

# LO SVILUPPO DEL GUSTO E LA VALUTAZIONE DEI FABBISOGNI NUTRIZIONALI NEI PRIMI ANNI DI VITA

*Dr. Massimo Agosti  
Dr.ssa Maria Elena Lorenzetti*

# INDICE DEL CORSO

- **Riassunto**
- **Introduzione**
- **Anatomia del gusto**
  - Il sistema gustativo
  - L' olfatto
  - La trasmissione nervosa del gusto e dell'olfatto
- **Fisiologia del gusto**
  - Il significato biologico dei gusti principali
  - Meccanismi di ricezione e trasduzione dei segnali
  - Il gusto dolce
  - Il gusto umami
  - Il gusto amaro
  - I gusti salato e acido
- **La genetica del gusto**
  - Il TAS2R38
  - La gustina
- **L'epigenetica del gusto**
  - Dal feto alla prima infanzia
  - La variabilità della sensazione gustativa
  - La neofobia, ovvero la paura di ciò che è nuovo
  - Cosa condiziona preferenze e avversioni
- **Programming metabolico, imprinting ed epigenetica**
- **Lo stress ossidativo**
  - Premessa
  - I Radicali Liberi
  - Lo Stress Ossidativo
  - Il Sistema Antiossidante Endogeno
- **Nutrigenomica e nutrigenetica**
- **Il ruolo del microbiota intestinale**
  - Lo sviluppo del microbiota
  - La funzione del microbiota
  - Prebiotici

- **probiotici**
- **Ruolo epigenetico del latte materno**
- **La prevenzione delle “Non-Communicable Diseases” (NCD)**
- **Dalla teoria alla pratica: take home messages**
- **Bibliografia**

## Riassunto

Inquinamento ambientale ed errati stili di vita possono alterare l'omeostasi del nostro organismo a vari livelli e in diversi modi creando una situazione di stress ossidativo e influenzando la modalità di espressione di un gene (modificazioni epigenetiche).

Queste modifiche, pur non alterando direttamente l'informazione contenuta in un gene, non solo ne modulano l'attività, ma sono anche ereditabili. Il profilo epigenetico di un individuo si definisce durante la vita intrauterina e si rimodella nei diversi tipi cellulari in funzione dello stile di vita.

L'esposizione nutrizionale e metabolica (programming) durante alcuni periodi definiti critici può determinare un effetto a lungo termine sulla salute. Tutto ciò è supportato sia da evidenze epidemiologiche che da trials clinici.

La determinazione di una causalità e/o associazione tra esposizione precoce dietetica e futuri parametri per la salute è oggetto di numerosi studi e la comprensione dei meccanismi del programming metabolico può ulteriormente contribuire alla prevenzione di una serie di patologie inquadrabili nel gruppo delle cosiddette “Non-Communicable Diseases” (NCD).

Ad esempio, vi è una evidenza crescente che elevati intake proteici durante i primi anni di vita costituiscono un fattore di rischio per il futuro sviluppo di sovrappeso e obesità.

Ma anche per altri parametri nutrizionali, pare che la finestra dei primi 1000 giorni di vita giochi un ruolo fondamentale sulle prevenzione della salute in età giovanile e adulta.

Di qui la pubblicazione nel 2014 della quarta revisione dei fabbisogni nutrizionali (LARN) in età pediatrica che rappresenta un utile strumento per la ricerca e la pianificazione dello sviluppo nutrizionale.

All'interno di questo contesto, assume particolare importanza l'educazione al gusto.

Alla nascita il gusto è il più importante e il più sviluppato di tutti i sensi ed il neonato mostra delle preferenze innate per il gusto dolce, ma già tra i 14 e i 180 giorni di vita si osserva un cambiamento nei confronti dei diversi sapori.

Il latte materno (che contiene i numerosi aromi che la madre assume con la dieta), infatti, influenza le preferenze di gusto anche in età più avanzata.

In altre parole, la percezione gustativa è determinata geneticamente, ma può essere fortemente modificata dall'esperienza: quando si cresce si acquisiscono preferenze verso alimenti che ci sono totalmente sgraditi quando siamo piccoli.

Nello svolgimento del corso verranno spiegati i meccanismi fisiopatologici e le reazioni biochimiche che stanno alla base della infiammazione cronica e quali possono essere gli interventi precoci che possiamo mettere in atto per contrastare tali processi.

Il corso, inoltre, si propone di migliorare, ampliare e approfondire le conoscenze teoriche sui fabbisogni nutrizionali dei primi anni di vita, sulla fisiologia del gusto e sull'importanza degli stimoli ambientali nel modificare la componente genetica nella determinazione delle preferenze alimentari.

Non vi è ormai dubbio che le esperienze gustative del feto e del bambino tendono a condizionare le scelte alimentari in età adulta.

Una buona conoscenza teorica dei meccanismi fisiopatologici alla base di questi condizionamenti permetteranno al medico di mettere in atto le migliori strategie operative in campo nutraceutico per la gestione del fabbisogno nutrizionale del paziente pediatrico.

La comunicazione e l'educazione del bambino e della sua famiglia riguardo questo argomento rivestono un ruolo centrale nella prevenzione di disturbi alimentari, allergie, diabete tipo 2, dislipidemie, obesità, malattie cardiovascolari e forme tumorali in età adulta (NCD).

# Introduzione

Inquinamento ambientale ed errati stili di vita possono alterare l'omeostasi del nostro organismo a vari livelli e in diversi modi creando una situazione di stress ossidativo e influenzando la modalità di espressione di un gene (modificazioni epigenetiche).

Queste modifiche, pur non alterando direttamente l'informazione contenuta in un gene, non solo ne modulano l'attività, ma sono anche ereditabili. Il profilo epigenetico di un individuo si definisce durante la vita intrauterina e si rimodella nei diversi tipi cellulari in funzione dello stile di vita.

L'esposizione nutrizionale e metabolica (programming) durante alcuni periodi definiti critici può determinare un effetto a lungo termine sulla salute. Tutto ciò è supportato sia da evidenze epidemiologiche che da trials clinici.

La determinazione di una causalità e/o associazione tra esposizione precoce dietetica e futuri parametri per la salute è oggetto di numerosi studi e la comprensione dei meccanismi del programming metabolico può ulteriormente contribuire alla prevenzione di una serie di patologie inquadrabili nel gruppo delle cosiddette “Non-Communicable Diseases” (NCD).

# Anatomia del gusto

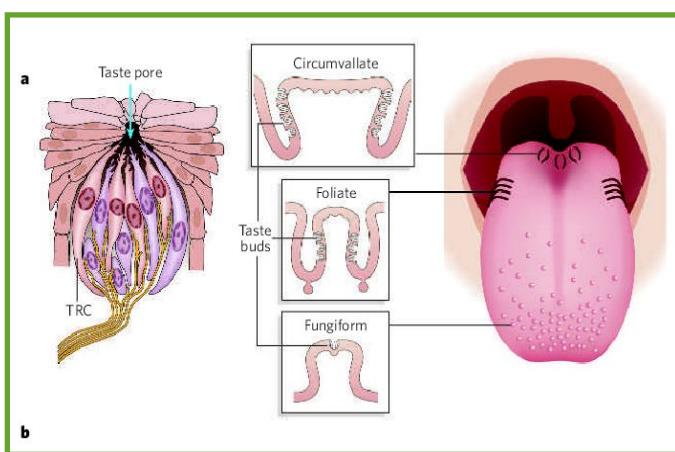
## Il sistema gustativo

I recettori gustativi o cellule gustative sono cellule epiteliali specializzate organizzate in strutture dette bottoni gustativi, localizzati soprattutto sulla superficie superiore della lingua. Essi si trovano anche nella mucosa del palato, a livello dell'epiglottide, della faringe e della laringe e del terzo superiore dell'esofago.



I calici gustativi vengono costantemente rimpiazzati approssimativamente ogni 10-12 giorni; sono molto simili in dimensioni e forma, raggiungendo circa i 20-40 µm di diametro e circa 40-60 µm di lunghezza.

Nell'uomo sono circa 10.000; questo numero rimane pressoché costante fino all'età di 45 anni, e successivamente si riduce: prima scompaiono quelli della parte media e del dorso della lingua e poi quelli della punta.



I bottoni gustativi della lingua sono incastonati in sporgenze epiteliali chiamate papille gustative che si distinguono in tre differenti tipi: fungiformi, foliate e vallate.

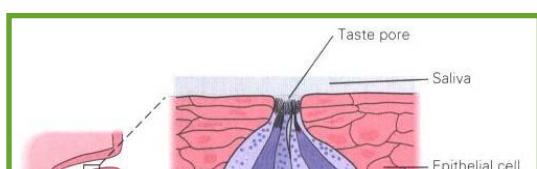
Le papille fungiformi, circa 200 nell'uomo, sono situate nei due terzi anteriori della lingua e ognuna di esse

contiene mediamente 10 boccioli gustativi.

Le papille foliate sono localizzate nella parte posteriore e laterale della lingua; ognuna di queste è costituita da diversi lembi (foliae) contenenti numerosi boccioli gustativi.

Le papille vallate, circa 10, si trovano tra la porzione orale e quella faringea della lingua. Altre papille linguali, chiamate papille filiformi, non hanno funzione gustativa.

Il bottone gustativo è un aggregato ovalare di cellule epiteliali caliciformi modificate (circa 50 per ogni bottone) distinguibili in 4 tipi cellulari, munito di una piccola apertura a forma di poro verso la superficie della mucosa.



Le cellule di tipo I sono le più frequenti e presentano assoni ed altre cellule inguainati come succede per le cellule gliali. Queste cellule sono caratterizzate dalla presenza di grandi granuli apicali e sono ampiamente considerate come elementi di supporto e di secrezione.

Le cellule di tipo II sono elementi fusiformi che non posseggono granuli o sinapsi e appaiono quindi luminose al microscopio. La funzione di queste cellule viene ancora molto dibattuta, ma vengono generalmente considerati elementi chemosensoriali o di secrezione.

Le cellule di tipo III presentano processi apicali e basali che creano sinapsi con gli assoni. Queste cellule vengono generalmente considerate come elementi sensoriali del gusto.

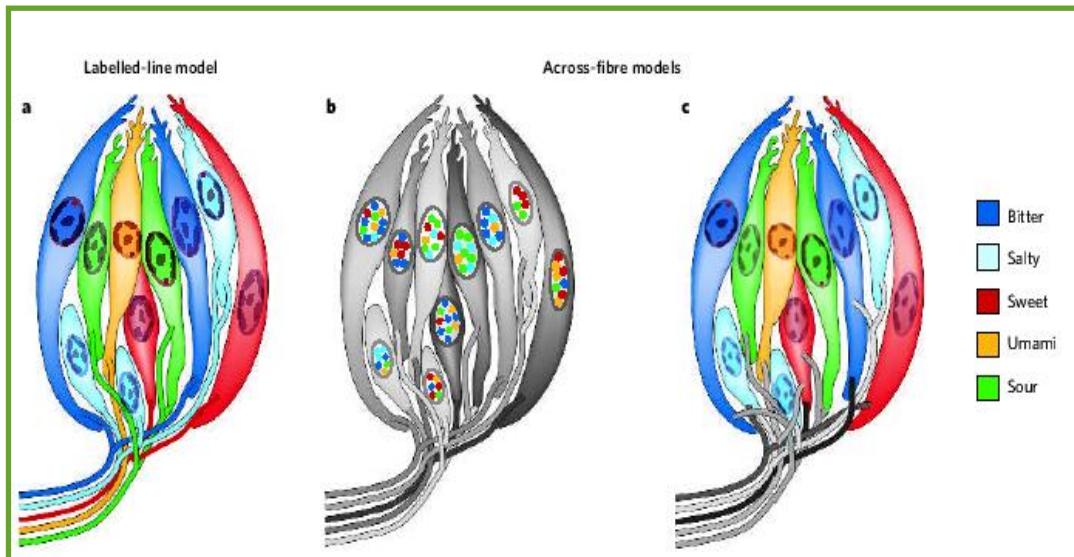
Le cellule di tipo IV sono elementi poco differenziati localizzati alla base dei calici gustativi, che vengono considerati come cellule staminali del calice stesso.

La porzione apicale delle cellule gustative primarie è dotata di microvilli ed entra in contatto con la saliva che bagna la superficie epiteliale mediante un canalicolo (poro gustativo).

Tramite la porzione basale, invece, i recettori gustativi stabiliscono contatti sinaptici di tipo chimico con le terminazioni di fibre afferenti primarie.

Ogni fibra innerva numerosi bottoni anche in zone dell'epitelio linguale molto distanti tra loro e, nello stesso bottone, diversi recettori. Allo stesso tempo, ogni recettore gustativo è innervato da più fibre afferenti.

Ci sono due principali ed opposti punti di vista su come le differenti modalità gustative vengono codificate alla periferia: il modello a marcatura lineare (labelled-line model) e i



modelli a fibre incrociate (across-fibre models).

Nel primo modello, le cellule recettoriali gustative (taste receptor cells, TRCs) sono specializzate nel rispondere a singole modalità gustative e sono innervate da fibre nervose individuali dedicate. In parole poche, ogni gusto viene percepito da cellule, esprimenti recettori specializzati, e trasdotto da fibre non sovrapponibili.

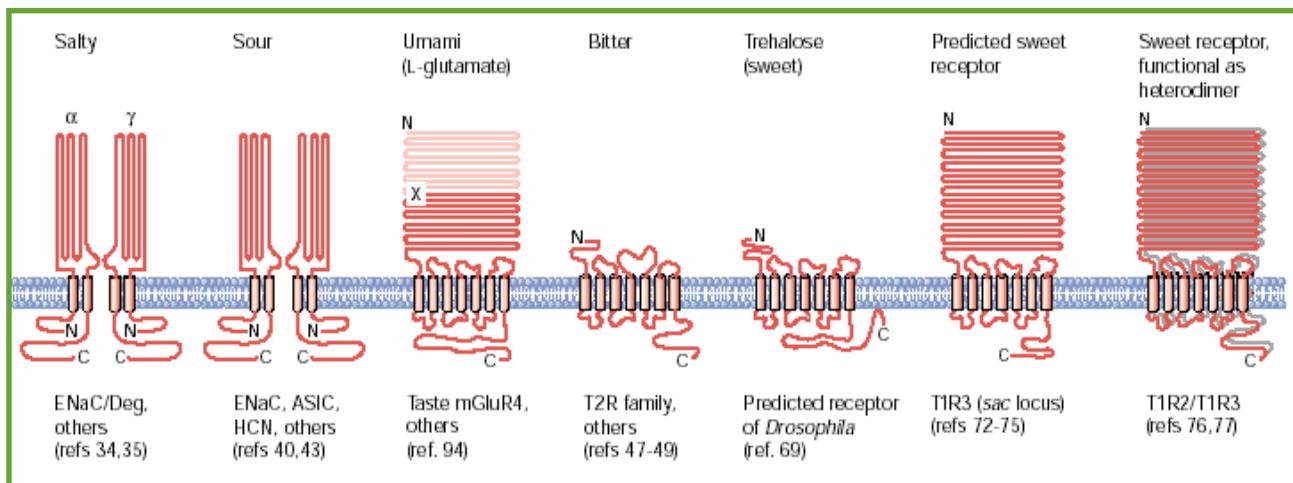
Nell'altra classe di modelli, prevalentemente riconosciuti come più corretti negli ultimi due decenni, sembra che TRCs individuali siano sintonizzabili su modalità gustative multiple incrociate e che le stesse fibre afferenti trasportino informazioni riguardanti più di un'modalità, oppure che le TRCs percepiscano singole modalità gustative, ma le stesse fibre afferenti trasportano informazioni gustative multimodali.

Recenti studi molecolari e funzionali in topo hanno dimostrato che TRCs differenti fra loro definiscono le varie modalità gustative, e che l'attivazione di un singolo tipo di TCR sia sufficiente per codificare il corrispondente gusto; dati questi a supporto del "labelled-line model", ma con fibre afferenti che contattano le TRCs specializzate su una singola modalità gustativa e che trasportano informazioni multimodali.

Le cellule basali costituiscono una popolazione di cellule staminali che garantisce il ricambio dei recettori gustativi (il ciclo vitale delle cellule gustative mature è di circa dieci giorni, nei mammiferi).

I microvilli dei recettori gustativi sono la sede della trasduzione degli stimoli. Nel poro gustativo, le sostanze disciolte nella saliva entrano in contatto con la porzione apicale della membrana delle cellule gustative. I meccanismi di ricezione e di trasduzione avvengono con modalità diverse a seconda della natura chimica della sostanza.

I recettori del gusto percepiscono i cinque gusti base (salato, acido, dolce, amaro ed umami), ma anche un vasto range di altri gusti, che non sono descritti dalle categorie di



base (metallico, piccante, elettrico).

I recettori del gusto sono proteine transmembrana in grado di connettere l'esterno della cellula gustativa a contatto con la cavità buccale con l'interno della cellula nella quale, in seguito all'attivazione del recettore stesso, avvengono altri cambiamenti che generano lo stimolo nervoso che viene poi trasmesso al cervello.

Ci sono due tipi di recettori transmembrana importanti per il gusto, che differiscono nel modo in cui il segnale è trasmesso all'interno della cellula e tradotto in stimolo nervoso: i canali ionici e i recettori accoppiati a proteine G, generalmente indicati come GPCR (G Protein-Coupled Receptor).

Un canale ionico può essere esemplificato come un cancello che può aprirsi lasciando passare specifici ioni in accordo con il loro gradiente di concentrazione (cioè da dove sono più concentrati a dove sono meno concentrati). In seguito all'accumulo di questi ioni dentro la cellula si ha una cascata di reazioni che porta alla liberazione di neurotrasmettitori, i quali raggiungono i neuroni che, infine, trasmettono il segnale al cervello.

Appartengono a questa classe il recettore per il salato (sensibile allo ione Na<sup>+</sup>) e il recettore per l'acido (sensibile allo ione H<sup>+</sup>).

Nel caso del salato sono stati suggeriti diversi possibili recettori, ma a tutt'oggi l'identità del recettore del gusto salato è ancora speculativa e controversa.

Recenti studi hanno identificato un canale ionico del tipo TRP (Transient Receptor Potential) come possibile recettore per l'acido.

Maggiori sono le informazioni e le evidenze circa i recettori di dolce, amaro e umami, che appartengono alla classe delle GPCR.

Queste proteine formano nella cellula degli aggregati complessi: al legarsi di un composto sapido un enzima si attiva producendo un secondo messaggero all'interno della cellula gustativa. In questo caso è il cambiamento di concentrazione del secondo messaggero a provocare la cascata di reazioni che porta alla liberazione di neurotrasmettitori e quindi alla generazione dello stimolo nervoso.

