5,12	4,46	0	<b>16,78</b>
Glucosio	g	0	4,46	0,63	3,32	0,42	0	<b>8,83</b>
Fruttosio	g	0	5,04	0,75	13,44	0,54	0	<b>19,77</b>
Saccarosio	g	0	6,44	0,36	3,6	0,42	0	<b>10,82</b>
Amido	g	0	0	120,96	0	59,1	0	<b>180,06</b>
Pectina	g	0	4,7	0	0	0	0	<b>4,7</b>
Mannitolo	g	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
Lisina	mg	604,8	86	543,12	28	3664,6	0	<b>4926,52</b>
Istidina	mg	246,8	24	460,12	8	1696,6	0	<b>2435,52</b>
Arginina	mg	313,2	104	840,72	14	2783	0	<b>4054,92</b>
Acido aspartico	mg	538	228	1271,16	0	4421,4	0	<b>6458,56</b>
Treonina	mg	406,4	24	681,2	20	2041,8	0	<b>3173,4</b>
Serina	mg	406	46	1115,52	0	2176,6	0	<b>3744,12</b>
Acido glutamico	mg	1542	198	7642,48	0	9608,6	0	<b>18991,08</b>
Prolina	mg	742	90	2382,72	0	2673,2	0	<b>5887,92</b>
Glicina	mg	140	166	766,2	0	2292,6	0	<b>3364,8</b>
Alanina	mg	238	102	753,28	0	2666,6	0	<b>3759,88</b>
Cistina	mg	148	20	499,4	8	791,6	0	<b>1467</b>
Valina	mg	586,4	62	1108,52	28	2687,4	0	<b>4472,32</b>
Metionina	mg	204,4	24	362,15	10	1216,8	0	<b>1817,35</b>
Isoleucina	mg	490,4	46	934,95	22	2467,2	0	<b>3960,55</b>
Leucina	mg	915,2	44	1683,04	40	3940,8	0	<b>6623,04</b>
Tirosina	mg	351,6	34	581,74	18	1503	0	<b>2488,34</b>
Fenilalanina	mg	494	60	1126,23	20	2027,2	0	<b>3727,43</b>
Triptofano	mg	131,2	12	207,84	0	494,6	0	<b>845,64</b>
C4 - C10	g	0,64	0	0	0	0	0	<b>0,64</b>
Laurico	g	0,22	0	0	0	0,41	0	<b>0,64</b>
Miristico	g	0,74	0	0	0	0,58	0	<b>1,32</b>
Palmitico	g	1,84	0,04	0,92	0,09	3,42	2,23	<b>8,54</b>
Stearico	g	0,78	0,01	0,2	0,02	2,03	0,64	<b>3,69</b>
Arachidico	g	0	0	0,06	0	0	0,16	<b>0,22</b>
Beenico	g	0	0	0,01	0	0	0,02	<b>0,03</b>
Miristoleico	g	0,14	0	0	0	0	0	<b>0,14</b>
Palmitoleico	g	0,2	0,02	0,05	0,01	0,27	0,17	<b>0,71</b>
Oleico	g	1,86	0,09	4,51	0,06	3,98	15,09	<b>25,59</b>
Eicosaenoico	g	0	0	0,02	0	0,23	0,06	<b>0,32</b>

*segue*

segue Tabella 7.8 - Tabelle bromatologia del giorno 1

Campo	u.m.	Colazione	Spuntino	Pranzo	Spuntino	Cena	Spuntino	Totale
Erucico	g	0	0	0	0	0,22	0	<b>0,22</b>
Linoleico	g	0,14	0,1	1,25	0,22	2,61	1,43	<b>5,75</b>
Linolenico	g	0,1	0,06	0,18	0,07	0,02	0,15	<b>0,58</b>
Arachidonico	g	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
Eicosapentaenoico	g	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
Docosenoico	g	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
AI	2,06	0,18	0,15	0,24	0,84	0,13	0,43	
TI	2,18	0,07	0,38	0,21	1,76	0,36	0,9	
PRAL	0:15	-7,66	1:09	-5,74	11:59	0:00	-0,57	
CSI	9,16	0,06	1,48	0,28	12,38	3,43	26,79	
NAE	meq	55,59	47,78	56,53	49,7	67,03	55,44	<b>54,87</b>

Vengono riportati schematicamente i valori di CSI, TI, AI e gli indici di qualità nutrizionale (INQ), per ciascuna giornata, dalla prima alla quinta, considerando che le giornate n. 2, 3, e 4 sono state ripetute rispettivamente nei giorni 5-8 del programma dietetico somministrato.