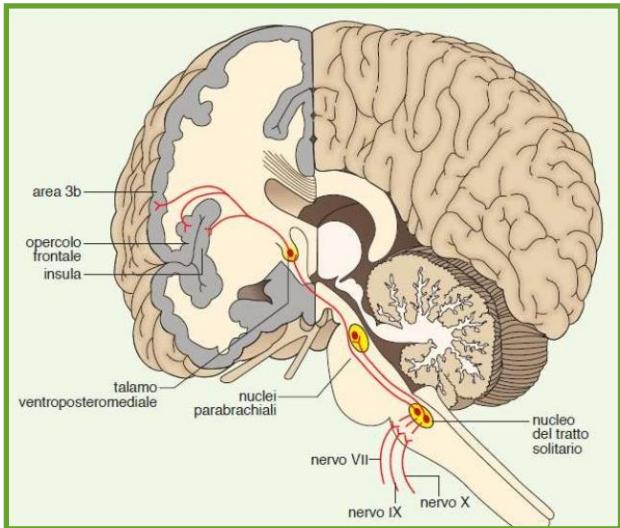
Per quanto riguarda il gusto dolce, a oggi è stato identificato un solo recettore formato da due proteine (T1R2 e T1R3), che solo quando formano un dimero (quindi una supermolecola formata dalle due subunità T1R2 e T1R3) sono in grado di rispondere a tutte le sostanze dolci con cui il recettore è stato testato.

Il recettore del gusto umami è anch'esso un dimero, in analogia con quello del sapore dolce, con il quale ha una subunità in comune.

Infatti il recettore dell'umami è costituito da T1R1 e T1R3. I composti in grado di stimolare questo recettore nell'uomo non sono molti: l'L-glutammato e l'L-aspartato.

Anche nucleotidi purinici quali IMP e GMP (inosina-5'-monofosfato e guanosina-5'-monofosfato) hanno un blando gusto umami ma soprattutto esercitano una notevole sinergia con l'L-glutammato, fatto scoperto e utilizzato dall'industria alimentare per la formulazione dei dadi ben prima dell'identificazione del recettore specifico.

Per il gusto amaro sono stati identificati circa 25 recettori appartenenti alla classe delle GPCR, indicati con T2R, con un corto dominio extracellulare. Questi recettori sono alquanto diversi tra loro, con una variabilità negli amminoacidi che li compongono che va dal 10% al 75%. È proprio questa variabilità che consente a solo 25 recettori di rispondere



a migliaia di composti amari strutturalmente diversi (ogni recettore risponde a un certo numero di composti). I vari recettori probabilmente usano anche diversi sistemi per tradurre la risposta sensoriale in stimolo nervoso.

## L'olfatto

I recettori dell'olfatto risiedono nell'epitelio olfattivo del setto nasale, nel turbinato superiore, e nella volta della cavità nasale. I neuroni bipolari ciliati o cellule recettoriali olfattive, che vengono sostituiti approssimativamente ogni 15-60 giorni, sono connessi al bulbo olfattivo attraverso il nervo olfattivo a cui giungono attraversando la lamina cribiforme. La trasduzione del segnale inizia nei neuroni periferici, quando la sostanza stimolante viene inalata e trasportata o dissolta nelle secrezioni mucosali, ed il processo viene completato nel bulbo olfattivo.

## La trasmissione nervosa del gusto e dell'olfatto

Lo stimolo ricevuto dai recettori del gusto viene trasmesso per mezzo di tre nervi cranici: il VII (facciale, corda timpani e grande petroso), il IX (glossofaringeo) e il X (vago); poi attraversa il tratto del nucleo solitario e il talamo, fino alla corteccia e all'ipotalamo.

A differenza della funzione gustativa, un solo nervo cranico (I, nervo olfattivo) è responsabile di quella olfattiva. I neuroni olfattivi si aggregano a formare glomeruli nel bulbo olfattivo. L'informazione viene spedita e processata nel lobo piriforme, nell'ippocampo e nell'ipotalamo. Le cellule recettoriali olfattive, essendo esse stesse dei neuroni, a differenza di quelle gustative hanno tempi di turn over più lunghi.

Il nervo trigeminale (V nervo cranico) gioca un ruolo importante nelle sensazioni gustativa ed olfattiva attraverso la "chemiostesia", che permette l'identificazione di sostanze irritanti o velenose.

Le branche mascellare e mandibolare del V nervo cranico danno origine, nella cavità orale, ai nervi linguale, nasopalatino, palatino posteriore e buccale.

Il nervo trigeminale ha una funzione nocicettiva, principalmente nella regione anteriore della cavità orale, mentre il nervo glossofaringeo (IX nervo cranico) funziona come il principale recettore delle regioni posteriori. Parecchie terminazioni nervose libere risiedono anche nella mucosa orale e si trovano principalmente nella regione anteriore, nelle papille filiformi e intorno alla papilla circumvallata (vengono in minor misura ritrovate anche in qualsiasi altro tipo di papilla).

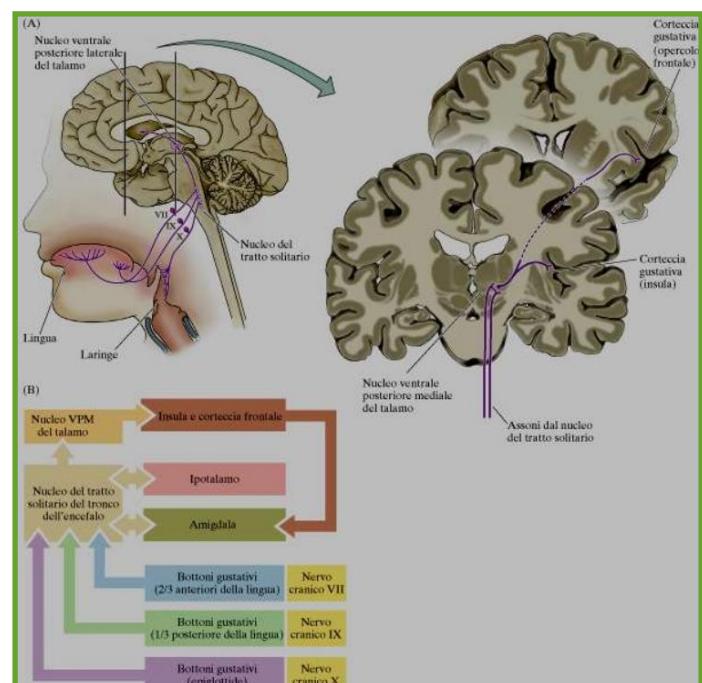
Il nervo laringeo superiore (branca del X nervo cranico o vago), che si divide principalmente in 5 sottobranche, innerva la laringe, l'esofago e l'epiglottide e sembra essere responsabile nel procurare l'informazione riguardante i cambi chimici nella mucosa della laringe. Questa informazione a sua volta è probabilmente molto importante per la protezione delle vie aeree e nel procurare l'input finale per l'inghiottimento o l'espulsione del bolo di cibo.

Le vie nervose afferenti della sensibilità gustativa sono costituite da fibre del nervo glossofaringeo (IX nervo cranico), per il terzo posteriore della lingua, e da fibre della chorda tympani, ramo del nervo facciale (VII nervo cranico), per i due terzi anteriori. I corpuscoli gustativi dell'epiglottide e della faringe sono innervati da fibre del nervo vago che originano dal ganglio nodoso. Ciascuna fibra nervosa innerva più di un bocciolo gustativo; inoltre, nell'ambito dello stesso bocciolo gustativo ogni fibra può innervare più cellule recettive. Tutte le fibre nervose

gustative raggiungono il bulbo per confluire nel nucleo del tratto solitario.

Le fibre gustative del facciale e quelle del glossofaringeo terminano nella parte superiore di questo nucleo; le fibre gustative del vago nella parte inferiore. Il nucleo del tratto solitario rappresenta il primo importante centro di integrazione della sensibilità gustativa. Nell'uomo, la maggior parte dei neuroni gustativi del nucleo del tratto solitario si pone in connessione tanto con il nucleo posteromediale del

talamo quanto con il giro postcentrale della corteccia cerebrale. Queste connessioni sono determinanti per la percezione gustativa e il riconoscimento dei sapori. Ulteriori proiezioni



riguardano l'amigdala e altre parti del sistema limbico, dove contribuiscono a determinare alcuni aspetti affettivi della sensazione gustativa (piacere, disgusto) e della sensazione di fame oppure, al contrario, di sazietà. Inoltre, la stimolazione gustativa, attraverso circuiti riflessi a carattere neurovegetativo, provoca secrezione della saliva, del succo gastrico e di altri succhi digestivi, attivando anche la motilità intestinale. In tal modo il gusto svolge una funzione importante, quantunque non indispensabile, nella digestione.

# Fisiologia del gusto

## Il significato biologico dei gusti principali

La maggior parte degli stimoli gustativi è costituita da molecole idrofile, non volatili, che includono sali, acidi, zuccheri, aminoacidi, e proteine. Il gusto di una sostanza è un caratteristico dipendente dalla sua composizione chimica.

Sorprendentemente, sebbene possano essere recepiti o “gustati” un numero molto vasto di entità chimiche, al momento viene generalmente accettato che qualitativamente vengano raggruppate in un numero inferiore di sensazioni gustative distinguibili: il dolce, l’amaro, l’acido, il salato e l’umami (o saporito).

La parola umami che deriva dal giapponese umai, delizioso, viene utilizzata per indicare il sapore del glutammato monosodico e attualmente costituisce una quinta qualità gustativa a se stante.

Il gusto salato è attivato da sali ionizzati, come il cloruro di sodio e ha la funzione di mantenere l’equilibrio elettrolitico.

Il gusto acido dipende dal pH della soluzione stimolante ha la funzione di monitorare il pH dell’organismo.

Il gusto dolce e quello amaro sono evocati da classi eterogenee di sostanze, la maggior parte delle quali di natura organica e hanno la funzione di assicurare le riserve energetiche il primo, e quella di evitare sostanze tossiche potenzialmente dannose per l’individuo il secondo.

In altre parole, la sensazione del gusto dolce permette l’identificazione di nutrienti ricchi in energia, quella dell’umami riconosce gli amminoacidi, quella del salato assicura un bilancio appropriato degli elettroliti, e quelle dell’amaro e dell’acido allertano contro l’ingestione di potenziali sostanze chimiche irritanti o velenose.

Tutto questo viene chiamato il significato biologico del gusto.

## Meccanismi di ricezione e trasduzione dei segnali

Ogni calice gustativo possiede dei recettori nella porzione apicale esposta alla cavità orale (il cosiddetto poro gustativo), ed un'area baso-laterale, ed è inserito nel muro delle cellule epiteliali. La porzione apicale dei calici gustativi dà inizio alla catena di eventi che porteranno alla sensazione gustativa. In questo processo, la saliva gioca un ruolo importante sia come diluente delle molecole gustative, per renderle accessibili nei pressi dei calici e per allontanarle da essi stessi, sia come agente protettivo per il gusto e per le cellule epiteliali, in quanto diluisce la sostanza ad una concentrazione stimolante.

La percezione gustativa fornisce informazioni sulle caratteristiche chimiche delle sostanze che vengono a contatto con le cellule gustative della mucosa orofaringea.

Le cellule gustative infatti rappresentano i recettori sensoriali gustativi capaci di interagire con le molecole chimiche disciolte nella saliva e di trasdurre il contenuto informativo dello stimolo chimico in segnali nervosi.

I gusti primari differiscono oltre che per la natura chimica dei composti in grado di evocarli, per i meccanismi di ricezione e di trasduzione dei segnali che si verificano a livello dei recettori gustativi.

I meccanismi di trasduzione come già detto sono diversi a seconda del tipo di sostanza chimica.

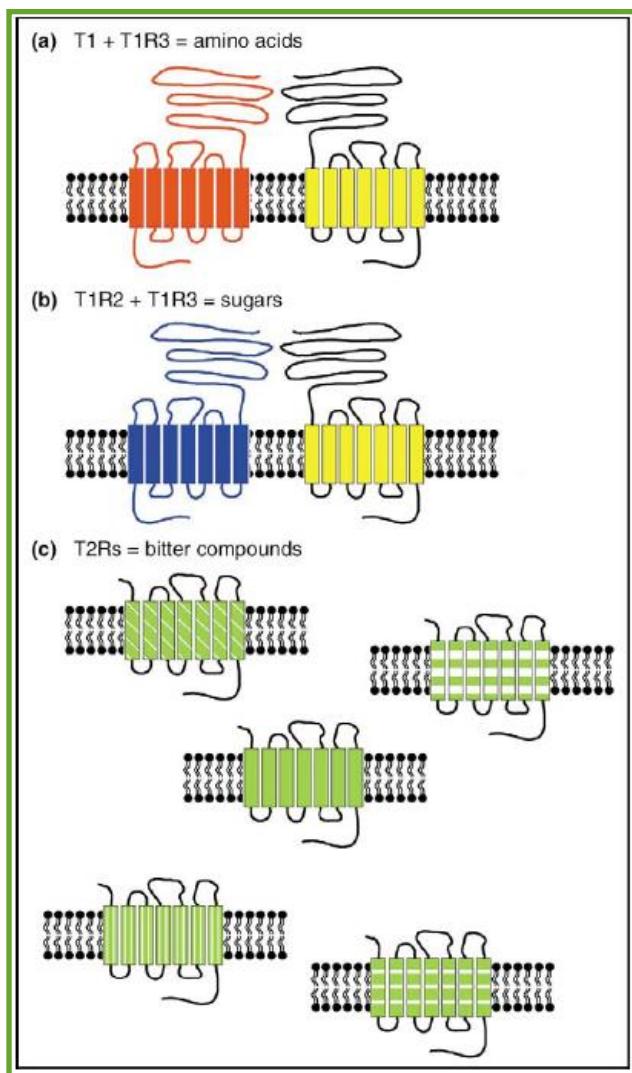
Ad esempio la stimolazione gustativa prodotta dall'NaCl è caratterizzata dal passaggio dello stesso ione attraverso canali ionici amiloride sensibili. Il canale amiloride sensibile è permeabile anche agli ioni H<sup>+</sup>, quindi la trasduzione delle sostanze che vengono percepite come aspre è dovuta ad un ingresso di questi ioni attraverso canali Na<sup>+</sup> sensibili all'amiloride.

Acido e salato, in relazione alle loro concentrazioni nella saliva, interferiscono in parte tra loro a livello periferico. Analogamente anche la trasduzione dei sali di K<sup>+</sup> potrebbe comportare l'ingresso di questi ioni attraverso i canali K<sup>+</sup> apicali.

Le differenze che si osservano nella capacità di percepire il gusto dei diversi sali di Na<sup>+</sup> potrebbero anche dipendere dalla diversa permeabilità dei rispettivi anioni attraverso le giunzioni strette e dalla conseguente diversa capacità di interessare i canali ionici localizzati a livello delle membrane basali laterali delle cellule gustative.

La trasduzione dei segnali evocati dai composti dal sapore dolce, umami, amaro comporta

l'attivazione di recettori transmembrana a sette domini ad alfa elica accoppiati a proteine G (GPCR) presenti sulla superficie apicale delle cellule gustative.



La ricezione degli stimoli chimici avviene grazie all'interazione di questi con proteine transmembrana a sette domini ad alfa elica che sono accoppiati a una proteina G eterotrimerica denominata gustoducina.

Queste proteine appartengono a due principali classi o famiglie: la famiglia TAS1R (T1R) e la famiglia TAS2R (T2R).

I recettori che interagiscono con molecole organiche che evocano la sensazione dolce e di umami appartengono a tre sottotipi T1R1 T1R2 T1R3 della famiglia di recettori T1R.

I recettori T1R eterodimerizzano per formare il recettore funzionante: il dimero

T1R1/ T1R3 costituisce il recettore per l' umami, mentre il dimero T1R2/ T1R3 per le sostanze dolci.

In alcuni casi le sostanze dolci si legano a omodimeri T1R2 e/o T1R3 che però mostrano una minore sensibilità.

Negli zuccheri, l'attivazione di questi recettori (GPCR) depolarizza le cellule gustative per attivazione dell'adenilato ciclasi, che a sua volta aumenta la concentrazione di cAMP che causa la chiusura diretta o indiretta dei canali del potassio presenti sulla membrana basale laterale.

I dolcificanti sintetici come la saccarina attivano recettori accoppiati a proteine G (GPCR) differenti, che a loro volta attivano la fosfolipasi C con formazione di inositolotrifosfato (IP3) e diacilglicerolo (DAG). Un aumento di IP3 fa aumentare la concentrazione intracellulare di Ca++, determinando il rilascio del trasmettitore. Un aumento del DAG attiva la proteina

chinasi "A" (PKA), che a sua volta fosforila e causa la chiusura dei canali K<sup>+</sup> della membrana basale laterale, amplificando in questo modo l'effetto.

Entrambe queste vie di percezione delle sostanze dolci possono coesistere nella stessa cellula gustativa.

Il gusto umami, verrebbe trasdotto da un particolare tipo di recettore metabotropico del glutammato che viene anche espresso in alcune regioni cerebrali. Le grosse molecole lipidiche sono scisse dalla lipasi linguale in molecole di minor peso molecolare, capaci di stimolare i recettori gustativi.

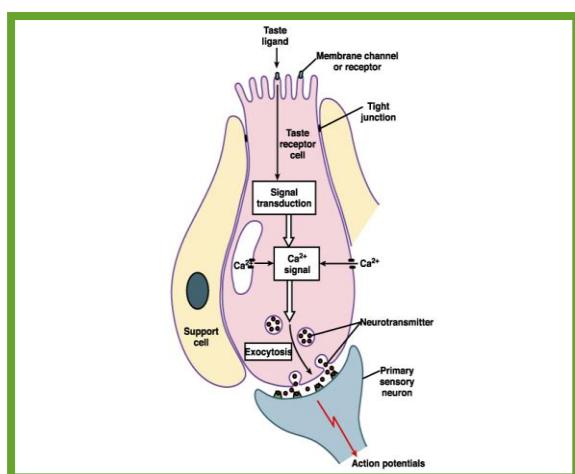
Inoltre, le membrane apicali dei bottoni gustativi contengono trasportatori degli acidi grassi, molecole che permettono l'entrata degli acidi grassi nelle cellule.

La presenza degli acidi grassi chiude il canale del potassio, normalmente aperto, depolarizzando la membrana.

Mentre circa 30 sono i recettori che interagiscono con le molecole che evocano l'amaro e appartengono alla famiglia dei T2R. Questi recettori non dimerizzano.

I composti dal sapore amaro comprendono molte classi chimiche distinte. Alcune di queste sono alcaloidi come il chinino che bloccando i canali al K<sup>+</sup> determina la depolarizzazione delle membrane. Altri come la caffèina, gli L-amminoacidi, l'urea e anche sali come l'MgSO<sub>4</sub> non utilizzano gli stessi recettori o le stesse vie di trasduzione del segnale.

I composti organici dal sapore amaro si legano tipicamente a recettori accoppiati a proteine G (GPCR) che attivano la gustducina (una proteina G presente nelle cellule gustative), che a sua volta attiva la fosfodiesterasi, riducendo la concentrazione di nucleotidi ciclici e causando la chiusura dei canali attivati dai nucleotidi ciclici presenti sulle membrane basali laterali delle cellule gustative.



La maggior parte dei meccanismi di trasduzione determina la depolarizzazione della membrana della cellula gustativa (potenziale del recettore), che a sua volta determina aumento della concentrazione di Ca<sup>++</sup> per apertura di canali voltaggio-dipendenti o per mobilizzazione da riserve intracellulari.