Sono inoltre riportati i valori di NAE e PRAL, dove PRAL (Potential Renal Acid Load o potenziale di carico acido renale) assume segno positivo per i cibi acidificanti, negativo per quelli alcalinizzanti. Una somma di tutti i cibi di un pasto dovrebbe trovarsi idealmente sempre in territorio fortemente negativo (alcalino). NAE (Net Acid Excretion o escrezione acida globale) rappresenta la quantità di acidi escreti nelle urine per unità di tempo. Il suo valore dipende dal volume di urine prodotto e dalla concentrazione di bicarbonato nell'urina.

Tabella 7.9 - Valori NAE (escrezione acida globale), PRAL (carico renale giornaliero), CSI (indice di qualità lipidica), TI (indice di trombogenicità), AI (indice di aterogenicità)

	NAE	PRAL	CSI	TI	AI
Giorno 1	36,21	-9,99	19,95	0,53	0,25
Giorno 2	62,56	16,36	26,62	1,43	0,82
Giorno 3	30,8	-15,4	28,63	0,7	0,32
Giorno 4	31,9	-14,2	17,78	0,61	0,29
Giorno 5	41,08	-5,12	30,1	1,32	0,8
Giorno 6	25,8	-20,4	26,63	0,67	0,3
Giorno 7	39,82	-6,38	21,62	0,65	0,32
Giorno 8	44,38	-1,82	20,17	0,85	0,42



## 7.5 Conclusioni

Numerose evidenze scientifiche, a tutt'oggi, hanno evidenziato quanto segue:

- Diete non salutari, inattività fisica e fumo sono rischi comportamentali confermati.
- Ipertensione, obesità, diabete e dislipidemia sono accertati fattori di rischio biologici per patologie metaboliche e cardiovascolari.
- I principali fattori di rischio biologici e comportamentali si manifestano e agiscono in uno stadio precoce della vita, e continuano poi a esplicare un effetto negativo durante tutto il corso della vita.

Le malattie cardiovascolari rappresentano la maggiore causa di morbidità e mortalità nei paesi occidentali. Da tempo è nota l'esistenza di specifici fattori di rischio, che ne incrementano la probabilità di insorgenza, quali: familiarità positiva, fumo di tabacco, dislipidemia, ipertensione arteriosa, diabete mellito, obesità e stile di vita sedentario. I fattori di rischio tradizionali non spiegano, tuttavia, tutti i casi di tali patologie. Nel campo della cardiopatia coronaria, ad esempio, il solo fattore ipercolesterolemia risulta non essere la causa in oltre il 35% dei casi. In alcuni soggetti l'unico fattore di rischio evidente è una storia familiare di malattia cardiovascolare precoce, spesso, tuttavia, senza una chiara predisposizione genetica. Emerge quindi la necessità di identificare ulteriori marcatori di rischio cardiovascolari, che accrescano le nostre conoscenze sui meccanismi fisiopatologici della malattia e che permettano lo sviluppo di nuove misure preventive e terapeutiche.

Nel 1960, i primi studi epidemiologici evidenziarono un ulteriore potenziale fattore di rischio per patologie cardiovascolari: il livello ematico elevato di omocisteina (tHcy). I dati relativi a questo nuovo parametro furono rapidamente raccolti e l'omocisteina divenne presto nota come il "colesterolo degli anni 90". Secondo i dati riportati da Berstad et al. nel *Hordaland Homocysteine Study*, un'elevata assunzione di grassi saturi con la dieta risulta essere associata ad una elevata tHcy. In effetti è emerso che un'assunzione giornaliera di grassi saturi superiore a 12-15g si associa ad una concentrazione plasmatica di omocisteina di circa il 6% più elevata, dopo l'aggiustamento di tali valori per sesso, età, dispendio energetico, fumo, consumo giornaliero di caffè e di folati. Questa associazione ha la stessa importanza di quella esistente tra un'elevata assunzione di grassi saturi ed un aumento del colesterolo legato a lipoproteine a

bassa densità (Low Density Lipoprotein, LDL) nel sangue, dimostrata da molteplici studi. In aggiunta, gli autori hanno evidenziato che l'assunzione di acidi grassi *n-3* (FAs) risulta inversamente associata ai livelli sierici di omocisteina.

Lo stretto legame esistente tra il metabolismo dell'omocisteina e quello dei fosfolipidi spiega l'associazione tra l'apporto di FAs e la concentrazione ematica dell'omocisteina; tale asserzione è supportata da studi effettuati su animali, in cui si è visto che all'aumento della saturazione dei FAs con l'alimentazione corrispondeva un'aumentata sintesi di fosfatidilcolina.

Inaspettatamente, la relazione inversa esistente tra acidi grassi *n-3* (FAs) e la tHcy era significativa solo tra i soggetti che assumevano alti quantitativi di vitamine del gruppo B. Perciò, si è ipotizzato che un elevato apporto di acidi grassi *n-3* (FAs) potesse ridurre i livelli di tHcy solo in associazione ad un elevato apporto di vitamine del gruppo B. In conclusione, solo l'azione combinata delle vitamine del gruppo B e degli acidi grassi *n-3* (FAs) può effettivamente svolgere un'azione preventiva sul sistema cardiovascolare. In tal senso, è di notevole importanza la prevenzione primaria attuabile mediante la supplementazione con vitamine del gruppo B.

Nel tempo, dunque, si sta delineando sempre più chiaramente il ruolo dell'omocisteina come valido marker di "aderenza alle linee guida di una sana alimentazione".

Sulla base delle suddette osservazioni, l'acquisizione di uno stile di vita più salutare, inteso come attenta e consapevole scelta qualitativa e quantitativa dei cibi ed adeguati livelli di attività fisica, risulta prioritario. In termini dietetici, le implicazioni pratiche di quanto detto in precedenza, dovrebbero portare ad un aumento del consumo di frutta e verdura, dell'apporto di fibra alimentare e di pesce prevalentemente azzurro, contemporaneamente ad una riduzione del consumo di grassi saturi, zuccheri e alcool. Tali caratteristiche sono proprie della Dieta Mediterranea Italiana di Riferimento, un modello alimentare che è tradizione, cultura ed equilibrio.

Il modello alimentare italiano attuale conserva solo pochi aspetti della "vera" Dieta Mediterranea, che si caratterizzava per una alimentazione composta da cibi naturali, senza additivi o conservanti chimici. Salvo eccezione per alcuni prodotti di cui era necessario l'approvvigionamento per la stagione invernale (carne di maiale elaborata e conservata, carni secche, oppure frutta trasformata in marmellate o conservata in luoghi riparati ma ben ventilati), tutto il resto veniva consumato praticamente fresco o nell'arco di pochi giorni.

Le proprietà della Dieta Mediterranea Italiana di Riferimento poggiano sulla qualità dei cibi consumati e sulla presenza qualitativa e quantitativa in essi dei principi nutrizionali che, da soli, possono assicurare l'ottimizzazione di quelle funzioni metaboliche condizionanti lo stato di salute.

Molteplici studi hanno evidenziato come l'inquinamento ambientale e le tecniche convenzionali di coltivazione, interagendo con il suolo, l'acqua, l'aria, la fauna e la flora possano interferire negativamente con i caratteri propri dei prodotti dell'agricoltura e dell'allevamento animale. I contenuti nutrizionali e, conseguentemente, i caratteri organolettici dei cibi possono essere alterati, così da costituire un rischio per la salute di chi li consuma; rischio dovuto sia alla presenza di sostanze chimiche in concentrazioni tali da risultare tossiche, sia alla relativa carenza di principi nutrizionali essenziali (ad esempio di agenti antiossidanti).

Risultano inadeguate le attuali conoscenze relative agli effetti sulla composizione bromatologica di interi gruppi di alimenti, prodotti sia attraverso tecniche di coltura convenzionale sia con coltivazione biologica. È di importanza fondamentale, per definire modelli di corretta alimentazione mirati alla conservazione dello stato di salute del consumatore, paragonare le proprietà nutrizionali dello stesso tipo di alimento prodotto con l'una e con l'altra tecnica, individuandone così le eventuali differenze di apporto di micro e macroelementi. Frutta, legumi, olio d'oliva e prodotti dell'orto sono i principali costituenti della Dieta Mediterranea, tradizionale stile alimentare italiano. Tali alimenti sono ricchi di principi antiossidanti ed antiinfiammatori la cui azione ha impatti fortemente positivi sulla fisiologia dell'organismo, in particolare su tutti i processi metabolici e funzionali legati al ricambio cellulare, regolatori fra l'altro delle modalità (rapidità del ricambio cellulare, decremento delle capacità psico-fisiche, ecc.) con cui l'organismo umano affronta i processi dell'invecchiamento. La ricchezza in sostanze antiossidanti è proprio una delle principali caratteristiche della Dieta Mediterranea ed è inoltre riconosciuta come uno dei fattori primari nella promozione e nel mantenimento dello stato di salute.

La frutta e la verdura, abbondantemente rappresentate nella dieta mediterranea salutare, offrono un considerevole contributo in vitamine e minerali, intervengono nel controllo della densità energetica della dieta, forniscono fibra ed una notevole varietà di componenti antiossidanti. Una dieta ricca di frutta e verdura, assicura un apporto considerevole di nutrienti minerali e vitaminici con attività antiossidante (acido ascorbico,  $\alpha$ -tocoferolo, retinolo,  $\beta$ -carotene). Inoltre la frutta e la verdura insieme all'olio vergine di oliva, al vino rosso, alle erbe aro-

matiche, (origano, prezzemolo e rosmarino), all'aglio, alla cipolla, al peperoncino (ingredienti usati generosamente nella cucina mediterranea), offrono una quantità di composti fenolici con spiccata azione antiossidante che difficilmente è possibile raggiungere con altri tipi di dieta.