L'aumento del Ca<sup>++</sup> provoca l'esocitosi del

mediatore chimico e la conseguente trasmissione del segnale alle fibre afferenti gustative primarie.

Le fibre afferenti che convogliano le informazioni gustative alle strutture centrali appartengono a tre paia di nervi cranici (VII, IX, X) e possono avere funzioni diverse a seconda della loro provenienza dalle diverse parti della lingua.

Ogni fibra può rispondere, in genere, a 2, 3 o tutte e 4 le qualità gustative, anche se con intensità che sono differenti.

La porzione anteriore della lingua è innervata da un ramo del nervo facciale (corda del timpano VII). Infatti i bottoni gustativi delle papille fungiformi e delle papille fogliate, sono innervate da tale ramo. Gli assoni della corda del timpano si proiettano alla porzione anteriore della lingua insieme al nervo linguale (una diramazione della divisione mandibolare del V nervo), il quale porta l'innervazione somato-sensoriale dalla stessa area. La corda del timpano porta inoltre le fibre efferenti pregangliari parasimpatiche al ganglio submandibolare, per l'innervazione delle ghiandole salivari sublinguali e submandibolari. Un altro ramo sensoriale del facciale, il gran petroso superficiale (GSP), attraverso il nervo palatino minore, innerva i bottoni gustativi presenti sul palato molle e attraverso il nervo nasopalatino, quelle dei dotti nasoincisori.

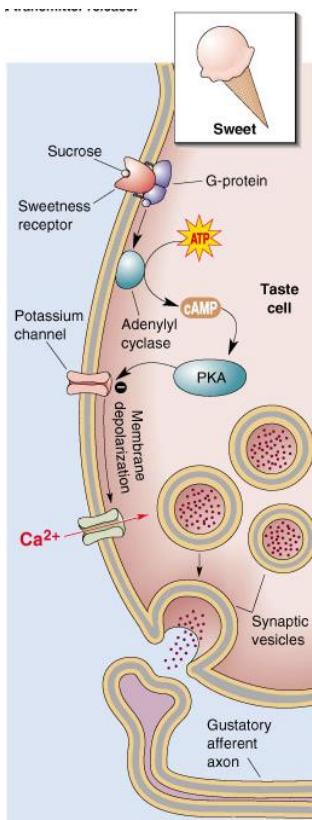
Inoltre il gran petroso superficiale contiene le fibre pregangliari parasimpatiche che giungendo nel ganglio pterigopalatino, sinaptano con le cellule postgangliari, che a loro volta innervano le ghiandole mucose del palato duro e molle. Le fibre sensitive del facciale originano dalle cellule a T del ganglio genicolato situato nel canale petroso del Falloppio. La sensibilità gustativa, attraverso i rami centrali e il nervo intermediario, viene veicolata al nucleo del tratto solitario del ponte (NST) che, rispondendo in maniera particolare a sostanze nutritive, assume il significato funzionale di nucleo gustativo.

## **Il gusto dolce**

La dolcezza dello zucchero e il piacere che provoca ci sono così familiari che sembrano essere più delle proprietà fisiche dello zucchero stesso, piuttosto che la rappresentazione del bombardamento neuronale nel cervello.

Questa stretta relazione tra qualità sensoriale, valore edonico positivo ed accettazione comportamentale, illustra bene come la rilevazione e la percezione del gusto dolce si sia

evoluta per aiutare nel riconoscimento delle fonti di energia metabolica basilari e fondamentali.



I gusti con modalità attrattive, dolce e umami, vengono guidati da una piccola famiglia di tre recettori accoppiati alla proteina G (GPCRs, G-protein-coupled receptors) T1R1, T1R2 e T1R3 che sono lontanamente relazionabili ai recettori metabotropici del glutammato, dei feromoni, del sensing del calcio extracellulare e degli acido- $\gamma$ -amminobutirrico di tipo B.

Questi GPCRs si assegnano sia in complessi recettoriali omodimerici che eterodimerici e sono caratterizzati dalla presenza di lunghi domini extracellulari ammino-terminali, che sembrano indirizzare il riconoscimento ed il legame del ligando (lo zucchero o L-amminoacido).

I recettori T1Rs sono espressi in subsetti di cellule TRCs coesprimenti il T1R1 ed il T1R3 (cellule T1R1+3), il T1R2 ed il T1R3 (cellule T1R2+3) e cellule TRCs contenenti solamente il T1R3.

Studi biochimici recenti sui recettori T1R2+3 dell'uomo, dei roditori e recettori chimerici uomo-roditore hanno dimostrato che diverse classi di ligandi del recettore del dolce attualmente richiedono differenti domini del complesso recettoriale per il riconoscimento di ciascun ligante, procurando così in modo semplice una soluzione alla possibile domanda su come un singolo complesso recettoriale possa rispondere ad un così ampio numero di composti percepibili come dolci (dai semplici zuccheri a 6 atomi di carbonio ai più complessi acido guanidinoacetico e ai numerosi peptidi e polipeptidi). Presi insieme tutti questi studi genetici, funzionali e biochimici convalidano ampiamente il ruolo delle subunità T1R2 e T1R3 nel riconoscimento degli stimoli gustativi dolci, e dimostrano l'enorme importanza dell'etero-dimerizzazione nel funzionamento del complesso recettoriale. Prove definitive, infine, che il recettore T1R2+3 è il principale recettore del gusto dolce nei mammiferi, sono state ottenute da studi su topi knockout per il T1r2 e il T1r3.

Mutanti omozigoti mancanti le due subunità mostravano una perdita devastante del gusto dolce: tutte le risposte comportamentali ed elettrofisiologiche ai dolcificanti artificiali, ai D-amminoacidi e alle basse o moderatamente alte concentrazioni (fino ai 300 mM) di

zuccheri naturali vengono abolite. In ogni caso, questi animali conservano delle piccolissime risposte, sebbene misurabili, alle concentrazioni altissime di zuccheri. Una cosa importante de riportare, è che il doppio knockout T1R2/T1R3 eliminava completamente le suddette risposte residue, dimostrando inequivocabilmente il ruolo essenziale dei T1Rs nella rilevazione e percezione del gusto dolce. Ad irrobustire, inaspettatamente, la tesi che i T1Rs sono fondamentalmente richiesti nella percezione del gusto dolce, ci ha pensato la recente scoperta che i gatti (cosiccome tutta la famiglia dei felidi dal gatto comune alla tigre) presentano una delezione naturale nel loro gene T1r2, dando una spiegazione molecolare alla sorprendente osservazione che i gatti non rispondono al dolce.

## **Il gusto amaro**

A differenza dei gusti dolce e umami, che si sono evoluti per riconoscere un numero limitato di nutrienti, il gusto amaro ha l'oneroso compito di prevenire l'ingestione di una grandissima quantità di composti tossici strutturalmente distinti.

Sorprendentemente, anche considerando la vastezza di questo repertorio, tutti questi composti evocano la stessa sensazione conosciuta come "amaro".

Queste osservazioni suggeriscono che i recettori del gusto amaro vengono probabilmente codificati da una grande famiglia genica, e che la sensazione dell'amaro si è evoluta per permettere il riconoscimento di un ampio spettro di composti chimici, ma non necessariamente per distinguerli uno dall'altro.

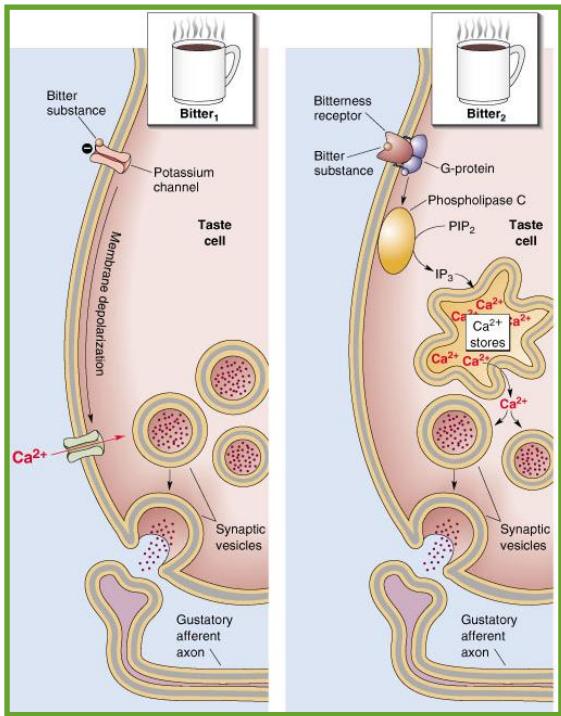
Il gusto amaro è mediato da recettori accoppiati a proteine G appartenenti alla sottofamiglia di TAS2R della membrana delle cellule gustative.

Questi recettori presentano 7 domini trans-membrana ad alfa elica e un residuo amminoacidico conservato.

L'uomo possiede circa 25 TAS2R recettori per l'amaro, codificati da clusters di geni localizzati sui cromosomi 5p, 7q, 12p; finora sono state identificate circa 550 molecole in grado di legarsi a questi recettori.

Tuttavia, questo numero rappresenta solo una piccola frazione delle migliaia di composti dal sapore amaro di origine vegetale che esistono in natura. Poiché il numero di composti supera notevolmente il numero di recettori, sembra probabile che i singoli recettori rispondono a più di un tipo di composto chimico dal sapore amaro.

E' noto infatti che esistono recettori che rispondono a un numero limitato di composti, altri che invece rispondono a una vasta gamma di sostanze chimiche. Il TAS2R8 è un esempio di recettore altamente selettivo per il quale sono noti solo 3 ligandi con strette analogie strutturali.



I recettori TAS2R10, -14 e -46 sono invece recettori altamente promiscui. Infatti, quando espressi su cellule, sono stati in grado di rispondere al 50 % dei composti amari provati.

Il recettore TAS2R38 che si lega al gruppo chimico N-C=S delle tiouree, come la feniltiocarbammide (PTC) e il 6-n-propiltouracile (PROP), viene considerato un recettore modestamente restrittivo ed è stato dimostrato in grado di rispondere anche a stimoli privi del gruppo N-C=S.

Le differenze individuali nella percezione gustativa dell'amaro sono ereditate

geneticamente e riflettono la ricca diversità allelica dei recettori TAS2Rs. Variazioni nella sequenza nel gene TAS2R19 è stata associata con le differenze nell'abilità a percepire il sapore amaro del chinino. Mutazioni nei geni TAS2R31 e TAS2R43 (in misura minore) possono essere responsabili per le risposte individuali al retrogusto amaro della saccarina e acesulfame-k (acesulfame potassico).

Inoltre, variazioni nella sequenza dei geni TAS2R16, TAS2R19 e l'aplo-blocco composto di TAS2R3, -4, -5 sono responsabili delle differenze individuali della percezione rispettivamente dell'alcool, del succo di pompelmo e del caffè.

La variabilità genetica nella sensibilità a sentire il sapore amaro delle tiouree come il PROP e la PTC, rappresenta il più studiato fenotipo del gusto amaro nell'uomo.

Le tiouree sono composti contenenti il gruppo chimico N-C=S responsabile del loro sapore amaro. Il gruppo chimico tiocianato è anche presente nei glucosinati e nelle goitri, sostanze comunemente trovate nelle crocifere ed in altre piante appartenenti alla famiglia delle Brassicacee. Le goitri hanno una potente proprietà antitiroidea e possono essere

tossiche quando consumate in grandi quantità in popolazioni ad alto rischio per deficienza tiroidea.

Una intrigante spiegazione per l'esistenza di questa caratteristica genetica nell'uomo, è che possa essere servita come meccanismo di adattamento evolutivo conseguente alle abitudini alimentari locali.

Un maggior rifiuto nei confronti delle Brassicacee sarebbe stato un meccanismo di vantaggio per la selezione di quegli individui con più elevata sensibilità per l'amaro. La diversa sensibilità gustativa nei confronti delle tiouree è nota da tempo e risale a quando accidentalmente Fox la scoprì mentre sintetizzava nel suo laboratorio dei dolcificanti. Alcune polveri di PTC si dispersero nell'aria provocando delle lamentele tra i suoi colleghi a causa del sapore amaro che sentivano sulle loro labbra mentre Fox invece non avvertiva nessun sapore. Prove successive rivelarono che il PTC era insapore per circa il 30% degli individui e moderatamente o intensamente amara per la maggior parte.

Gli individui possono essere definiti come "tasters" o "nontasters" sulla base della loro sensibilità al PROP e alla PTC. La frequenza dei "nontasters" varia largamente tra la popolazione, oscillando da un minimo del 7% ad un massimo del 40%.

Nella popolazione Caucasicia la frequenza dei "nontasters" è di circa il 30%. Una spiegazione intrigante di questa differente frequenza della sensibilità gustativa alle tiouree nelle diverse popolazioni, è stata suggerita per le popolazioni africane dove, l'alta frequenza delle persone con bassa sensibilità alle tiouree, risulterebbe dalla selezione per la resistenza alla malaria.

E' stato infatti ipotizzato che la bassa sensibilità, osservata in aree con malaria endemica, è la conseguenza del fatto che certi composti amari delle piante sono fattori di protezione contro la malaria. Per cui, nelle aree con malaria endemica, il beneficio che si ottiene dal consumo di piante amare, che normalmente vengono escluse come potenzialmente dannose, potrebbe superare il rischio di avvelenamento.

Successivamente gli individui "PROP taster" sono stati ulteriormente divisi in "supertaster" e "medium tester" sulla base della valutazione dell'intensità della sensazione evocata da soluzioni soprasoglia di PROP rispetto a quella evocata da soluzioni soprasoglia di NaCl . Bartoshuk fù il primo ad utilizzare il termine "supertasters" per distinguere gli individui che percepiscono il PROP come estremamente amaro da quelli che lo percepiscono come moderatamente amaro.

Numerosi lavori hanno messo in evidenza come i "supertasters" presentino una maggiore densità di papille fungiformi sulla superficie anteriore della lingua, quando comparati con gli altri gruppi.

Queste differenze anatomiche potrebbero parzialmente spiegare la più grande sensibilità gustativa dei "supertasters" nei confronti di una vasta gamma di stimoli gustativi, inclusi altri tipi di composti dal sapore amaro, sostanze dolci, sostanze irritanti (etanolo o chili), grassi e composti cremosi, ecc..

L'abilità a sentire il sapore amaro delle tiouree è associata agli aplotipi del gene TAS2R38 che derivano da tre singoli polimorfismi che risultano in tre sostituzioni aminoacidiche (Pro49Ala, Ala262Val, and Val296Ile).

Si conoscono due comuni aplotipi, la variante dominante PAV associata alla elevata sensibilità e la variante recessiva AVI associata a una bassa o nulla sensibilità alle tiouree. Altri aplotipi rari (AAV, AAI, e PVI) che presentano una sensibilità intermedia sono stati descritti limitatamente a specifiche popolazioni o in determinate aree geografiche (AAI popolazione sub-Sahariana).

Gli individui omozigoti o eterozigoti per la variante PAV sono in grado di sentire il sapore amaro delle tiouree anche a basse concentrazioni, mentre gli individui che sono completamente incapaci di sentire le tiouree e quelli che le sentono solo ad alte concentrazioni sono omozigoti per la variante AVI.

Alcuni studi hanno dimostrato che la presenza di due varianti PAV, rispetto alla condizione di eterozigosi non conferisce vantaggi addizionali nella percezione dell'intensità dell'amarevolezza di soluzioni soprasoglia di PROP.

Quindi, i genotipi del TAS2R38 non sono in grado di spiegare completamente le differenze oro-sensoriali tra individui "medium tasters" e "supertasters". I genotipi del TAS2R38 sono in grado di predire la maggior parte (55- 85%), ma non la totalità delle variazioni nel fenotipo del PROP, implicando che altri fattori epigenetici possano essere coinvolti nell'espressione di questo carattere genetico.

Diversi studi hanno riportato che i PROP "nontasters" rispetto ai "tasters" presentano una più bassa abilità nel riconoscere e percepire i grassi contenuti i cibi, mostrando una più alta accettabilità nei confronti di questi ultimi.

Questa interpretazione è supportata da altri risultati che affermano, per l'appunto, una minore accettabilità degli individui PROP-sensibili nei confronti di cibi ad alto contenuto di grassi, come la crema sbattuta, il gelato, le ciambelle, la maionese, il bacon e la salsiccia.

Esistono evidenze a favore del fatto che i “PROP nontaster” hanno un più alto indice di massa corporea (BMI) rispetto ai “taster”, ma esistono anche dati che contraddicono questa affermazione.

## **Il gusto umami**

La maggior parte dei mammiferi viene notevolmente attratta dal gusto di un ampio numero di L- amminoacidi. Nell'uomo, solo due amminoacidi (aspartato e monosodio glutammato – MSG) provocano l'unica sensazione del saporito conosciuta come umami, che in giapponese significa “sapore delizioso”, peraltro ben rappresentato nella cucina occidentale dal gusto di brodo di carne.

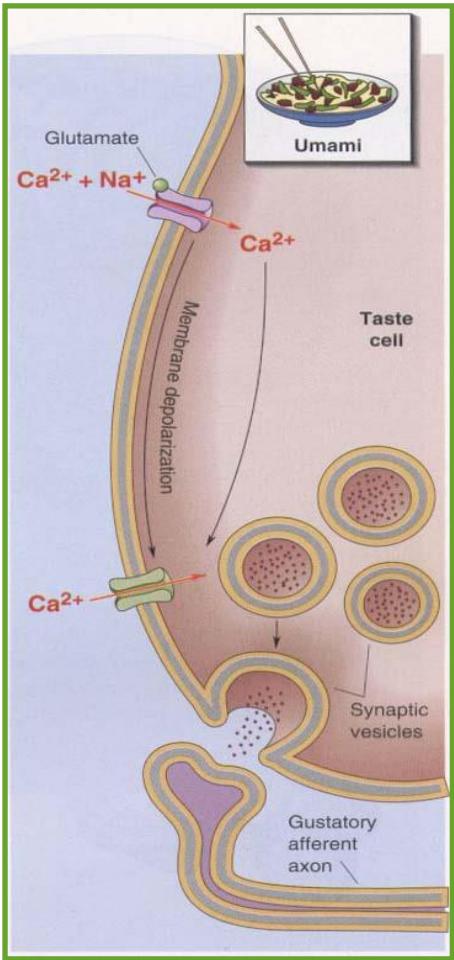
Una caratteristica saliente del gusto amminoacido negli animali e del gusto umami nell'uomo, è il loro impressionante potenziamento ottenuto tramite i nucleotidi purinici (come il disodio inosina monofosfato – IMP e il disodio guanosina monofosfato – GMP).

Questa caratteristica è stata enormemente sfruttata dall'industria alimentare con lo scopo di aumentare l'appetibilità di un gran numero di prodotti, e si prevedeva che sarebbe diventato il marchio di garanzia biochimica del recettore autentico dell'umami.

Studi basati sull'espressione cellulare hanno dimostrato che il T1R1 ed il T1R3 di roditore si combinano per formare il recettore ad ampio spettro degli L-amminoacidi. Questi risultati convalidano ampiamente che il ruolo delle subunità T1R1 e T1R3 è quello di recettore del gusto amminoacido, e che le cellule esprimenti l'eterodimero T1R1+3 sono coinvolte nel riconoscimento dello stimolo gustativo umami.