Il meccanismo con il quale la dieta mediterranea sia in grado di ridurre lo stato infiammatorio associato alla sindrome metabolica e alle malattie cronico-degenerative non è ancora del tutto chiaro. È stato ipotizzato che le fibre e gli acidi grassi  $\omega$ -3 svolgano un ruolo fondamentale in tal senso. Gli effetti protettivi della Dieta Mediterranea sono inoltre attribuibili all'elevato contenuto di antiossidanti. L'aumento della capacità antiossidante del sangue, infatti, e l'aumento di acido folico riducono il rischio di diabete, malattie cardiovascolari e tumori, grazie all'abbassamento dei livelli infiammatori. In particolare un elevato introito con la dieta di  $\beta$ -carotene, vitamina C ed E e composti fenolici contenuti, per esempio, nel vino rosso è stato già associato a bassi livelli di lipoproteine a bassa densità ossidate (ox-LDL).

Alla luce delle nuove tecnologie e metodiche della biologia molecolare, che forniscono nuovi strumenti per la diagnosi e prevenzione delle malattie, risulta di fondamentale importanza identificare quegli indicatori dello stato di salute, che meglio si adattano per un confronto degli effetti di diverse diete o alimenti assunti, con particolare riguardo a quelli ottenuti secondo metodi di coltivazione biologica. Ciò si rende necessario per definire in modo preciso ed accurato le interazioni tra ambiente ed individuo. Il vero dilemma risiede nel fatto che gli uomini presentano notevoli differenze individuali, differenze che si riscontrano quando si deve fornire loro una dieta appropriata, momento in cui emergono le diverse necessità di ogni singola persona nei confronti di bisogni genetici e metabolici. È per questo necessario lo sviluppo di metodiche nuove, di grande precisione, accuratezza, sensibilità e specificità.

I risultati ottenuti dalle ricerche, che abbiamo riportato in questa sede, indicano un diverso effetto sull'organismo dei prodotti di origine biologica rispetto ai "convenzionali", inseriti in un regime dietetico che segue i dettami della Dieta Mediterranea Italiana di riferimento: l'effetto è decisamente più salutare. I dati hanno dimostrato che una dieta a base esclusiva di prodotti biologici, rispetto a prodotti di agricoltura convenzionale, apporta una maggiore quantità di principi antiossidanti, in grado di determinare un aumento della capacità antiossidante totale plasmatica. Come è stato riportato in studi precedenti, pubblicati nel Working Paper n. 2, Progetto SABIO, De Lorenzo e Di Renzo "Nutrire per Prevenire. Quali nuovi indicatori di rischio Nutrizionale?",

del 2007 e nel *European Review Medical Pharmacological Science*, volume 11, pg 185-192, 2007, la dieta mediterranea di riferimento biologica assume un ruolo rilevante nella determinazione di uno stile di vita più salutare, con conseguenze sui parametri di laboratorio ben evidenti.

Una Dieta Mediterranea ben bilanciata e basata solo su alimenti biologici oltre a preservarci dai concimi azotati (che determinano la diminuzione del valore biologico delle proteine), dai concimi potassici (che abbassano il magnesio e i minerali) e dai concimi fosfatici (che danno una minore quantità di vitamine), migliora due parametri rispetto ai prodotti convenzionali: diminuisce i fattori infiammatori e aumenta i principi antiossidanti presenti nel nostro corpo come ampiamente discusso in De Lorenzo e Di Renzo, 2006.

Si può asserire che l'tHcy, i fosfati e lo stato redox ed energetico cellulare, come indicatori di dieta salutare, avvalorino la qualità nutrizionale dei cibi biologici?

I nostri risultati dimostrano che i soggetti che usano olii vegetali, bevono latte scremato, evitano cibi elaborati e grassi, assumono quotidianamente elevati quantitativi di frutta e verdura biologica, ed utilizzano olio di pesce come supplementazione, presentano livelli di tHcy molto più bassi. Al contrario, l'ipermocisteinemia è un indicatore di un'alimentazione impropria, ricca in grassi e povera in cibi protettivi.

Per quanto concerne lo studio condotto sui pazienti affetti da insufficienza renale cronica è stato osservato un significativo cambiamento nella composizione corporea, in termini di riduzione della massa grassa ed aumento della massa magra ( $p < 0,001$ ), che suggerisce un effetto positivo della dieta mediterranea biologica sull'infiammazione e sul rischio di sviluppare patologie cronico-degenerative. Accanto a questi dati è stata riscontrata una significativa riduzione di tHcy in tutti i soggetti studiati in seguito al consumo di alimenti biologici.

Abbiamo inoltre dimostrato una significativa riduzione dei livelli di fosforo nel sangue, sia nei soggetti sani che nei pazienti uremici, associata ad una variazione nel profilo lipidico, che suggerisce una richiesta inferiore di lipidi necessari per il riparo delle cellule endoteliali, e ad una diminuzione del rischio di sviluppare patologie cardiovascolari. Un ridotto apporto di fosforo con la dieta sembra quindi essere un ottimo meccanismo di controllo della fosforemia per i pazienti con insufficienza renale cronica.

In ultimo è stata registrata nei pazienti con insufficienza renale cronica

una significativa riduzione della Microalbuminuria, un importante marker del rischio di patologie renali e cardiovascolari.

I nostri dati mettono quindi in luce il possibile impatto positivo sulla salute della MD biologica rispetto a quella convenzionale, in termini di riduzione dello stato infiammatorio e della disfunzione endoteliale associata con l'obesità e le patologie renali. Sottolineano, inoltre, per la prima volta, che il consumo giornaliero di alimenti biologici nell'ambito della dieta mediterranea potrebbe essere collegato ad una riduzione di tHcy, fosforo, colesterolo totale, microalbuminuria e ad un aumento della vitamina B12 nel sangue. Ne deriva una minore incidenza di patologie cardiovascolari, che risulta essere particolarmente importante per i pazienti con insufficienza renale cronica, per tali ragioni è possibile affermare che la dieta mediterranea svolga un ruolo fondamentale nella longevità e nella qualità della vita.

Lo studio condotto sul confronto tra la capacità totale antiossidante, espressa in unità ORAC degli alimenti forniti a pazienti con nefropatia cronica, ha evidenziato una superiorità del prodotto biologico. Come per i soggetti sani, anche per i soggetti uremici, è stato possibile concludere che l'alimentazione biologica induce un maggior apporto di antiossidanti che incrementano la capacità antiossidante ematica totale. Contemporaneamente si è osservato un miglioramento dello stress ossidativo nei pazienti, dopo 14 giorni di dieta mediterranea equilibrata e biologica. La diminuzione dello stress ossidativo dovuto alla perossidazione lipidica (quantizzato mediante il dosaggio del marker MDA) sembra essere direttamente correlato allo stato metabolico energetico e redox della cellula.

Lo studio è stato focalizzato sull'aspetto biochimico metabolico in cui la degradazione degli alimenti, genera anche la *driving force* (energia trainante) dei processi metabolici. Ovvero sul fatto che le reazioni cataboliche degli alimenti sono eso-energetiche (+ E) e con crescita di entropia (+ S); esse vengono accoppiate con reazioni di sintesi (anaboliche), quali ad es. la sintesi endo-energetica dell'adenosin-trifosfato (ATP), che funziona da accumulatore di energia. L'energia accumulata come ATP successivamente viene spesa laddove vi sia un lavoro necessario per ottenere una nuova organizzazione molecolare.

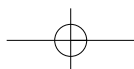
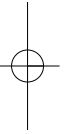
Il danno indotto dalla perossidazione delle membrane lipidiche ne rende instabili la struttura, la fluidità e la permeabilità; l'aumento della TAC comporta certamente un cambiamento delle attività dei sistemi di protezione cellulare, inducendo una spesa energetica minore per le difese enzimatiche contro il danno da radicali lipo-perossilici con conseguente aumento di energia potenzialmente

utilizzabile (circa 3%), che influisce positivamente sullo stato metabolico energetico e redox della cellula.

Allo stesso tempo una diminuzione del 12% del fosforo inorganico può essere giustificato in parte (8%) dall'aumento della attività ATPasica per gli scambi di membrana. Anche la permeabilità di membrana risulta migliorata ed in concomitanza con l'effetto positivo sul fronte metabolico energetico e redox cellulare, ipotizziamo che tutti questi fattori diano come risposta finale una diminuzione del 36% del danno da perossidazione.

È bene sottolineare che il nostro studio presenta dei limiti in termini di rappresentatività del campione analizzato rispetto alla popolazione, sebbene i risultati presentino una significatività statistica elevata. Inoltre non è stato possibile controllare che i soggetti arruolati, non essendo ospedalizzati, si attenessero strettamente alla dieta somministrata.

In conclusione i risultati mettono in luce l'importanza di un intervento sulla popolazione mirato al consumo di una dieta più salutare; pertanto potrebbero essere utilizzati nella realizzazione di una campagna di sensibilizzazione sul consumo dei prodotti biologici, al fine di prevenire lo sviluppo di patologie cronico-degenerative.





## BIBLIOGRAFIA

Alberti-Fidanza A, Alunni Paolacci C, Chiuchiù MP et al. "Dietary studies on two rural Italian population groups of the Seven Countries Study" Food and nutrient intake at the thirty-first year follow-up. *Eur J Clin Nutr*; 48: 85-91, 1994.

Alberti-Fidanza A, Fidanza F, Chiuchiù MP, Verducci G, Fruttini D, "Dietary studies on two rural Italian population groups of the Seven Countries Study 3 Trend of food and nutrient intake from 1960 to 1991" *Eur J Clin Nutr*; 58: 854-860, 1999.