Devono essere, inoltre, ricordati altri recettori degli amminoacidi, quali i recettori ionotropici e metabotropici del glutammato, ed in particolare l'mGluR4 legato al gusto, che è una forma troncata dell'mGluR4 del cervello. Le subunità T1R1 e T1R3 vengono coespresso nei calici gustativi della parte anteriore della lingua, mentre l'mGluR4 legato al gusto viene espresso nei calici gustativi delle papille vallate e foliate.

Di molto interesse sono i saggi cellulari su umano, dove il complesso T1R1+3 funziona da recettore molto più specifico, rispondendo selettivamente al MSG, all'aspartato e all'analogo del glutammato L-AP4, con una selettività che riassume la soglia psicofisica umama per il gusto umami.



In aggiunta, come sarebbe previsto per la genuinità del recettore per l'umami, gli eterodimeri T1R1+3 sia di uomo che di roditore mostravano un forte potenziamento in risposta ai nucleotidi purinici.

Infine, prove definitive che il T1R1+3 funziona in vivo come recettore del gusto amminoacido (umami) è stata ottenuta dallo studio di topi knockout per il T1r1 e il T1r3. Mutanti omozigoti, mancanti le due subunità, mostravano una totale perdita del gusto umami, includendo tutte le risposte all'IMP e l'attrazione comportamentale all'MSG e agli L- amminoacidi.

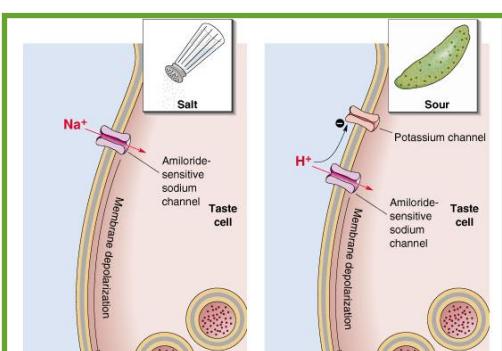
Presi insieme, questi risultati stabiliscono fortemente il ruolo del complesso GPCR eterodimerico T1R1+3 come recettore del gusto umami dei mammiferi e procura un esempio sorprendente di come delle GPCRs eterodimeriche alterino radicalmente la loro selettività a seconda dell'arrangiamento combinatoriale delle subunità (gusto dolce con T1R2+3 e umami con T1R1+3).

Oltre tutto, questi studi rivelano che i gusti dolce e umami, considerati i due inputs chemosensoriali responsabili del comportamento attrattivo, condividono un repertorio di recettori e origine evoluzionaria comuni.

## I gusti salato e acido

In numerosi studi è stato suggerito che le sostanze stimolanti i gusti acido e salato modulino la funzione delle cellule gustative tramite l'entrata diretta di ioni  $\text{Na}^+$  e  $\text{H}^+$  attraverso canali di membrana specializzati situati sulla superficie apicale delle cellule.

Nel caso del salato, l'attivazione delle cellule TRCs si crede venga mediata almeno in parte dall'entrata di  $\text{Na}^+$  attraverso i canali del sodio sensibili all'amiloride.



Un gran numero di tipi cellulari, recettori e meccanismi sono stati proposti come responsabili del gusto acido. Tra i recettori da segnalare i canali

permeabili ai nucleotidi ciclici (HCN, cyclic-nucleotide-gated) attivabili per iperpolarizzazione, i canali ionici acido-sensibili (ASICs), i canali del potassio (K2P) e i canali del calcio permeabili all'H<sup>+</sup>, mentre fra i meccanismi ci sono il coinvolgimento degli scambiatori Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> e l'inattivazione acida dei canali del K<sup>+</sup>. Comunque, recenti studi genetici e funzionali hanno enormemente semplificato la questione dei recettori dell'acido, dimostrando che un membro della famiglia dei canali ionici TRP, il PKD2L1, è presente nelle cellule TRCs sensibili all'acido.

Il PKD2L1 viene selettivamente espresso in una popolazione di cellule TRCs completamente distinta da quelle sensibili ai gusti dolci, amaro e umami, dando ulteriore solidità alla tesi della segregazione cellulare delle modalità gustative alla periferia.

Prove chiare che le cellule esperimenti PKD2L1 funzionino come recettori dell'acido nel sistema gustativo, provengono da esperimenti conclusivi di ablazione genetica. Esperimenti con topi transgenici esperimenti la tossina difterica attenuata diretta in modo mirato contro cellule della lingua esperimenti il PKD2L1, producevano negli animali una perdita specifica e totale del gusto acido, convalida definitivamente che il ruolo delle PKD2L1-TRCs è quello di essere le uniche cellule sensibili all'acido ed implica che i canali ionici PKD2L1 sono i candidati a recettori del gusto acido. Negli stessi topi transgenici acido-deficienti le risposte ai sali erano normali, dando un'ulteriore dimostrazione che anche il gusto acido deve essere mediato da una popolazione di cellule TRCs indipendente dalle altre.

# La genetica del gusto

La percezione gustativa è determinata geneticamente.

## Il TAS2R38

Questa diversa capacità biologica si riferisce in particolare alla percezione di amaro, umami e piccante; è presente alla nascita e si mantiene nel tempo, anche se col passare dell'età, per fenomeni di neurodegenerazione, si accettano di più i cibi amari.

La variabilità tra individui dipende dalla presenza più o meno conspicua e dalla funzionalità di un particolare recettore per l' amaro: il TAS2R38. Un polimorfismo genetico distingue la popolazione generale in non-percettori ("non taster"), percettori ("taster") e superpercettori ("supertaster") e la percentuale di rappresentatività dei tre gruppi varia da popolazione a popolazione.

Bambini e adulti hanno anche diverse sensibilità in relazione al genotipo: mentre nel 64% dei bambini eterozigoti per questo sito c'è una chiara correlazione tra genotipo e sensibilità all'amaro, questo accade solo nel 43% delle madri eterozigoti.

I taster, più sensibili all'amaro, non prediligono i cibi come le crucifere, ricchi in tiouree (cavoli, broccoli, cavolini di Bruxelles, rape ecc.), quelli contenenti caffè, chinino, isoumuloni (amaro della birra), naringina (pompelmi). Sono più sensibili alla percezione del piccante (irritante) e del grasso (distinguono meglio rispetto ai non-taster tra insalate con il 40% e il 10% di grassi) per una maggiore presenza di terminazioni del nervo trigemino.

Ovviamente i non taster tendono a comportarsi in maniera opposta.

Da noi, i non- taster costituiscono circa il 35% del totale, in Africa Occidentale il 5% e in India quasi il 55%. Questi dati correlano in maniera lineare e significativa con il tipo di cucina sviluppata nel corso dei millenni: ad esempio, in Africa Occidentale è particolarmente dolce, mentre in India è speziata e piccante.

Tutto questo ci dice che anche gran parte degli aspetti che noi oggi chiamiamo culturali (le tradizioni enogastronomiche, ad esempio) ha nel tempo subito l'influenza della componente biologico-genetica. Magari quella della maggioranza genetica della popolazione stessa. Quindi, accanto all'unicità di gusto che ci caratterizza, dobbiamo prendere in considerazione l'appartenenza a un gruppo.

## **La gustina**

Inoltre, le differenze individuali della sensibilità al PROP potrebbero essere correlate con variazioni nella composizione chimico-fisica della saliva. Fox per primo suggerì che la composizione salivare potrebbe essere uno dei fattori responsabili delle differenze individuali gustative, e ipotizzò che queste differenze possano dipendere dalla presenza o assenza nella saliva di alcuni costituenti organici come colloidì e/o proteine.

Tra le proteine salivari di particolare interesse è la gustina, una anidrasi carbonica di tipo VI (CA6). La gustina è una zinco metallo-proteina secreta dalle cellule acinose delle ghiandole salivari parotidi, sottomandibolari, ghiandole von Ebner nell'uomo. Diminuzioni della secrezione salivare di gustina sono state associate con ridotta o distorta funzione gustativa e olfattoria. Alcuni autori hanno suggerito che la gustina possa agire come fattore trofico promuovendo lo sviluppo e l'accrescimento delle gemme gustative agendo sulle cellule staminali gustative. La funzione enzimatica della gustina dipende dalla presenza dello Zinco nel suo sito attivo. Inoltre è noto che il trattamento con lo Zinco può migliorare la funzione gustativa negli anziani, aumentare la concentrazione di gustina in pazienti con ipogeusia, e normalizzare la funzione gustativa e la morfologia delle papille gustative in pazienti deficienti di CA6. Recentemente è stato dimostrato che un polimorfismo del gene della gustina (CA6) è coinvolto nella modulazione della sua attività enzimatica, cioè nella sua funzione tamponatrice delle variazioni di pH del cavo orale.

E' ben noto che i polimorfismi genetici costituiscono un meccanismo mediante il quale le persone esibiscono variazioni funzionali all'interno di un determinato range fisiologico. Sono stati dimostrati altri polimorfismi nel gene della gustina, oltre a quello coinvolto nella sua funzione tamponatrice, ma non sono state studiate loro associazioni con funzioni fisiologiche e tanto meno con la funzione gustativa.

Nell'uomo, comunque, la componente genetica nella determinazione delle preferenze alimentari è fortemente modificata dall'esperienza: crescendo, infatti, acquisiamo

preferenze verso alimenti totalmente sgraditi da piccoli, quando cioè la componente genetica è l'unica a dirigere le scelte.

Questa capacità di modificare attraverso l'esperienza le preferenze alimentari è la caratteristica che ha reso l'uomo in grado di adattarsi agli ambienti più diversi.

# L' epigenetica del gusto

Solo alcune delle nostre preferenze di gusto sono biologicamente preimpostate; molte sono legate alle diverse esperienze effettuate. Sebbene esistano alcuni fattori genetici che causano le differenze nella percezione del gusto, esperienze simili nella percezione del gusto di diversi tipi di sapori e alimenti causano delle preferenze simili. La definizione delle nostre presenze di gusto inizia nel grembo materno e continua poi per tutto il resto della vita.

## Dal feto alla prima infanzia

Il feto dispone di capacità percettive e sconosciute fino a molti anni fa.

L'interesse psicologico dei medici e dei ricercatori e la disponibilità di mezzi tecnici particolari come gli ultrasuoni hanno consentito un'esplorazione approfondita della sensorialità fetale e hanno permesso di confermare quanto veniva tramandato in molte culture antiche da secoli: il feto vede, sente, percepisce già in un'epoca molto precoce della gravidanza anche se diversamente rispetto ad un adulto.

A partire dalla nona settimana il feto è un essere "multiricettivo" e la qualità degli stimoli che riceve durante la gravidanza condiziona la qualità dell'individuo che nascerà.

Le sensazioni che percepisce sono fondamentali per la sua crescita e il suo regolare sviluppo: affinché l'eredità genetica possa realizzarlo pienamente, occorre che gli stimoli siano adeguati e avvengano nel momento giusto.

Nell'uomo l'attivarsi dei sistemi sensoriali segue un ordine particolare: tatto, equilibrio, olfatto, gusto, udito e vista. Lo sviluppo di un sistema sensoriale dipende strettamente da quello di altri sistemi: una eccessiva stimolazione provoca conseguenze su altri sistemi sensoriali e la progressione anormale di una parte dell'apparato nervoso rischia di provocare danni altrove.

Il feto dispone di una sensibilità chimica con cui riesce a percepire gusti e odori; il gusto e l'olfatto non dipendono direttamente dal fatto che si mangi o si respiri, ma dalla presenza di recettori sensibili a determinate molecole liquide o gassose presenti nelle fasi precoci

della gravidanza e da stimolazioni periferiche che permetteranno a questi recettori di entrare in funzione.

La formazione dei bottoni gustativi localizzati nelle papille gustative appare gradualmente tra l'ottava e la tredicesima settimana di gestazione. I recettori del gusto sono presenti già alla decima settimana di gestazione e aumentano fino alla nascita.

I composti aromatici contenuti nel liquido amniotico stimolano i recettori del gusto non appena il feto inizia a deglutire (attorno alla dodicesima settimana di gestazione), gli impulsi sono trasmessi a diversi nuclei del tronco cerebrale dove inducono, tra le altre cose, i riflessi della salivazione e i movimenti della lingua.

Tra la ventiseiesima e la ventottesima settimana di gestazione è possibile rilevare un collegamento tra la stimolazione dei recettori del gusto e le modificazioni dell'espressione facciale (questo si verifica in modo particolare per i sapori amari).

Alla trentaduesima settimana il feto reagisce ai cambiamenti di sapore del liquido amniotico modificando la frequenza di deglutizione dello stesso: la aumenta o la diminuisce rispettivamente in base al sapore dolce o amaro del liquido amniotico.

Quindi, le sostanze sapide presenti nel liquido amniotico (urea, glucosio, ioni) stimolano la funzionalità del sistema gustativo la cui maturazione continua fino a metà infanzia.

Le esperienze relative al cibo fatte dalla madre durante la gravidanza lasciano quindi delle tracce nella memoria del bambino: i "sapori" dell'alimentazione materna sviluppano nel bambino una preferenza verso di essi.

Poi il bambino nasce e viene allattato; l'allattamento ha un ruolo molto importante nello sviluppo del gusto del bambino. Il latte umano non è un alimento il cui sapore non cambia mai, ma è un alimento "dinamico", la sua composizione varia di giorno in giorno, col variare dell'alimentazione materna. Le variazioni del latte materno sono sia qualitative, che quantitative. Il latte trasporta quindi una varietà di sapori. Può, ad esempio, essere aromatizzato da composti come aglio, menta, vaniglia. Le esposizioni a questi sapori forniscono al bambino l'opportunità di farne esperienza e imparare ad apprezzare sapori nuovi. La risposta del bambino ad un sapore particolare dipende quindi sia dalle esposizioni, sia dalla durata di queste. Anche per questo motivo è preferibile l'allattamento al seno: il latte artificiale ha sempre lo stesso sapore ed è un alimento "monotono".

Nei neonati c'è una preferenza per il gusto dolce perché la dolcezza è indice di un alimento contenente molte calorie, e il neonato ne ha bisogno perché deve non solo sopravvivere, ma anche crescere rapidamente. L'attrazione per il dolce è rafforzata dalla continua esposizione allo zucchero contenuto nel latte.

Gli stimoli amari e acidi possono innescare reazioni negative. L'avversione per l'acido e l'amaro è generalmente indice della presenza di tossine o batteri e il bambino tende naturalmente a rifiutarli.

Alla nascita, invece, non è presente la preferenza per il gusto salato che appare dopo il quarto mese d'età come risultato dell'esperienza. La reazione comportamentale al sale è meno caratteristica, ma l'intensità d'attrazione verso questo gusto dipende dal contesto del pasto e dall'esposizione dopo la nascita. Inoltre, nei bambini allattati al seno si manifesta una certa preferenza per i cibi salati rispetto a quelli non salati, nonostante il latte umano sia povero di sale.

Per quanto riguarda il gusto umami anche quest'ultimo, come il sale, è più o meno apprezzato a seconda di quella che è l'esperienza gustativa di ciascun bambino.

Intorno alla metà del primo anno inizia la fase dello svezzamento, altra fase fondamentale nello sviluppo del gusto. Durante questa fase si passa da una dieta che è composta solo da latte alla progressiva assunzione di altri alimenti. Diversi fattori possono favorire l'accettazione del gusto dei nuovi alimenti, fra questi c'è proprio l'esposizione ripetuta a questi sapori durante l'allattamento, sapori che i diversi cibi di cui si nutre la mamma trasmettono al latte.

### **Variabilità della sensibilità gustativa**

Il ruolo fisiologico della variabilità individuale della sensibilità gustativa potrebbe essere ricondotto a meccanismi di adattamento evolutivo a specifiche condizioni ambientali per riconoscere sostanze potenzialmente dannose o necessarie per le funzioni corporee.

Di norma, le sostanze dolci, fonte di energia per l'organismo, provocano una sensazione piacevole e l'innesto di riflessi di salivazione, di deglutizione e di preparazione del tubo digerente alla digestione e all'assorbimento.

Il sapore amaro, per contro, provoca sovente il rifiuto del cibo o della bevanda e, se molto intenso, stimola il riflesso del vomito: questo è presumibilmente in relazione al fatto che la maggior parte delle sostanze tossiche presenti in natura ha sapore amaro.

E' noto che le piante producano una grande varietà di composti dal sapore amaro come meccanismo di protezione contro i predatori, e l'abilità dell'uomo a riconoscere basse concentrazioni di questi composti amari e spesso altamente tossici (amminoacidi, peptidi, polifenoli, isoflavonoidi e glucosinati, alcaloidi come il chinino, isotiocianati, acidi grassi ecc..) rappresenta un importante meccanismo di adattamento evolutivo che ne limita il consumo determinando nell'individuo risposte di rifiuto e reiezione.

Diversamente la possibilità di riconoscere alcune classi di composti amari che invece possono agire come antibatteri e/o antiossidanti, come per esempio quelli presenti nel te, nel caffè, in alcuni frutti, negli agrumi e nel cioccolato, può essere di grande beneficio per la salute dell'uomo.

Il grado di piacevolezza di un sapore è, tuttavia, soggettivo e può essere influenzato dall'esperienza e dalle necessità nutrizionali.

Sia l'animale che l'uomo tendono a rifiutare un cibo dal quale in passato siano stati intossicati.

Lo stesso cibo può essere avvertito come molto gradevole e desiderabile all'inizio del pasto e sgradevole quando viene raggiunta la sazietà.

In base alle informazioni gustative e olfattive si ha la capacità di operare una scelta tra diversi cibi e preferire quello che fornisce l'apporto nutritivo più consono alle esigenze dell'organismo.

È interessante ricordare che il sapore può essere in relazione alla concentrazione. Ad esempio, il sale da cucina a bassa concentrazione viene percepito come dolce, ad alta concentrazione come amarognolo.

La sensibilità gustativa può variare grandemente anche in funzione dell'età e del sesso dell'individuo. È noto che le donne mostrano una maggiore sensibilità rispetto agli uomini per gli stimoli dolci e salati, e una sensibilità minore per gli stimoli acidi.

Anche l'invecchiamento può determinare modificazioni della sensibilità gustativa che possono essere dovute anche a fattori diversi dalle sole modificazioni dell'invecchiamento delle strutture coinvolte. Non è stato infatti dimostrato che il numero dei calici gustativi e delle papille diminuisca con l'invecchiamento.

In realtà, molti dei farmaci che sono assunti dai soggetti anziani alterano la percezione gustativa e influiscono negativamente sull'output salivare (peggiorando ulteriormente il senso del gusto).

Anche la perdita delle capacità olfattive, legata all'età o a patologie, può giocare un ruolo importante nel diminuire la sensibilità gustativa.

Ancora, i fattori cognitivi possono giocare un ruolo di fondamentale importanza sul comportamento alimentare, così come possono influire sullo stato del peso corporeo e della salute dell'uomo.