Alberti-Fidanza, Mediterranean Adequacy Index of Italian diets. *Public Health Nutr* Oct; 7 (7): 937-41, 2004.

Ambring A, Friberg P, Axelsen M, Laffrenzen M, Taskinen MR, Basu S, et al. "Effects of a Mediterranean-inspired diet on blood lipids, vascular function and oxidative stress in healthy subjects." *Clin Sci Colc*; 106: 447-8, 2004.

Andreoli A, Lauro S, Di Daniele N, Sorge R, Celi M, Volpe SL "Effect of a moderate hypoenergetic Mediterranean diet and exercise program on body cell mass and cardiovascular risk factors in obese women". *Eur J Clin Nutr*, 2007.

Assmann G, de Backer G, Bagnara S, Betteridge J, Crepaldi G, Fernandez-Cruz A, Godtfredsen J, Jacotot B, Paoletti R, Renaud S, Ricci G, Rocha E, Trautwein E, Urbinati GC, Varela G, Williams C. "International consensus statement on olive oil and the Mediterranean diet: implications for health in Europe. The olive oil and the Mediterranean diet panel". *European Journal of Cancer Prevention*; 6: 418-21, 1997.

Bailey LB "Folate, methyl-related nutrients, alcohol, and the MTHFR 677C-T polymorphism affect cancer risk: intake recommendations". *J Nutr* 133: 3748S-3753S, 2003.

Bariol C, Suter C, Cheong K et al., "The relationship between hypomethylation and CpG island methylation in Colorectal neoplasia", *American Journal of Pathology* 162, 2003.

Bognanno M, La Fauci L, Ritieni A, Tafuri A, De Lorenzo A, Micari P, Di Renzo L, Ciappellano S, Sarullo V, Galvano F. "Survey of the occurrence of Aflatoxin

M1 in ovine milk by HPLC and its confirmation by MS". *Mol Nutr Food Res*; 50 (3): 300-5, 2006.

Choi SW & Mason JB "Folate and carcinogenesis: an integrated scheme". *J Nutr* 130: 129-132, 2000.

Costacou T et al. "Seguendo la dieta mediterranea attraverso il principale componenti ed analisi della serie di ingrannaggi nella popolazione greca" *EJCN*; 57 (11): 1378-85, 2000.

Chrysohoou C et al. "Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: the ATTICA study. *Journal of the American College of Cardiology*"; 44: 152-8, 2004.

De Bree A, Verschuren WM, Kromhout D, Kluijtmans LA, Blom HJ. "Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease". *Pharmacological Review* 54: 599-618, 2002.

De Lorenzo A, Barra PF, Sasso GF, Battistini NC, Deurenberg P. "Body impedance measurements during dialysis." *Renal Physiology*; 17: 326-332, 1991.

De Lorenzo A, Deurenberg P, Andreoli A, Sasso GF, Palestini M, Docimo R. "Multifrequency impedance in the assessment of body water losses during dialysis." *Renal Physiol Biochem*; 17: 326-332, 1994.

De Lorenzo A, Candeloro N, Andreoli A, Deurenberg P. "Determination of intracellular water by multifrequency bioelectrical impedance." *Ann Nutr Metab*, 39: 177-184, 1995.

De Lorenzo A, Andreoli A, Matthie J, Withers P. "Predicting body cell mass with bioimpedance by using theoretical methods: a technological review". *J Appl Physiol*; 82 (5): 1542-58, 1997.

De Lorenzo A, Andreoli A, Sorge RP, Iacopino L, Montagna S, Promenzio L, Serranò P. "Modification of dietary habits (Mediterranean diet) and cancer mortality in a southern Italian Village from 1960 to 1996." *Ann N Y Acad Sci.*; 889: 224-229, 1999.

De Lorenzo A, Andreoli A, Bertoli S, Testolin G, Oriani G, Deurenberg P. "Resting metabolic rate in Italians: relation with body composition and anthropometric parameters". *Acta Diabetol*; 37: 77-81, 2000.

De Lorenzo A, Andreoli A, Battisti P, Talluri T, Yasumura S. "Total body capacitance correlates with total body potassium." *Annals of the New York Academy of Sciences*; 904: 259-263, 2000.

De Lorenzo A, Tagliabue A, Andreoli A, Testolin G, Comelli M, Deurenberg P. "Measured and predicted resting metabolic rate in Italian males and females, aged 18-59 y." *Eur J Clin Nutr*; 54: 208-214, 2001.

De Lorenzo A, Alberti A et al. "Food Habitus in a southern Italian town (Nicotera) in 1960 and 1996: Still a reference Italian Mediterranean diet?" *Diab Nutr Metab* 14: 121-125, 2001.

De Lorenzo A et al. "Composizione corporea e metodi di misura." Barasi: Nutrizione e salute, Cap. 18: 373-402, EMSI 2003.

De Lorenzo A, di Renzo L et al. "Working Paper 2: Nutrire per prevenire. Quali nuovi indicatori di rischio nutrizionale?", 2006.

De Lorenzo et al. "Normal weight obese (NWO) women: an evaluation of a candidate new syndrome". *Nutr Metab Cardiovasc Dis*; 16 (8): 513-23, 2006.

De Lorenzo A, Del Gobbo V et al. "Normal-weight obese syndrome: early inflammation?" *Am J Clin Nutr*; 85 (1): 40-5, 2007.

De Lorgeril M. "'The Mediterranean-style diet'. Is it ideal for the modern world?" *Asia Pac J Clin Nutr*; 13 (suppl): S18, 2004.

Dell'Agli M, Busciala A, Bosisio E. "Vascular effects of wine polyphenols". *Cardiovasc Res*; 63: 593-602, 2004.

Di Renzo L et al. "Normal Weight Obese syndrome: role of single nucleotide polymorphism of IL-1 5Ralpha and MTHFR 677C ->T genes in the relationship between body composition and resting metabolic rate." *Eur Rev Med Pharmacol Sci*; 10 (5): 235-45, 2006.

Di Renzo L. et al. "Is antioxidant plasma status in humans a consequence of antioxidant food content influence?" *Eur Rev Med Pharmacol Sci*; 11: 185-192, 2007.

Durga J, van Boxtel MP, Schouten EG, Kok FJ, Jolles J, Katan MB, Verhoef P, Effect of 3-year folic acid supplementation on cognitive function in older adults in the FACIT trial: a randomised, double blind, controlled trial. *Lancet*; 20; 369 (9557): 208-16, 2007.

Ehrlich M. "DNA methylation in cancer: too much, but also too little". *Oncogene*; 21: 5400 -5413, 2002.

Farchi G, Fidanza F, Grossi P, et al. "Relationship between eating patterns meeting recommendations and subsequent mortality in 20 years" *Eur J Clin Nutr*; 49: 408-419, 1995.

Farchi G, Fidanza F, Mariotti S, Menotti A. "Is diet an independent risk factor for mortality 20-year mortality in the Italian rural cohorts of the Seven Countries Study." *Eur J Clin Nutr*; 48: 19-29, 1994.

Fidanza F. "Changing patterns of food consumption in Italy." *J Am Diet Ass*; 77: 133-137, 1980.

Fidanza F. "The Mediterranean diet in the prevention of coronary heart disease." *Diab Nutr Metab*; 1: 169-173, 1988.

Fidanza F. "Who remembers the true Italian Mediterranean diet?" *Diab Nutr Metab*; 14: 229-120, 2001.

Fraser GE. "Associations between diet and cancer, ischemic heart disease, and all cause mortality in non-Hispanic white California Seventh-day Adventists". *Am J Clin Nutr*; 70 (3 Suppl): 532S-538S. 1999.

Garritano S, Pinto B, Giachi I, Pistelli L, Reali D. "Assessment of estrogenic activity of flavonoids from Mediterranean plants using an in vitro short-term test." *Phytomedicine*; 12 (1-2): 143-7, 2005.

Gerber M, "The RIVAGE intervention study on Mediterranean diet and risks for coronary heart disease", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases

Goelz SE, Vogelstein B, Hamilton SR, Feinberg AP. "Hypomethylation of DNA from benign and malignant human colon neoplasms". *Science*; 228: 187-190, 1985.

Gordon T. "The diet-heart idea: outline of a history". *Am J Epidemiol*; 127: 220-225, 1988.

Hu FB, Willett WC. "Optimal Diets for Prevention of Coronary Heart Disease". *JAMA*; 288: 2569-2578, 2002.

Kipnis V, Midthune D et al. "Empirical evidence of correlated biases in dietary assessment instruments and its implications". *Am J Epidemiol*; 153: 394-403, 2001.

Kushi LH, Lenart EB, Willett WC. "Health implications of Mediterranean diets in light of contemporary knowledge. 1. Plant foods and dairy products." *American Journal of Clinical Nutrition*; 61 (Suppl): 1407S-15S; 1995.

Laird PW, Jackson-Grusby L, Fazeli A, Dickinson SL, Jung WE, Li E, Weinberg RA, Jaenisch R. "Suppression of intestinal neoplasia by DNA hypomethylation". *Cell* 81: 197-205, 1995.

Lairon D, "Diet and genes : interactions in the aetiology of chronic diseases", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases.

Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign, IL: *Human Kinetics*, 1998.

Martinez-González MA, Sánchez-Villegas A. "The emergine role of Mediterranean diets in cardiovascular epidemiology monounsaturated fats, olive oil, red wine or the whole pattern?" *European Journal of Epidemiology*; 19: 9-13, 2004.