Il controllo cognitivo dell'assunzione di cibo è associato ad un minor apporto energetico, una minor assunzione di grassi e un più frequente utilizzo di prodotti a basso contenuto lipidico. Queste osservazioni suggeriscono che nella scelta del cibo le persone che ne controllano volontariamente l'assunzione sono condizionate più fortemente dal loro peso corporeo che dallo stimolo gustativo.

Una seconda caratteristica del comportamento alimentare è la disinibizione, sia da un punto di vista comportamentale sia dal punto di vista delle variazioni di peso.

La disinibizione è correlata con l'alimentazione eccessiva e con un maggior grado di adiposità.

È possibile che i "non-taster" che, mostrano un più alto grado di accettanza per i grassi, possano essere più vulnerabili verso le emozioni che portano ad una alimentazione eccessiva e conseguentemente in questi individui possa determinarsi un aumento di peso e di obesità.

## **La neofobia, ovvero la paura di ciò che è nuovo**

Il termine viene utilizzato per definire l'atteggiamento di avversione che un bambino assume nei confronti di alimenti che vengono introdotti nella sua dieta.

Nei neonati, soprattutto all'età di 4-6 mesi, quando vengono introdotti gli alimenti solidi, la neofobia per il cibo è pressoché assente. Già dopo una sola somministrazione di nuovo cibo i bambini mostrano alti livelli di accettazione.

Al contrario, nei bambini tra i 18 e i 24 mesi la neofobia alimentare è molto più diffusa. In questa fase delicata, persino i bambini meno schizzinosi spesso iniziano a rifiutare i nuovi alimenti e i nuovi sapori. La neofobia protegge i bambini di quest'età dall'ingestione di prodotti nocivi o tossici. All'età in cui i bambini iniziano a camminare e diventano più indipendenti nella scelta degli alimenti, la neofobia potrebbe avere un certo valore di sopravvivenza.

L'accettazione di un nuovo sapore nei bambini fino ai 5 anni si verifica spesso solo dopo una esposizione che va da cinque a dieci volte. Mentre i bambini più grandi e gli adulti possiedono mezzi di successo per superare la loro innata neofobia. Attraverso l'uso dei principi del gusto, i sapori e gli alimenti nuovi vengono confrontati con quelli nuovi e aggiunti nel repertorio dei sapori esistenti (es. "mi ricorda la mela"). Anche se il rifiuto di nuovi alimenti appare innato, esistono delle differenze individuali e genere specifiche per la neofobia, infatti le donne sembrano essere meno colpite degli uomini. Inoltre le similitudini all'interno della stessa famiglia suggeriscono una componente genetica.

Le neofobie nei bambini possono essere attenuate o superate. Ad esempio, i bambini imparano in modo efficace da esempi e modelli. Questi possono essere costituiti dai genitori, dai fratelli, dagli amici o dai protagonisti delle storie. Se il modello proposto crea delle impressioni positive, i bambini possono adottare in toto il modello comportamentale.

## **Cosa condiziona le preferenze e le avversioni**

### **1. L'apprendimento sapore-sapore**

Una volta che un sapore o un alimento vengono accettati, questi possono influenzare le preferenze o il gradimento di nuovi sapori o alimenti.

I nuovi alimenti vengono più facilmente accettati se consumati insieme a piatti già conosciuti piuttosto che da soli.

Questo effetto, però, vale anche ed è più marcato per gli stimoli negativi di gusto.

## 2. Il fenomeno della salsa bernese

Se le proprietà sensoriali di un alimento sono legate a sensazioni o reazioni negative (nausea o vomito durante o dopo il consumo) si può sviluppare un'avversione per quel determinato alimento che può durare per il resto della vita.

Spesso non è importante sapere se quell'alimento costituisce la causa stessa della reazione oppure è stato consumato nello stesso momento del malessere.

## 3. L'apprendimento sapore-nutriente

Studi condotti su animali hanno dimostrato che dopo un po' di volte, questi preferiscono gli alimenti ad alto contenuto energetico-calorico rispetto a quelli a basso contenuto energetico-calorico.

Questo effetto è visibile anche nell'uomo, anche se la preferenza per piatti molto energetici e ricchi di grassi dipende anche dal modello sociale.

I bambini spesso amano gli alimenti che hanno mangiato in situazioni piacevoli e rifiutano i piatti che associano a qualche evento negativo. Questo è ulteriormente influenzato dalla scelta degli alimenti per le occasioni specifiche.

Cibi saporiti (con elevata carica energetica, elevato contenuto in grassi e zuccheri, come i desserts) vengono solitamente serviti in occasioni piacevoli come le feste o quando vengono ospiti in visita.

Al contrario, alimenti considerati meno saporiti, come ad esempi o le verdure, vengono frequentemente consumati sotto pressione: "mangia le tue verdure o non mangerai il dolce!" Quest'associazione comporta una doppia percezione negativa: nello stesso tempo aumenta da un lato la popolarità dei cibi altamente energetici e saporiti, e dall'altro l'avversione per gli alimenti meno saporiti

## 4. Effetto di "mera esposizione"

Il caffè è una bevanda che piace solo in seguito al consumo ripetuto; spesso ci si accosta al suo sapore amaro con molta attenzione con l'aiuto di latte e zucchero. Generalmente è necessaria un'esposizione ripetuta per arrivare finalmente ad apprezzare il caffè, e lo sviluppo di questa preferenza di gusto è stata definita "effetto di mera esposizione".

Ciò significa che piacciono solo gli alimenti e le bevande che vengono consumati con regolarità e che pertanto hanno un sapore acquisito.

Si assume che esista un legame diretto fra esperienze di gusto e preferenze. Alla base di questo effetto vi è un principio di sicurezza biologica: attraverso un'attenta degustazione per scoprire eventuali conseguenze negative (intolleranza), i nostri antenati hanno raccolto le diverse esperienze di gusto.

Tuttavia, il nostro comportamento alimentare si basa raramente sulla mera esposizione, utilizza piuttosto l'insieme di emozioni, aspetti sociali e processi digestivi che possono influenzare gli effetti della mera esposizione.

Un principio biologico che si oppone agli effetti della mera esposizione è la paura dei nuovi cibi, detta neofobia.

## 5. La sazietà sensoriale specifica

Mangiare sempre gli stessi cibi non aiuta ad approcciarsi acriticamente ai nuovi sapori, inoltre non è corretto dal punto di vista nutrizionale. Il meccanismo della "sazietà sensoriale specifica" ci impedisce di avere una dieta altamente monotona.

Anche se i bambini amano mangiare il loro piatto preferito quotidianamente, di giorno in giorno ci richiedono qualcosa di nuovo e rifiutano i piatti preferiti in precedenza.

La sazietà sensoriale specifica può essere osservata quando si mangia un menù composto da numerose portate. Si possono infatti ingerire solo modeste quantità di ogni singola portata, e si raggiunge facilmente la sensazione di sazietà, rifiutando le portate del secondo. Tuttavia, si riesce a mangiare una portata successiva o il dolce. Gli esperimenti dimostrano che la preferenza per un piatto appena consumato è diminuita, mentre questo non si verifica per gli altri sapori. Negli adulti vale la regola che più è ampia la scelta di alimenti durante un pasto, maggiore sarà la quantità di alimenti consumata.

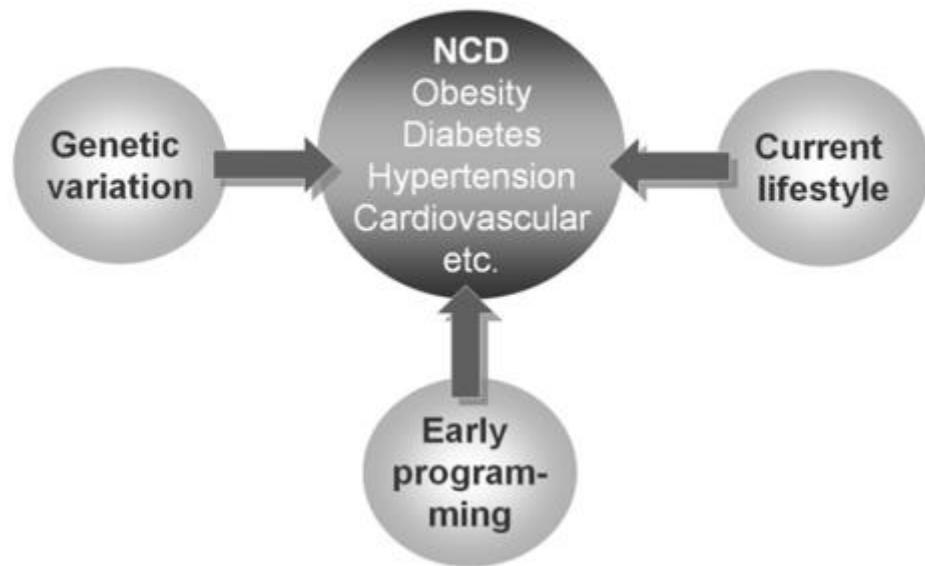
## 6. Il gusto della famiglia

È stato dimostrato che il contesto in cui si svolgono i pasti in famiglia ha una fondamentale influenza sulle future preferenze di gusto, svolgendo un ruolo particolare nella formazione del comportamento alimentare. Le preferenze o le avversioni per gli alimenti sono strettamente individuali, ma possono mostrare un chiaro legame familiare e sociale. Fin dall'inizio i genitori assumono un ruolo fondamentale e possono contribuire in modo sostanziale allo sviluppo delle preferenze e delle avversioni per alcuni sapori. Poiché i gusti sono molto stabili e possono durare tutta la vita, si deve porre particolare attenzione alla composizione dei pasti. Si dovrebbero evitare delle esperienze negative, come alcuni argomenti, durante i pasti. Può essere fondamentale per lo sviluppo delle preferenze

alimentari lasciare una certa libertà di scelta degli alimenti ai bambini e mostrare una certa calma nei confronti di avversioni temporanee ad alcuni alimenti.

# Programming metabolico, imprinting ed epigenetica

## Epigenetica e Programming



L'acido desossiribonucleico (DNA) è la macromolecola depositaria dell'informazione genica, cioè contiene tutte le informazioni atte a definire le caratteristiche morfologiche e funzionali di un essere vivente (patrimonio genico o genoma). Non solo il patrimonio genico si tramanda di generazione in generazione, ma le informazioni in esso contenuto, i geni, si "esprimono", cioè si manifestano, attraverso la produzione di specifiche proteine. Sarà quindi l'insieme delle proteine prodotte da un organismo a definirne le specifiche caratteristiche morfo-funzionali (fenotipo).

Il passaggio che determina la sintesi di una proteina a partire dal DNA non è diretto, ma, attraverso la trascrizione, prevede in primo luogo la formazione di un intermediario denominato RNA messaggero (mRNA) il quale, in un processo definito sintesi proteica, porta alla sintesi di una proteina specifica.

Il patrimonio genico di un individuo è identico in tutte le cellule che lo costituiscono. Fatta eccezione per alcuni geni costitutivamente attivi, ciò che diversifica dal punto di vista

funzionale i differenti tipi cellulari di un organismo è il set di proteine che ciascuno di esso produce.

Quindi, durante il ciclo cellulare di una cellula, in maniera finemente regolata, si assiste all'accensione e allo spegnimento di geni specifici. Inoltre, rientra nel pieno interesse della cellula produrre una determinata proteina solo al momento del bisogno accendendone il gene corrispondente per il tempo strettamente necessario.

Le interazioni che il nostro organismo ha con l'ambiente interno ed esterno, lo stile di vita e l'alimentazione possono influenzare la modalità di espressione di un gene.

Per modifiche epigenetiche si intendono tutte quelle modifiche chimiche a carico del DNA e delle proteine che con esso interagiscono (istoni) la cui conseguenza è una maggiore o minore accessibilità dell'apparato di trascrizione ai geni.

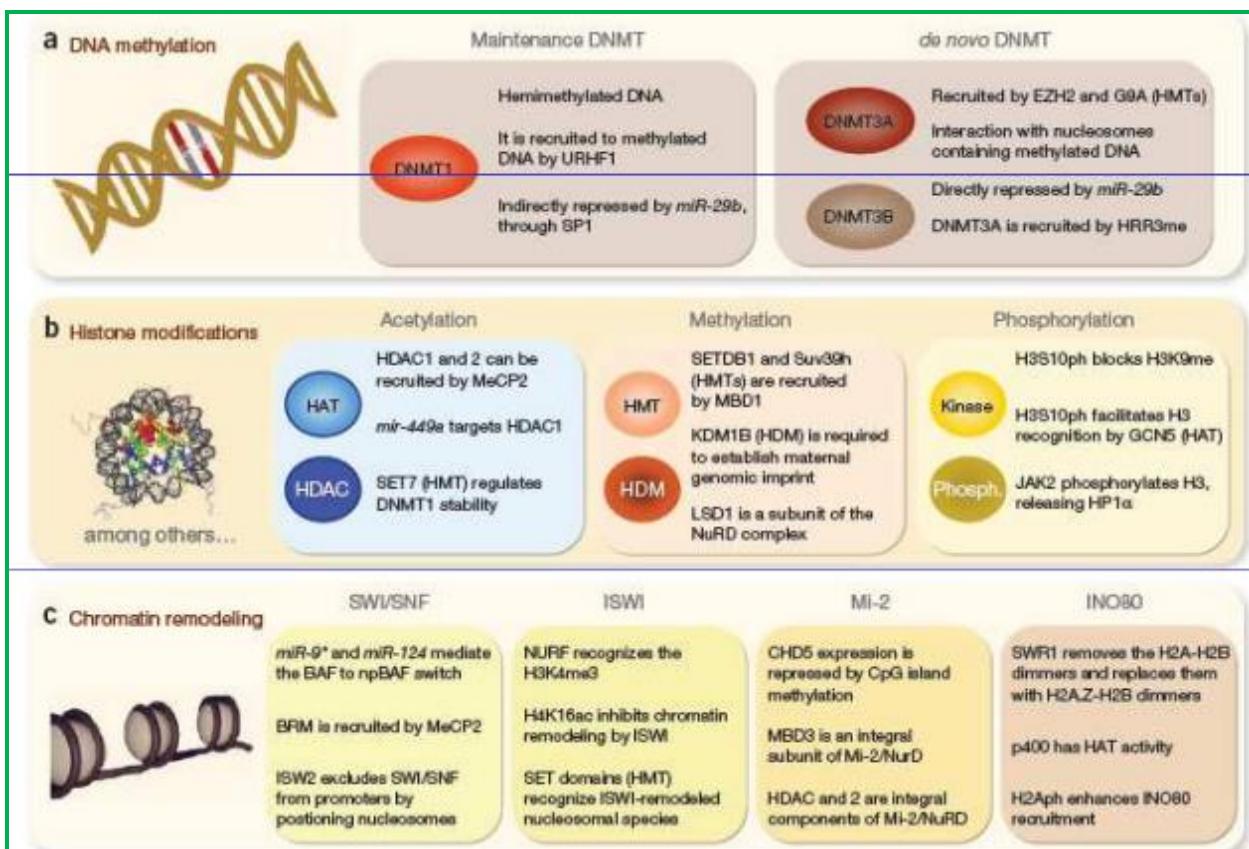
Queste modifiche, pur non alterando direttamente l'informazione contenuta in un gene, non solo ne modulano l'attività, ma sono anche ereditabili.

Il profilo epigenetico di un individuo si definisce durante la vita intrauterina e si rimodella nei diversi tipi cellulari in funzione dello stile di vita.

Ad esempio, è scientificamente dimostrato che fumare sigarette durante la gravidanza determini modifiche epigenetiche nel feto tali da inficiarne la normale crescita intrauterina, e da indurre nel nascituro, sin dall'infanzia, lo sviluppo di disturbi comportamentali che ne mineranno il benessere psico-fisico.

Attraverso modifiche epigenetiche, la sedentarietà e una dieta ipercalorica potrebbero determinare l'insorgenza del diabete non solo nei soggetti direttamente interessati, ma anche nelle generazioni future.

Allo stesso modo, modifiche epigenetiche indotte da sostanze insalubri potrebbero essere trasmesse al feto e questo, da adulto, porterebbe con sé e trasmetterebbe alle generazioni future il danno, anche vivendo in un ambiente salubre.



I meccanismi molecolari alla base delle modifiche epigenetiche sono essenzialmente quattro:

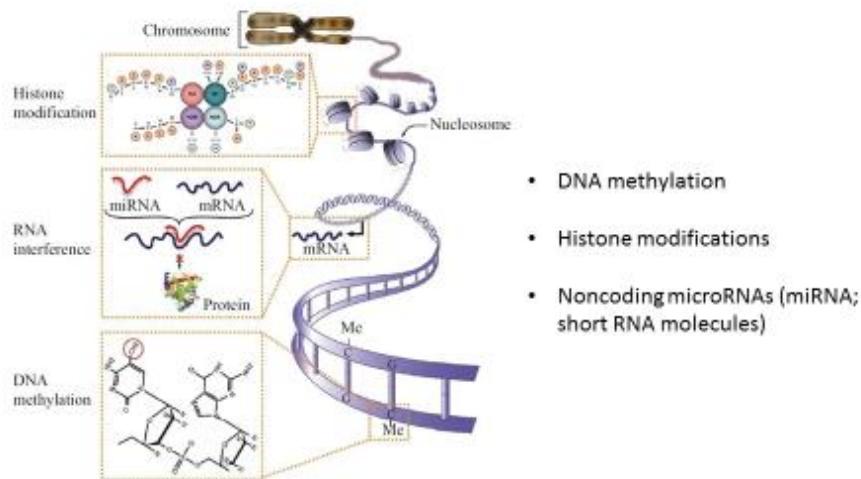
- Modificazioni istoniche:** modifiche chimiche a carico degli istonie, proteine basiche che interagiscono strettamente con il DNA formando la cosiddetta cromatina. All'interno della cellula il DNA non è nudo, ma interagisce più o meno strettamente con un set di proteine a formare una rete molecolare di densità e compattezza variabile. Ovviamente, l'attività trascrizionale di una cellula è inversamente proporzionale al livello di compattamento della cromatina: quindi, quanto più è compatta la cromatina, meno i geni saranno accessibili alla trascrizione. Il rimodellamento della cromatina avviene proprio attraverso le modifiche chimiche delle proteine istoriche, modifiche che includono l'acetilazione, la metilazione, l'ubiquitinazione, la fosforilazione e la sumoilazione.
- Metilazione del DNA:** Modificazioni chimiche del DNA in corrispondenza di regioni "critiche" per l'avvio del processo di trascrizione. A monte di ciascun gene, ad esempio, è presente un tratto di DNA denominato promotore il cui

compito specifico è quello di consentire l'attracco sequenziale dei fattori di trascrizione e dell'enzima RNA polimerasi II, l'enzima specifico deputato alla sintesi di mRNA. La metilazione del DNA, ovvero l'aggiunta di gruppi metilici (-CH<sub>3</sub>) a specifiche regioni del promotore (isole CpG) determina lo spegnimento dei geni a valle. Al contrario, la rimozione degli stessi gruppi metilici (demetilazione) nelle stesse aree determina la piena accessibilità del gene all'apparato trascrizionale. Quindi: ipermetilazione del promotore = trascrizione NO, ipometilazione del promotore = trascrizione Sì

3. **Imprinting:** è quel fenomeno per cui l'espressione di un gene è determinata dalla sua origine parentale.
4. **MiRNA:** produzione di specifici microRNA. Un miRNA è un piccolo RNA non codificante (cioè non traducibile in proteina) che, legandosi ad un mRNA, ne blocca parzialmente o totalmente la traduzione.

Ambiente e stili di vita (alimentazione, stress, esercizio fisico, inquinanti sostanze d'abuso) influenzano i meccanismi epigenetici, quali il livello di metilazione del DNA, le modifiche istoniche e la produzione di miRNA, contribuendo assieme al background genetico alla determinazione dello stato di salute di un individuo.

## Principali Meccanismi Epigenetici



Ovviamente, in maniera flessibile, i meccanismi epigenetici non solo cambiano la funzionalità del genoma in risposta a fattori esterni, ma mantengono la stabilità del genoma stesso e la propagano dalla cellula madre alle cellule figlie.

L'epigenetica si sta ponendo al centro della medicina moderna perché, a differenza della sequenza del DNA che è sempre uguale in tutte le cellule di un dato organismo, cambiamenti epigenetici indotti dalla dieta o dell'esposizione a fattori ambientali, potrebbero inficiare le piene funzioni del DNA con conseguenze il più delle volte deleterie.

Livelli inappropriati di metilazione del DNA contribuiscono all'insorgenza dello stato di malattia: se in eccesso possono spegnere geni necessari, se in difetto possono attivarli nella cellula sbagliata -o al momento sbagliato- portando al danno tissutale. Modifiche epigenetiche di geni target sono strettamente associate all'invecchiamento precoce, all'insorgenza del cancro, allo sviluppo di patologie età correlate (es. aterosclerosi), all'insorgenza delle patologie neurodegenerative e del diabete di tipo II.

Non a caso l'analisi dei livelli di ipo- e iper-metilazione del DNA estratto da sangue periferico potrebbe rappresentare un importante marcatore precoce per l'insorgenza di determinate patologie, oltre ad avere una valenza in termini prognostici e diagnostici.

I geni maggiormente suscettibili alle modifiche epigenetiche sono coinvolti principalmente nel controllo dei seguenti processi: risposta allo stress, stress ossidativo, danno del DNA, risposta infiammatoria, metabolismo energetico, turnover proteico.

Il risultato è il potenziamento delle nostre difese antiossidanti con conseguente riduzione del danno ossidativo, l'ottimizzazione del metabolismo energetico e del turnover delle macromolecole biologiche, nonché il potenziamento dei meccanismi di riparo del danno tissutale.

In pratica, uno stile di vita sano ed attivo preserva il benessere psico-fisico di un individuo perché preserva la piena funzionalità del suo genoma.

# STRESS OSSIDATIVO

## Premessa

Inquinamento ambientale ed errati stili di vita, sinergizzando tra loro, possono alterare l'omeostasi del nostro organismo a vari livelli (sistemi, organi, tessuti, cellule, organuli cellulari, molecole) e in diversi modi (accumulo di intermedi metabolici tossici, attivazione o inibizione di enzimi, etc.).

Dal punto di vista squisitamente biochimico, indipendentemente dai meccanismi perversi innescati, essi colpiscono direttamente "al cuore" le cellule, riducendo in varia misura la biodisponibilità dei due elementi dai quali queste e, più in generale, la vita stessa degli organismi aerobi trae la sua energia: l'ossigeno e l'idrogeno.

Infatti, è dall'energia scaturita dalla reazione tra questi due comuniissimi elementi – opportunamente modulata a livello della catena respiratoria mitocondriale – che derivano tutti i fenomeni vitali (assorbimento, digestione, assimilazione, secrezione, escrezione, movimento, accrescimento, riproduzione, etc.).

L'ossigeno è trasportato dall'atmosfera ai mitocondri grazie agli apparati respiratorio e cardio-circolatorio, mentre l'idrogeno è "estratto" da specifiche "deidrogenasi" direttamente dai nutrienti (glucosio, acidi grassi, amminoacidi e loro intermedi metabolici), introdotti con l'alimentazione sotto forma di precursori macromolecolari (amido, trigliceridi, proteine) e veicolati all'interno della cellula grazie all'apparato digerente ed al sistema vascolare.

Appare evidente, in definitiva, che se la "domanda" di ossigeno, attraverso la respirazione, e/o quella di idrogeno, attraverso l'alimentazione, non sono adeguate al fabbisogno tissutale, la cellula andrà incontro, nel breve o nel medio termine, al depauperamento delle proprie riserve energetiche, allo scompenso metabolico e a tutte le indesiderate conseguenze da ciò derivanti (alterazioni dell'omeostasi ionica, turbe della permeabilità di membrana, attivazione di enzimi litici etc.), fino alla necrosi o all'apoptosi oppure, subentrando altri cofattori, alla trasformazione neoplastica.

## I Radicali Liberi

I Radicali Liberi sono atomi o raggruppamenti di atomi aventi, nell'orbitale più esterno, uno o più elettroni spaiati, ovvero un numero dispari di elettroni, indipendentemente dalla carica elettrica espressa (positiva, negativa, neutra).

L'elettrone spaiato dei Radicali Liberi tende ad essere scambiato più o meno facilmente a seconda del potenziale di ossido-riduzione ed è proprio da questa caratteristica che dipende l'estrema reattività di tali specie chimiche.

Sappiamo che in natura ogni elemento tende alla stabilità, in chimica la stabilità è assicurata dall'accoppiamento degli elettroni intorno al nucleo: i Radicali Liberi che hanno un elettrone spaiato tenderanno, quindi, a raggiungere la propria stabilità innescando tutta una serie di reazioni volte a strappare un elettrone (processo di ossidazione) da qualsiasi altra specie chimica al fine di ristabilire la coppia elettronica e raggiungere la stabilità.

I Radicali Liberi sono classificati in base alla natura dell'atomo cui appartiene l'elettrone spaiato: esistono quindi i Radicali Liberi dell'Azoto, del Carbonio, del Cloro e dell'Ossigeno.

I Radicali più importanti, diffusi e pericolosi sono sicuramente quelli dell'Ossigeno e fra questi, quelli di maggiore interesse biologico sono: il Radicale Ossidrile ( $\text{HO}^*$ ) e il Radicale Superossalido ( $\text{O}_2^*$ ), i quali, insieme al Perossalido d'Idrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e all'Ossigeno Singoletto ( $\text{O}_2^*$ ) che non sono radicali, costituiscono le Specie Reattive dell'Ossigeno (Reactive Oxygen Species, ROS).

I ROS che quindi comprendono specie radicaliche e non radicaliche, sono molecole tutte derivanti dall'Ossigeno, accomunate dalla tendenza di ossidare i vari substrati (carboidrati, proteine, lipidi, nucleotidi...).

### **Come si formano i radicali liberi?**

Dal punto di vista chimico i Radicali Liberi si formano soprattutto mediante un meccanismo di scissione omolitica o mediante interazione con metalli di transizione.

Con il termine di scissione omolitica si intende la divisione di una molecola a livello di uno dei suoi legami covalenti per effetto della somministrazione di energia con generazione di due nuove specie chimiche, ciascuna con un elettrone spaiato.

Nell'interazione con i metalli di transizione, l'elettrone generato dall'ossidazione di un metallo di transizione in forma ionica (es. da  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ ) spezza un legame covalente di una molecola bersaglio, generando così un Radicale Libero e un anione.

Alternativamente, l'elettrone richiesto per ridurre un metallo di transizione in forma ionica (es. da  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ ) viene estratto dal legame covalente di una molecola bersaglio, che si decompone in un radicale libero e un catione.

### **Perchè si formano i radicali liberi?**

Negli organismi viventi la produzione dei Radicali Liberi può essere provocata da agenti esterni oppure essere l'espressione di un'attività metabolica endogena.

Gli agenti esterni che provocano la formazione di Radicali Liberi possono essere di natura fisica (es. radiazioni ionizzanti, UV...), di natura chimica (ozono, inquinanti atmosferici, idrocarburi aromatici, pesticidi, farmaci, conservanti, coloranti, alimenti intolleranti...) o di natura biologica (batteri, virus...).

Non bisogna assolutamente dimenticare che all'interno degli organismi viventi la produzione di Radicali Liberi è strettamente legata ai normali processi vitali e, come tale, è un fenomeno "fisiologico" che avviene continuamente nel corso di reazioni di ossido-riduzione per effetto di meccanismi di natura sia enzimatica che non enzimatica.

Per questo i Radicali Liberi sono definiti insostituibili "compagni di viaggio" della vita di qualsiasi organismo. Sono insostituibili proprio a causa della loro azione ossidante: essi, infatti, giocano un ruolo importantissimo nei processi reattivi quali infezioni ed infiammazioni.

### **Dove si formano i radicali liberi?**

Uno dei principali siti di formazione dei Radicali Liberi è la membrana plasmatica dei leucociti attivati: in caso di infezioni, tali molecole prodotte immediatamente dai leucociti, nella loro ricerca dell'elettrone per il raggiungimento della stabilità, vanno ad attaccare gli

agenti infettanti, indebolendone la parete e rendendoli più facilmente accessibili alla fagocitosi e, contribuendo, in definitiva, alla loro distruzione.

Altro sito importantissimo di formazione dei Radicali Liberi è rappresentato dai mitocondri durante il processo di respirazione, e ancora, non dobbiamo dimenticare il reticolo endoplasmatico liscio durante la trasformazione di xenobiotici, e il citosol durante varie trasformazioni metaboliche.

### **Cosa fanno i radicali liberi?**

Durante la fosforilazione ossidativa mitocondriale parte dell'ossigeno viene utilizzato per formare Radicali Liberi. Questi vengono utilizzati per "avvelenare", cioè uccidere eventuali patogeni quali virus e batteri penetrati nell'organismo. Sono le "armi" di difesa della cellula!

I Radicali Liberi vengono prodotti sempre nelle giuste quantità; quando si verifica un aumento del loro numero, interviene il sistema anti-radicalico (anti-ossidante) cellulare per la neutralizzazione dei Radicali in eccesso e il ripristino del normale equilibrio radicali / anti-radicali.

### **Lo stress ossidativo**

Quando la quantità dei Radicali Liberi è esageratamente alta, da non riuscire ad essere neutralizzata dal sistema anti-ossidante, si genera una condizione patologica chiamata stress ossidativo.

Lo stress ossidativo si ha anche quando esiste un sistema anti-ossidante qualitativamente e/o quantitativamente carente.

Quando la cellula si trova in una condizione di stress ossidativo per eccesso di Radicali Liberi, questi ultimi, ingaggiano la loro personale lotta per la sopravvivenza: essendo carenti di un elettrone, cominciano a cercarlo disperatamente attaccando le strutture cellulari.

E così attaccano le membrane che sono costituite da fosfolipidi, molecole ricche di elettroni (perossidazione lipidica): in seguito a questo attacco le membrane perdono la loro continuità strutturale e funzionale. Attaccano il DNA cellulare, provocando mutazioni spesso pericolosissime. Attaccano le proteine, spesso proteine enzimatiche, degradandole e quindi modificandole o inattivandole.

Indipendentemente dalle cause dello stress ossidativo, esso è ritenuto responsabile o co-responsabile di lesioni cellulari che sono alla base dell'invecchiamento precoce e di numerose patologie definite, appunto, da stress ossidativo quali: aterosclerosi, infarto, ictus, obesità, diabete, AIDS, morbo di Parkinson, artrite reumatoide, demenza senile, sclerosi multipla, ecc.

Infatti i Radicali Liberi non più controllati dal sistema antiossidante, possono attaccare ed ossidare qualsiasi substrato organico (glucidi, lipidi, amminoacidi...) con cui vengono a contatto generando nuovi Radicali Liberi, i quali a loro volta, andranno ad attaccare ed ossidare altri substrati organici per formare ulteriori Radicali Liberi in una vera e propria reazione a catena che può non avere fine.

Durante tali reazioni a catena, nelle cellule, si formano gli Idroperossidi (R-OOH), dei veri e propri veleni che la cellula immette nel sangue e negli altri fluidi biologici.

Qui essi costituiscono i "testimoni" dell'avvenuta lesione cellulare.

## I sistemi anti-ossidanti

Exogenous antioxidants	Dietary sources
Vitamin C (ascorbic acid/ascorbate)	Bell peppers, strawberries, kiwi, Brussels sprouts, broccoli
Vitamin E (tocopherols, tocotrienols)	Vegetable oil and its derivatives (margarine, salad dressing), nuts, seeds
Carotenoids ( $\alpha$ -carotene, $\beta$ -carotene, zeaxanthin, lutein, lycopene, $\beta$ -cryptoxanthin, etc.)	Orange and red vegetables and fruits (carrots, tomatoes, apricots, plums) and green leafy vegetables (spinach, kale)
Polyphenols (flavonols, flavanols, anthocyanins, isoflavones, phenolic acid)	Fruits (apples, berries, grapes), vegetables (celery, kale, onions), legumes (beans, soybeans), nuts, wine, tea, coffee, cocoa
Trace elements (selenium, zinc)	Seafood, meat, whole grains

Come abbiamo detto, in condizioni normali la formazione di Radicali Liberi è tenuta sotto controllo dal sistema di difesa anti-ossidante che ha una ben precisa compartimentazione a livello cellulare.

Siccome i Radicali di formano generalmente a livello delle membrane (plasmalemma, mitocondri, reticolo endoplasmatico...), è in queste ultime che si concentrano i cosiddetti antiossidanti lipofili, quali la Vitamina A, la Vitamina E, l'Alfa-tocoferolo, il Beta-

carotene. Tali sostanze costituiscono la prima linea di difesa dall'attacco dei Radicali Liberi.

La successiva linea di difesa comprende una serie di sostanze idrosolubili, quali la Vitamina C, il Glutathione, la Vitamina B, la Vitamina P.

Il sistema antiossidante è completato da un gruppo di enzimi, quali la Glutathione perossidasi, la Glutathione reduttasi, la Superossidodismutasi e la Catalasi.

I due sistemi, quello enzimatico e quello non enzimatico, agiscono in maniera sinergica e strettamente coordinata.

I meccanismi funzionali attraverso i quali i sistemi antiossidanti riescono ad inattivare la potenziale lesività dei Radicali sono molteplici. Infatti, alcuni antiossidanti agiscono in maniera preventiva, impedendo proprio l'avvio delle reazioni radicaliche; altri interagiscono direttamente con i Radicali inattivandoli; altri intervengono dopo che il danno è stato instaurato riparando le strutture.

Di solito uno stress ossidativo consegue all'azione di sostanze chimiche, i radicali liberi innanzitutto. Ma non va dimenticato che un'azione ossidante è posseduta anche da agenti non radicalici (ad es. l'acqua ossigenata) e dalle radiazioni ionizzanti.

Se le difese antiossidanti della cellula non bastano a tamponare l'azione pro-ossidante, la cellula può rimanere allora danneggiata a vari livelli:

- 1) sui fosfolipidi delle membrane, fino alla distruzione delle stesse con perdita della compartmentazione e dei trasporti selettivi;
- 2) sugli acidi nucleici, con accumulo di mutazioni ed alterazioni dell'espressione genica;
- 3) sulle proteine, dove l'ossidazione dei residui di cisteina e di altri aminoacidi finisce per causare alterazioni della struttura e perdita di funzione enzimatica, di trasporto, recettoriale, ecc.

### **Il sistema antiossidante endogeno**

Considerando il meccanismo d'azione prevalente, risulta molto utile sotto il profilo fisiopatologico suddividere gli antiossidanti in 3 gruppi principali: preventivi, scavenger e di riparo.

Ognuno di questi gruppi di agenti è in grado di intervenire a uno dei livelli della sequenza indesiderata di eventi che, innescata da agenti esogeni (fisici, chimici o biologici) e/o endogeni (attività metabolica) conduce all'evento morboso (invecchiamento precoce e/o malattie), bloccandola.

Gli scavenger ed i chain breaker – funzionalmente assimilabili tra loro – sono sostanze chimicamente eterogenee, alcune idrosolubili, altre liposolubili, generalmente a basso peso molecolare, che formano, a sostegno della prima linea di difesa, estremamente specifica, costituita dagli enzimi (superossidodismutasi, catalasi e perossidasi), una seconda barriera difensiva, più aspecifica, ma non per questo poco efficiente, nei confronti delle SCR.

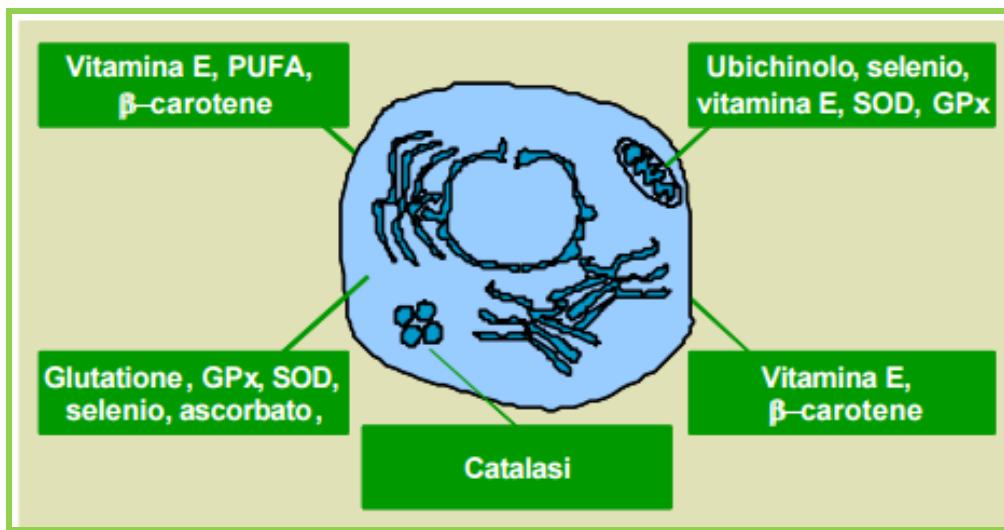
In particolare, gli **scavenger** (letteralmente “spazzini”) sono agenti che riducono la concentrazione di radicali liberi rimuovendoli dal mezzo in cui si trovano, grazie alla loro capacità di interagire direttamente con essi, e, quindi, di inattivarli. Essi comprendono l'ubichinone, i composti tiolici, l'albumina, la bilirubina e l'acido urico.

I **chain breaker** (letteralmente “che spezzano la catena”), invece, sono agenti in grado di bloccare la propagazione delle reazioni radicaliche a catena. Tra questi sono da citare carotenoidi, tocoferoli ed ascorbato.

Nel complesso, la linea di difesa costituita da scavenger – e chain breaker – è in grado di bloccare l'inizio o impedire la propagazione delle reazioni radicaliche a catena.

Gli **agenti di riparo**, invece, comprendono esclusivamente enzimi che intervengono dopo che il danno da specie reattive si è instaurato. La loro azione – spesso sequenziale – prevede dapprima l'identificazione del segmento molecolare ossidato, poi la separazione del frammento ormai inutilizzabile e, infine, la sintesi e l'inserimento di un nuovo segmento in sostituzione di quello danneggiato.