Menotti A, Kromhout D, Blockburn H, Fidanza E, et al. Food intake pattern and 25-years mortality from coronary art disease. Cross- cultural correlation in the Seven Countries Study". *Eur J Epidemiol*; 15: 507-515, 1999.

Naska A, "Mediterranean diet at present", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases.

Ninfali P, et al. "Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition*; 93: 257-66, 2005.

Organizzazione Mondiale della Sanità Dieta, nutrizione e prevenzione delle malattie croniche. Quaderni di sanità pubblica, anno 26, settembre 2003.

Ortega RM,et al. "Improvement of cholesterol levels and reduction of cardiovascular risk via the consumption of phytosterols." *British Journal of Nutrition*; 96 (Suppl): 89S-93S, 2006.

Panico AM, Cardile V, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle G. "Protective effect of Capparis spinosa on chondrocytes." *Life Sciences*; 77: 2479-88, 2005.

Parodi E, De Lorenzo A. "Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases", Geneva, *WHO Technical Report Series*; 916: 1-149, 2003.

Ping Y, Melnyk S, Pogribna M et al "Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-Adenosylhomocysteine and Lymphocyte DNA hypomethylation". *The journal of biological chemistry*; 38: 29318-29323, 2000.

Pitsavos C, Panagiotakos DB, Antonoulas A, Zombolos S, Kogias Y, Mantas Y, et al, "Greek Study of Acute Coronary Syndromes Study Investigators. Epidemiology of acute coronary syndromes in a Mediterranean country; aims, design and baseline characteristics of the Greek study of acute coronary syndromes (GREECS)". *BMC Public Health*; 5: 23, 2005.

Psaltopoulou T, Naska A, Orfanos P, Trichopoulos D, Mountokalakis T, Trichopoulou A. "Olive oil, the Mediterranean diet, and arterial blood pressure: the Greek European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study." *American Journal of Clinical Nutrition*; 80: 1012-8, 2004.

Riboli E, "Consumption of fruits and vegetables and prevention of cancers of the digestive tract : result of EPIC study", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases.

Riboli E, Hunt KJ, et al. "European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): study populations and data collection." *Public Health Nutr*; 5 (6B): 1113-24, 2002.

Riccardi G, Capaldo B, Vaccaro O. "Functional foods in the management of obesity and type 2 diabetes." *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*; 8: 630-5; 2004.

Robertson RM, Smaha L. "Can a Mediterranean style diet reduce heart disease?". *Circulation*; 103: 1821-1822, 2001.

Ruan E., Teng Jin Ong "Science, medicine, and the future: nutritional genomics". *BMJ*; 324: 1438-1442, 2002.

Schatzkin A, "Fibers and cancer prevention"; EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases.

Singh RB, Dubnow G, Niaz MA, et al. "Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary heart disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomized single blind trial". *Lancet*; 360:1455-1461, 2002.

Schroder H, et al. "Adherence to the traditional Mediterranean diet is inversely associated with body mass index and obesity in a Spanish population." *Journal of Nutrition*; 134: 3355-61; 2004.

The First Action Plan for Food & Nutrition Policy. WHO European region 2000-2005. World Health Organization, 2001.

Trichopoulos A, Costacou, Bamia C, Trichopoulos D, "Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population", *New England journal of medicine*, 2003.

Trichopoulos D, Laggiou P. "Mediterranean diet and cardiovascular epidemiology." *European Journal of Epidemiology*; 19: 7-8, 2004.

TRICHOPOULOU A, "Components of the mediterranean diet", EGEA International Conference on Health Benefits of Mediterranean diet, *Highlights on Cancer & Cardiovascular Diseases*.

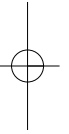
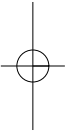
Trichopoulou A ed altri, "Dieta e sopravvivenza generale in gente anziana". *BMJ*; 311: 1457-60, 1995.

Willett W, Stampfer M, Chu N, Spiegelman D, Holmes M, Rimm E. "Assessment of questionnaire validity for measuring total fat intake using plasma lipid levels as criteria". *Am J Epidemiol*; 154: 1107-12, 2001.

Willett W. Nutritional epidemiology. 2<sup>nd</sup> ed. New York, *Oxford University Press*, 1998.

Wolk A, Furuheim M, Vessby B. "Fatty acid composition of adipose tissue and serum lipids are valid biological markers of dairy fat intake in men". *J Nutr*; 131: 828-33, 2001.

Wolk A, Vessby B, Ljung H, Barrefors P. "Evaluation of a biological marker of dairy fat intake". *Am J Clin Nutr*; 68: 291-5, 1998.



Finito di stampare nel mese di febbraio 2009  
dalla STILGRAFICA s.r.l.  
00159 Roma - Via I. Pettinengo, 31/33