Appartengono agli agenti di riparo le idrolasi (glicosidasi, lipasi, proteasi), le trasferasi e le polimerasi, tutte indispensabili per la riparazione del danno da radicali liberi di importanti molecole o strutture cellulari (es. DNA, membrane, ecc). Ovviamente, quando queste attività idrolitiche superano le capacità di riparazione, esse si traducono in un ulteriore danno tissutale.



## Superossidodismutasi (SOD)

Scoperta da McCord e Fridovich nel 1968, la superossidodismutasi (SOD) è un enzima, presente praticamente in tutte le cellule, la cui attività catalitica consiste nella dismutazione di 2 molecole di anione superossido in perossido d'idrogeno ed ossigeno molecolare.

Tra i prodotti della reazione, il perossido d'idrogeno è un debole ossidante ed è relativamente stabile, in particolare se confrontato con il precursore anione superossido. Questo è il motivo per cui la SOD rientra fra gli enzimi ad azione antiossidante.

In realtà, come si è detto, in particolari condizioni, quali l'acidosi, in presenza di metalli di transizione allo stato libero, il perossido d'idrogeno può generare, secondo la reazione di Fenton, il radicale idrossile, il più potente radicale istolesivo. Tuttavia, in condizioni fisiologiche, ciò non accade e se il perossido d'idrogeno dovesse aumentare oltre misura nella cellula, esso sarebbe definitivamente inattivato dalla catalasi. All'interno delle cellule sono state identificate due isoforme della SOD, la Cu-Zn-SOD e la MnSOD. La Cu-Zn-SOD è una proteina dimerica, le cui due subunità, legate tra loro da un ponte disolfuro, sono costituite ciascuna da una catena polipeptidica di 151 amminoacidi legata ad atomo di Cu ed uno di Zn (metalloproteine). Mentre gli ioni Cu probabilmente giocano un ruolo chiave nella catalisi, consentendo all'enzima di interconvertirsi nelle sue due forme funzionali (ossidata e ridotta), gli ioni Zn sembrano abbiano il ruolo di stabilizzare l'enzima dal punto di vista conformazionale. La Cu-Zn-SOD è localizzata elettivamente all'interno del citoplasma. La Mn-SOD è una metalloproteina il cui esatto meccanismo d'azione, non ancora ben chiarito, si basa su modifiche redox del manganese. Può trovarsi sia nel

citoplasma che nei mitocondri. Accanto a queste due forme, intracellulari, di SOD ne esisterebbe una terza, a localizzazione extracellulare (EC-SOD).

### **Sistema delle perossidasi**

Una classe importante di sostanze derivate dall'attacco delle SCR su substrati organici, quali glicosidi, lipidi, amminoacidi, proteine e nucleotidi, sono gli idroperossidi ( $R-O-O-H$ ) che, insieme al perossido di idrogeno ( $H-O-O-H$  o  $H_2O_2$ ), costituiscono i cosiddetti perossidi ( $R-O-O-R$ ). Gli idroperossidi, pur dotati di una certa capacità ossidante, sono relativamente stabili. Tuttavia, in presenza di un metallo di transizione e in ambiente acido, possono essere decomposti liberando radicali altamente reattivi, quali l'alcossile, il perossile e l'idrossile. Pertanto, fra i sistemi antiossidanti endogeni esiste una classe di enzimi il cui fine è quello di inattivare i perossidi, sì da prevenire il danno che potrebbe derivare dalla loro scissione metallocatalizzata.

Tali enzimi vengono genericamente definiti perossidasi e mostrano un comune meccanismo d'azione, che prevede la demolizione del perossido con liberazione di una molecola di ossigeno molecolare e una di alcool (se il substrato è un idroperossido) oppure di acqua (se il substrato è il perossido di idrogeno).

### **Catalasi**

La perossidasi che ha come substrato il perossido di idrogeno viene chiamata catalasi.

Si tratta di un enzima formato da 4 subunità, ciascuna delle quali contiene un gruppo eme con un sito attivo, stabilizzato da una molecola di NADPH. La CAT si trova nella maggioranza delle cellule animali e vegetali in organuli denominati perossisomi ove la sua funzione è quella di inattivare il perossido di idrogeno.

Essa è stata ritrovata anche nel citosol ma il suo ruolo in questo compartimento intracellulare non è completamente noto. In generale, comunque, la CAT viene attivata da elevate concentrazione di perossido di idrogeno e, in qualche modo, lavora in maniera sequenziale rispetto alla SOD, svolgendo un'importantissima funzione antiossidante. Nell'uomo l'enzima è espresso ad elevati livelli nel fegato e negli eritrociti.

### **Glutationeperossidasi**

Le perossidasi in grado di agire non solo sul perossido di idrogeno ma anche su altri perossidi organici presentano come cofattore il glutatione e, pertanto, sono chiamate anche glutationeperossidasi (GSHPx o GPx). Il glutatione è un tripeptide costituito da acido glutammico, cisteina e glicina, che può esistere in una forma ridotta (GSH) oppure in una forma dimerica, ossidata (GS-SG).

L'interconversione dall'una all'altra forma, resa possibile grazie al gruppo tilico della cisteina, è sfruttata dalle GPx per catalizzare reazioni di ossidoriduzione finalizzate all'inattivazione del perossido di idrogeno o di altri perossidi, secondo lo schema generale delle perossidasi sopra riportato. Il glutatione ha una diffusione ubiquitaria nei mammiferi nei cui tessuti, agisce non solo come riducente dei perossidi (antiossidante preventivo) ma anche come nucleofilo nei confronti di specie elettrofile radicaliche, come quelle generate dal metabolismo di xenobiotici (scavenger). I livelli di glutatione intracellulari aumentano fortemente in presenza di elevati livelli di perossidi. In tali condizioni, per evitare reazioni collaterali fra i gruppi tilici delle proteine ed il GS-SG, quest'ultimo sarebbe escreto grazie all'attivazione di una specifica traslocasi di membrana ATP dipendente.

La classica GPx catalizza la riduzione del perossido d'idrogeno ad acqua ed ossigeno molecolare attraverso la conversione (ossidazione) del GSH a GS-SG. La GPX è formata da 4 subunità apparentemente uguali e contiene selenio sotto forma di seleniocisteina nelle varie subunità.

Pertanto, la carenza di selenio provoca una marcata riduzione dell'attività dell'enzima. Presente nel citosol e nei mitocondri, la GPx agisce attraverso un meccanismo piuttosto complesso che prevede un ciclo di reazioni nel quale sono coinvolti anche la glutatione transidrogenasi e la glutatione reduttasi. Sembra, comunque, che la GPx agisca quando i bassi livelli di perossido d'idrogeno non sono sufficienti ad attivare la catalasi. La GPx può anche rimuovere molecole di idroperossidi lipidici derivati dai processi di lipoperossidazione. A questo proposito, giova sottolineare che, oltre alla GPx "classica" appena descritta, esiste anche una GPx, selenio-indipendente, indicata con la sigla Sel-GPx che non metabolizza il perossido di idrogeno ma solo i perossidi organici, con un ruolo, quindi, preferenziale, di protezione specifica nei confronti della lipoperossidazione.

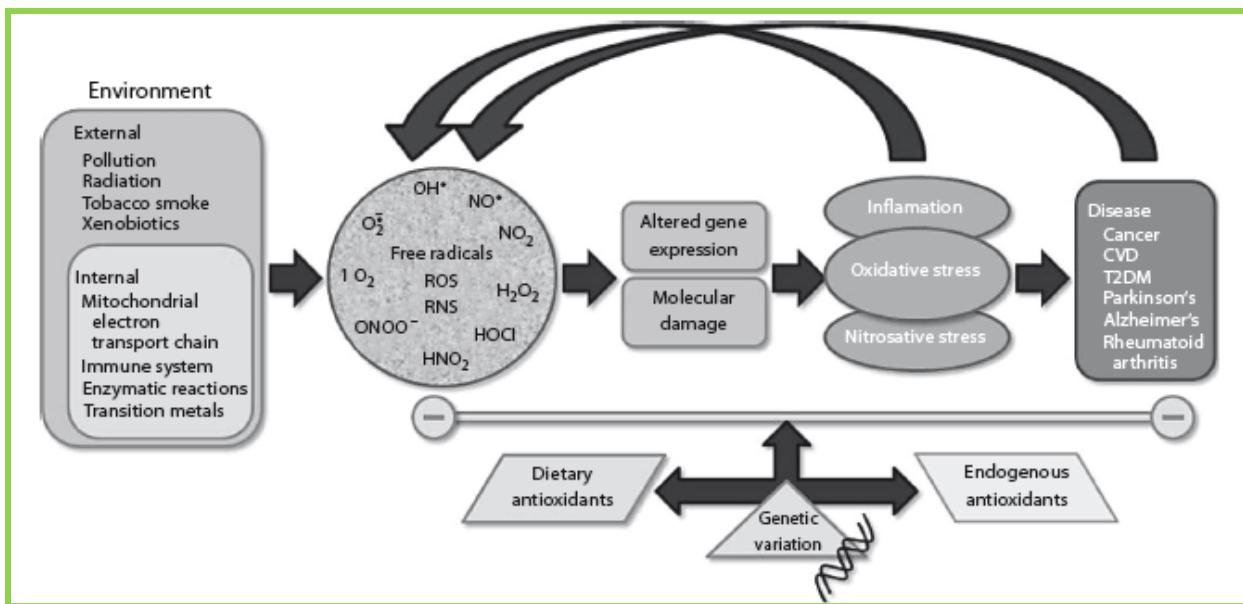
In condizioni ideali, la SOD, la CAT e la GPx agiscono in maniera ordinata e sequenziale potenziandosi nel loro importante ruolo di antiossidanti.

## In sintesi:

- specie reattive dell'ossigeno sono continuamente prodotte nel corso di normali reazioni fisiologiche;
- l'anione superossido può inoltre originare dalle reazioni di redox cycling innescate da farmaci ed altri xenobiotici, ma anche da composti endogeni;
- la dismutazione del superossido, spontanea o catalizzata da superossido dismutasi, porta alla comparsa di acqua ossigenata;
- il metabolismo di quest'ultima da parte della glutatione perossidasi porta alla deplezione del glutatione (GSH);
- l'attività della GSH reduttasi nella riduzione del glutatione ossidato porta a sua volta ad una deplezione di NADPH
- la deplezione del GSH rende la cellula più suscettibile alla perossidazione lipidica, un processo che può anche essere messo in moto direttamente da alcuni tossici, gli alo-alcani;
- i prodotti reattivi della perossidazione lipidica (aldeidi, carbonili, lipoperossidi) possono legarsi alle proteine, provocando così una perdita di gruppi sulfidrilici, cosa che può inoltre derivare dalla ossidazione e deplezione del GSH ridotto;
- aldeidi insature derivate dalla frammentazione dei lipidi (4-idrossi-nonenale innanzitutto) possono legarsi ai sulfidrilici delle proteine, conservando la loro funzione carbonilica; le proteine presenteranno pertanto un aumentato contenuto di carbonili;
- la comparsa di carbonili sulle proteine cellulari può anche risultare da una ossidazione diretta dei residui aminoacidici, processo catalizzato da ioni di ferro ed altri metalli (ossidazione proteica catalizzata da metalli);
- ferro-ioni sono anche implicati nella promozione di perossidazione lipidica in presenza di acqua ossigenata, come pure nel danno ossidativo al DNA indotto dai ROS;
- l'aumento intracellulare del NADP<sup>+</sup> può innescare la ADP-ribosilazione delle proteine mitocondriali, fenomeno che provoca rilascio di calcio mitocondriale nel citoplasma;
- il prolungato innalzamento del calcio citosolico  $[Ca^{++}]$  risulta inoltre dalla ossidazione di sulfidrilici critici nelle Ca-ATPasi della membrana plasmatica; la conseguenza finale di ciò può essere la perdita di potenziale della membrana mitocondriale.

La grande varietà di meccanismi che uno squilibrio redox può mettere in moto rende conto di come, con aspetti di volta in volta più o meno specifici, le reazioni di stress ossidativo partecipano ad una lunga serie di patologie umane.

Negli ultimi anni è emersa in particolare la loro rilevanza nelle patologie a base infiammatoria, nell'insufficienza renale cronica, nel diabete, nell'ischemia, nelle malattie cardiovascolari e in alcune malattie neurodegenerative (NCD).



# Ruolo epigenetico del latte materno

Il latte materno è unico e inimitabile.

Più di 200 milioni d'anni fa un gruppo di animali sviluppò la capacità di produrre da sé il cibo per i propri bambini. Alcune ghiandole, che fino a quel momento servivano a eliminare il sudore, si specializzarono nel fabbricare un liquido biologico adatto alle esigenze della prole, liberando così gli animali dalla continua necessità di trovare cibo per i neonati.

Ogni mammifero produce però il latte più adatto alle esigenze particolari della propria prole. I grossi mammiferi che vivono nelle gelide acque polari, come le balene e le foche, che per isolarsi dalle basse temperature hanno bisogno di uno spesso strato d'adipe, si nutrono di un latte ricchissimo di grassi (concentrazione del 35% a fronte del 4% del latte umano), mentre quei mammiferi, come il ratto, che crescono in fretta dopo la nascita, e che hanno bisogno di materiale in abbondanza per costruire in breve tempo il proprio scheletro e sviluppare la propria muscolatura, si nutrono di un latte molto ricco di proteine (concentrazione del 12% a fronte di un 1% del latte umano). Così ogni specie di mammiferi produce un latte specie-specifico con caratteristiche nutrizionali inconfondibili.

Ne deriva che i latti dei vari mammiferi non siano tra loro intercambiabili. In particolare, molto diversi dal latte umano sono i latti di mucca o di asina o di capra proposti per sostituirlo.

Anche gli attuali latti artificiali destinati all'alimentazione nel primo anno di vita, pur enormemente migliorati rispetto al latte di mucca da cui derivano e alle prime formule di latte apparse in commercio molti decenni fa, sono da intendersi come semplici sostituti del latte materno e si limitano a riprodurre in maniera valida, ma inevitabilmente imperfetta, la composizione in nutrienti del latte umano.

Bisogna notare come le formule lattee manchino, in particolare, dei componenti ad azione biologica presenti nel latte umano, quali fattori antinfettivi (anticorpi e leucociti), cellule staminali, antitumorali (HAMLET, TRAIL), ormoni, enzimi (come la lipasi, che facilita la digestione dei grassi), fattori di crescita dell'intestino (epidermal growth factor, EGF) e del sistema nervoso centrale (nerve growth factor, NGF).

Questa differenza sostanziale di composizione rende plausibile il fatto che una lunga serie di studi pubblicati negli ultimi 40 anni mostri che bambini allattati artificialmente sono svantaggiati sotto più punti di vista rispetto a quelli nutriti con latte materno.

L'allattamento al seno offre inoltre il massimo vantaggio per lo sviluppo cognitivo, che si tradurrà in performance scolastiche migliori e migliore affermazione sociale.

Anche il rischio di obesità è ridotto nei bambini allattati al seno per merito della composizione del latte materno, di un equilibrio endocrino differente con minore stimolazione di insulina e grelina e in definitiva di una migliore autoregolazione dell'introduzione calorica.

Adulti un tempo allattati al seno hanno livelli di colesterolemia e di pressione arteriosa più bassi rispetto ad adulti allattati artificialmente e, di conseguenza, hanno un minore rischio di malattie cardiovascolari. In sintesi, è ormai unanimemente accettato che l'allattamento con latte materno sia la norma nutrizionale per il cucciolo della specie umana e che ogni deviazione nutrizionale non giustificata da reali esigenze o da scelta di una madre ben informata rechi una serie di svantaggi, magari non riscontrabili nel singolo individuo, ma ben documentati epidemiologicamente

Il latte materno, quindi, con la ricchezza dei suoi componenti, non solo nutrizionali, ma anche funzionali, costituisce un vero e proprio "sistema biologico", che, secondo le attuali conoscenze, si associa non solo a migliori parametri di crescita, ma esita anche in un miglior sviluppo neuro-comportamentale e nella prevenzione di varie patologie acute e croniche.

In particolare, sappiamo che l'allattamento al seno svolge un ruolo preventivo insostituibile nei confronti di infezioni della prima infanzia, di obesità e di patologie ad essa correlata, di patologie metaboliche, di patologie immunomediate e di ipertensione in età adulta (NCD).

Si può dunque affermare che, un intervento di tipo nutrizionale in epoca precoce come l'allattamento al seno, può programmare (programming) lo sviluppo futuro dell'individuo ed il suo stato di salute (outcome).

Il latte materno agendo in un periodo critico dello sviluppo e modificando l'outcome di un individuo può essere considerato, in alcuni casi, un fattore epigenetico in grado di

influenzare positivamente l'espressione genica e quindi il fenotipo individuale senza alterare la sequenza nucleotidica del DNA.

A sostegno di queste affermazioni, uno studio condotto nell'anno 2010 evidenzia come l'allattamento al seno, in misura dose dipendente, moduli l'effetto negativo di un polimorfismo genetico (Pro12Ala) del gene PPAR $\gamma$ 2 sul tessuto adiposo, esitando in più bassi valori di BMI, circonferenza addominale e pliche cutanee nei soggetti che hanno questo polimorfismo e che sono stati allattati al seno rispetto a quelli non allattati al seno.

L'allattamento materno, che apporta un intake più elevato di colesterolo in età precoce, sembra anche avere azione di down regolazione sull'enzima idrossimetaril-glutaril -CoA reduttasi epatica riducendo la sintesi endogena di colesterolo. Resta da indagare se tale pattern metabolico persista in età adulta.

Anche nei confronti di patologie acute multifattoriali, l'allattamento materno può essere considerato un determinante epigenetico positivo. In particolare, sembra avere un ruolo protettivo nei confronti dello sviluppo di enterocolite necrotizzante neonatale mediante l'inibizione dell'espressione del gene dell'interleuchina 8 coinvolta nella patogenesi di questa temibile complicanza.

Se consideriamo l'allattamento materno un beneficio non solo per il lattante ma anche per la madre, esso può essere considerato un fattore epigenetico positivo in quanto è stato dimostrato che donne con mutazioni del gene BRCA1 che allattano al seno per un periodo cumulativo totale superiore ad un anno, hanno un rischio più basso di sviluppare carcinoma mammario rispetto alle donne con le stesse mutazioni che non hanno mai allattato al seno.

Sono necessari ulteriori studi che forniscano maggiori delucidazioni in merito alla relazione tra allattamento al seno ed espressione genica in particolare in tema di prevenzione.

In ogni caso, considerato il ruolo cruciale del latte materno nello sviluppo di ogni individuo, il sostegno e la promozione dell'allattamento al seno devono essere le priorità di ciascun punto nascita e di ciascuna comunità.

Le organizzazioni internazionali raccomandano l'allattamento al seno esclusivo nei primi sei mesi di vita e la prosecuzione dell'allattamento al seno durante l'intero periodo del divezzamento.

Pertanto, latte materno come determinante precoce di salute per tutti i neonati ed ancor più per quelli che esprimono particolari polimorfismi genetici a maggior rischio di patologie ma anche latte materno come determinante precoce del gusto del bambino.

Infatti, il latte materno contiene numerosi aromi che la madre assume nella dieta, è un alimento "dinamico": la sua composizione varia di giorno in giorno col variare dell'alimentazione materna. Tali variazioni sono sia qualitative che quantitative. Gli aromi naturali derivanti dagli alimenti (come aglio, menta o vaniglia) si riscontrano nel latte circa 1-2 ore dopo il consumo. Le esposizioni a questi sapori forniscono al bambino l'opportunità di farne esperienza e imparare ad apprezzare sapori nuovi.

La risposta del bambino ad un sapore dipende sia dalla varietà delle esposizioni che dalla durata di queste. Il sapore del latte materno, infine, può influenzare le successive preferenze dei neonati.

Alcuni ricercatori americani del Monell Chemical Senses Center di Philadelphia (Stati Uniti) hanno formato tre gruppi di donne incinte (45 donne in tutto).

Il primo gruppo ha bevuto succo di carota quattro volte alla settimana per tre settimane alla fine della gravidanza, poi acqua dopo la nascita.

Il secondo gruppo ha bevuto acqua alla fine della gravidanza, poi succo di carota durante i primi due mesi del periodo di allattamento.

Infine, il gruppo di controllo era costituito da donne che bevevano acqua prima e dopo la gravidanza.

I ricercatori hanno poi monitorato l'introduzione di cereali nel regime alimentare dei bebè verso i cinque mesi e mezzo. In un caso, questi cereali erano accompagnati da succo di carota, nell'altro, erano accompagnate da acqua.

Gli scienziati hanno notato che i bambini esposti al succo di carota nel ventre della madre o durante l'allattamento consumavano una quantità molto più elevata di cereali al gusto di carota rispetto agli altri. Inoltre, secondo le madri incaricate di notare il livello di soddisfazione, questi bebè avevano l'aria di apprezzare molto più i pasti al gusto di carota. Questo studio proverebbe così il ruolo predominante della madre durante la formazione dei gusti del bambino in materia alimentare.

Il latte artificiale, per contro, ha sempre lo stesso sapore ed è un alimento monotono, spesso insaporito con vanillina per aumentare il gradimento da parte del neonato.

È stato dimostrato che adolescenti ed adulti allattati artificialmente preferiscono campioni di ketchup aromatizzati alla vanillina. Al contrario, soggetti allattati al seno preferiscono campioni non aromatizzati

### **Il latte materno:**

- È sempre igienicamente adeguato, alla giusta temperatura e pronto per l'uso
- È costituito da una miscela di sostanze nutrienti perfette
- È facilmente digeribile
- Protegge dalle infezioni e dall'enterocolite necrotizzante (NEC) del prematuro
- Protegge dalle allergie
- Protegge dall'obesità e dal diabete
- Protegge da alcuni tumori (linfomi, leucemie)
- Previene (o ritarda) la celiachia
- Modula il sistema immunitario, potenzia le vaccinazioni

### **L'allattamento al seno:**

- Favorisce lo sviluppo intellettuale, emotivo e sociale del bambino
- Riduce i problemi ortodontici del bambino
- Riduce il rischio di SIDS
- Facilita il rapporto con la madre
- Ritarda una nuova gravidanza
- Contribuisce a un migliore stato di salute della madre

## Per la mamma:

- Protezione dai tumori della sfera riproduttiva
- Protezione contro l'osteoporosi
- Pianificazione familiare (LAM)
- Empowerment e azione antagonista sulla depressione postpartum
- Vantaggio ecologico
- Riduzione dei costi familiari, sanitari e sociali

L'OMS e il Ministero della Salute raccomandano un avvio precoce ed esclusivo dell'allattamento fin da subito dopo il parto.

L'UNICEF e l'OMS hanno definito quali sono i criteri che la maternità deve applicare per promuovere l'allattamento al seno e raccomandano che l'allattamento esclusivo sia condotto fino ai 6 mesi compiuti del bambino.

È evidente che non tutte le donne possono allattare (per la presenza di controindicazioni), non tutte vogliono allattare (ma è importante comunque fornire spiegazioni e supporto, qualunque sia la loro scelta), non tutte riescono ad allattare (limite alla produzione, scarsa crescita del bambino).

Puntare all'esclusività al seno è un importante obiettivo, perché garantisce meglio la continuazione nel tempo dell'allattamento al seno e perché esiste un rapporto dose-effetto tra allattamento (durata ed esclusività) e beneficio di salute sia per la madre (es. riduzione del rischio di cancro al seno), sia per il bambino (es. riduzione del rischio di obesità).

Non vi è alcun vantaggio nell'introdurre cibi diversi dal latte materno nell'età compresa tra 4 e 6 mesi di vita, in un bambino la cui crescita risulti adeguata e in cui la madre sia serena e convinta nel continuare ad allattare solo al seno.

Dal 6° mese di vita compiuto (terza raccomandazione) viene suggerita l'introduzione di alimenti complementari. È il momento di dare cibi semisolidi e solidi con il cucchiaino, ma

non è necessario smettere di allattare al seno. Va considerato che in caso si decida di svezzare il bambino, è meglio offrire alimenti con il cucchiaiino piuttosto che scegliere di dare una formula con il biberon.

Infine, OMS e Ministero della Salute (quarta e ultima raccomandazione) suggeriscono di proseguire l'allattamento al seno parziale e occasionale fino ai 2 anni di vita e oltre, in base al desiderio comune di mamma e bambino.

Infatti, il latte materno è nel secondo anno di vita ancora ricco di nutrienti e fattori biologici (es. IgA), anche se questi diventano essenziali a questa età solo in contesti di povertà. Non vi sono motivazioni scientifiche per scoraggiare un allattamento di lunga durata, in particolare non sono state confermate le ventilate conseguenze psicologiche negative per madre e bambino, ma al contrario si assiste a una facilitazione a un corretto sviluppo psicologico e sociale del bambino.

# Nutrigenetica e Nutrigenomica

Nutrigenetica e nutrigenomica sono due termini di relativamente recente introduzione e comunque non ancora molto noti al grande pubblico.

L'alimentazione ha un impatto importante su diversi aspetti della nostra vita e ha notevoli risvolti psicologici e socio-culturali. Recenti tecnologie di biologia molecolare hanno mostrato una correlazione tra cibo e DNA: non solo è stato possibile validare scientificamente la constatazione empirica che persone diverse rispondono in modo molto diverso ad alimenti uguali, ma si è visto che i cibi possono addirittura modificare il nostro DNA e l'espressione di alcuni geni.

La scienza che studia i rapporti tra il patrimonio genetico, il genoma, e la variabilità interindividuale ai cibi è la nutrigenetica (anche genetica nutrizionale), un termine introdotto da Brennan nel 1975, mentre la disciplina che si occupa di studiare correlazioni tra alimenti e modifiche del DNA è la nutrigenomica (anche genomica nutrizionale).

## Nutrigenetica

Il fatto che diverse persone reagiscano in modo differente al cibo è esperienza comune a tutti. Capire però come queste differenze interindividuali siano geneticamente definite è stata una sfida della biologia molecolare e della biostatistica contemporanee.

Dati provenienti da screening genetici su larghissima scala definiti *GWAS (Genome-Wide Association Studies)* hanno evidenziato che la presenza di particolari varianti geniche (definite *SNPs, Single Nucleotide Polymorphisms*) è associata alla predisposizione a diverse malattie tra cui diabete, patologie autoimmunitarie e addirittura alcune forme di cancro.

Un esempio molto studiato è la variante “termosensibile” dell’enzima metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR), un enzima coinvolto nella sintesi dell’acido folico. La presenza di questa variante è fortemente correlata all’accumulo nocivo di omocisteina (iperomocisteinemia), un metabolita che se presente in eccesso può provocare danni a vasi sanguigni aumentando indirettamente l’incidenza di malattie cardiovascolari.

Un altro caso in cui la variabilità inter-individuale ha degli effetti importanti sulla salute è quello delle ipercolesterolemie. Per anni si è saputo che non esiste una chiara associazione tra la quantità di colesterolo assunto con la dieta e la concentrazione plasmatica di colesterolo. Questa variabilità sembra essere dovuta alla presenza di una variante di apolipoproteina E (apoE), una proteina coinvolta nel metabolismo dei grassi e del colesterolo. Sembra che, a parità di grassi introdotti con la dieta, le persone con la variante E4/4 accumulino più colesterolo di quanto non accada alle persone con la variante E2/2 di questa proteina.

Oltre a questi casi, dove la correlazione tra variante genica e malattia è ancora da stabilire con certezza, esistono esempi di disfunzioni enzimatiche che causano intolleranze alimentari o malattie metaboliche più pericolose come la celiachia o la fenilketonuria (una patologia genetica abbastanza rara provocata da mutazioni del gene deputato alla biosintesi della fenilalanina idrossilasi, l'enzima che converte la fenilalanina in tirosina).

## **Nutrigenomica**

Se da un lato, come abbiamo illustrato nel paragrafo precedente, il nostro corredo genetico regola la risposta individuale al cibo di cui ci nutriamo, sta emergendo che il cibo può cambiare in modo significativo l'espressione genica.

Recenti esperimenti hanno dimostrato, per esempio, che sia il colesterolo che i grassi assimilati con la dieta hanno un profondo effetto sulla regolazione dell'espressione di geni coinvolti nel metabolismo dei grassi, suggerendo che ciò che mangiamo può controllare il modo in cui digeriamo i cibi stessi.

I nutrienti possono controllare l'espressione di geni non direttamente associati al metabolismo: per esempio, i carboidrati controllano l'espressione genica di geni coinvolti nella risposta allo stress cellulare.

Come abbiamo già visto, la regolazione dell'espressione genica può avvenire attraverso tre meccanismi: metilazione degli istoni, metilazione del DNA e microRNA. È stato dimostrato che i cibi possono influenzare tutti e tre questi parametri.

La metilazione consiste nell'aggiunta di particolari gruppi funzionali (metile) a DNA e proteine e questo ha un effetto indiretto nel controllare l'attività della DNA polimerasi coinvolta nella trascrizione dei geni. La disponibilità di gruppi metile è quindi un parametro

critico per controllare l'espressione genica. Diversi macro- e micronutrienti sono coinvolti nel fornire "gruppi metile" alla cellula e tra questi ricordiamo il folato, la vitamina B<sub>12</sub>, la colina, la metionina e la treonina.

Appare quindi evidente come la nutrizione sia indissolubilmente associata all'espressione genica. Attualmente questa branca della genomica nutrizionale cerca di capire come i diversi cibi possano predisporre a malattie come Alzheimer e cancro con lo scopo ultimo di generare cibi "funzionali" che attivino o blocchino particolari geni. Un esempio è il "superbroccolo", una tipologia di broccolo con alto contenuto di glucorafanino, una molecola con attività cardioprotettiva. Oltre a questo esempio, una varietà di cibi addizionati di vitamine e micronutrienti è già disponibile in commercio da anni.

### **Cosa ci si può aspettare dal futuro?**

Il medico dovrà essere consapevole della presenza di una intrinseca variabilità genetica interindividuale e potrà utilizzare queste informazioni per identificare subpopolazioni a rischio e adottare cure farmacologiche personalizzate.

Per adesso, i benefici della nutrigenetica stanno iniziando a farsi vedere: per esempio, alcuni tipi di diete vengono utilizzate specificamente per pazienti con malattie metaboliche come la fenilketonuria o con particolari forme di epilessia (dieta chetogenica).

Molti cibi, definiti *cibi funzionali*, arricchiti di vitamine o particolari componenti come acidi grassi polinsaturi sono in programma per malattie autoimmuni. Bisognerà capire se il rapporto tra costi e benefici sarà favorevole e se, una volta individuate certe problematiche, le persone saranno disposte ad accettare regimi alimentari specifici.

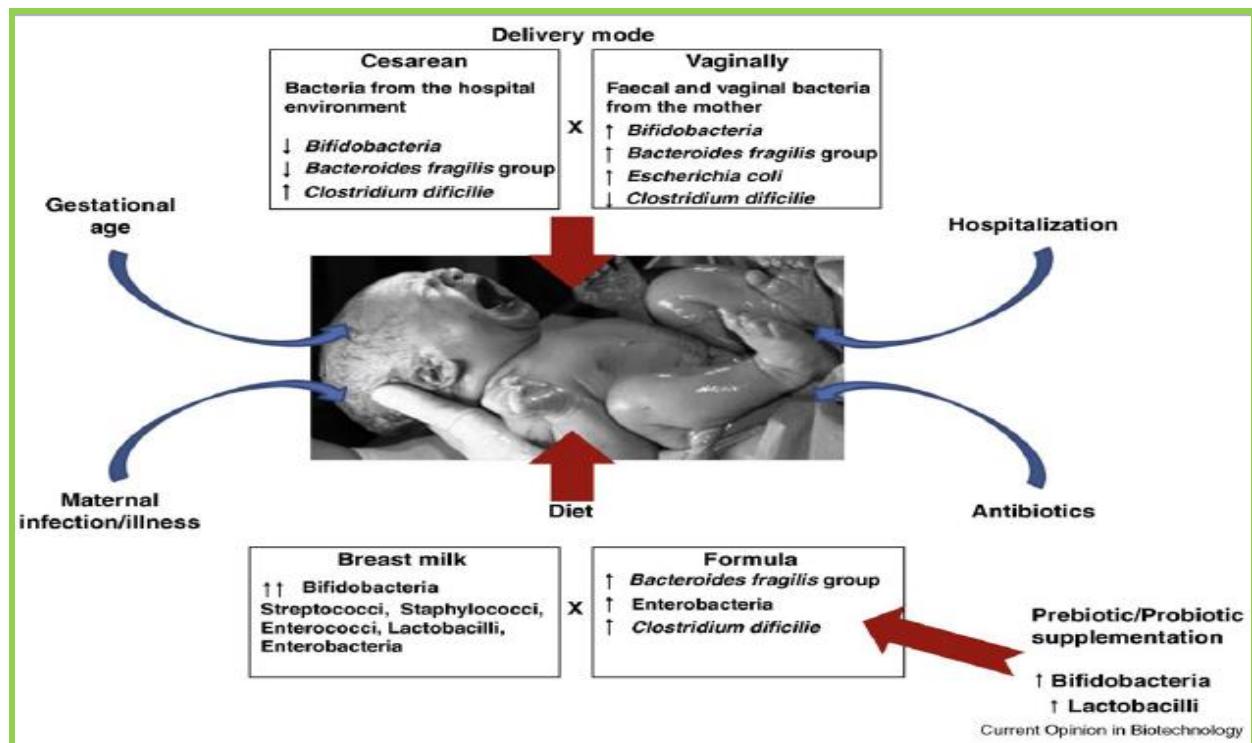
# Il ruolo del microbiota intestinale

L'intestino umano è senza dubbio l'organo da un punto di vista dimensionale più vasto, e questo non in quanto lungo 9 metri ma in quanto "ampio" circa 400 m<sup>2</sup>. Esso è capace di far transitare circa 60-80 tonnellate di cibo nell'arco di una vita media. L'intestino di un soggetto adulto ospita circa 500 specie unicellulari. Queste quasi tutte batteriche e un tempo identificate come "flora o microflora intestinale" sono oggi più comunemente definite come "microbiota" con funzioni fondamentali e vitali per il benessere e la sopravvivenza stessa dell'individuo.

L'intestino umano, sterile alla nascita, viene rapidamente colonizzato da microrganismi (batteri commensali e patogeni, funghi, protozoi e virus) fino ad ammontare a circa 10 alla 14 cellule in un individuo adulto.

Il numero è realmente enorme: lo stesso valore corrisponde al numero di cellule che compongono i corpi di 10 individui del peso di circa 80 kg ciascuno.

## Lo sviluppo della flora intestinale



All'inizio l'intestino è sterile e subisce la prima contaminazione per via orale a partire dalla flora vaginale (e anale) materna proprio durante il parto.

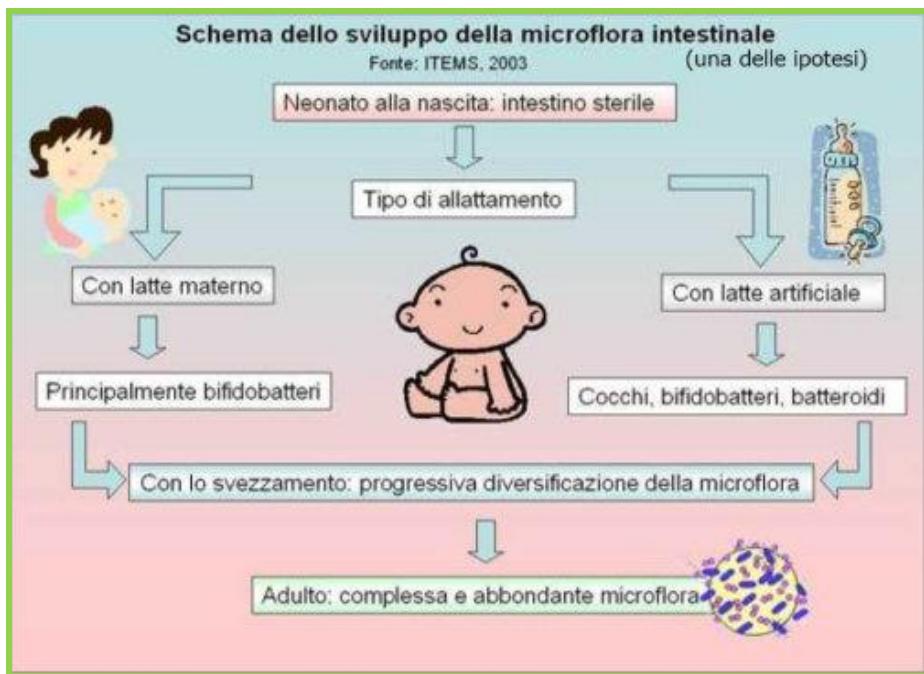
Intorno al 4° giorno di vita il microbiota del neonato cessa di essere riconducibile esclusivamente al microbiota vaginale materno (ma ne conserverà per sempre l'impronta) ed inizia ad essere leggermente più eterogeno a causa dell'influenza della dieta.

A partire dal 20° giorno dalla nascita e fino al 4°-6° mese si sviluppa una flora primariamente costituita da bifidobatteri. Questo fenomeno è particolarmente evidente nei neonati allattati al seno. Con lo svezzamento si assiste poi ad una lenta transizione che condurrà fino ad una composizione sovrapponibile a quella di un soggetto adulto.

La flora risulterà a questo punto essere segmento specifica lungo l'asse gastro-intestinale: lo stomaco conterrà essenzialmente i generi *Candida*, *Helicobacter*, *Lattobacillus*, *Streptococcus*; il duodeno e il digiuno conterranno *Bacteroides*, *Candida*, *Lattobacillus*, *Streptococcus*; l'ileo conterrà *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lattobacillus*, *Veillonella*; il colon *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Streptococcus*.

Da un punto di vista quantitativo si riconoscono: 10 alla 10 batteroidi, 10 alla 9 bifidobatteri, 10 alla 9 eubacteriacee, 10 alla 9 streptococchi, 10 alla 8 batteri lattici.

Il microbiota di ogni individuo ha una specifica "impronta digitale" vale a dire un profilo batterico specifico e differente da quello degli altri individui; ciononostante esiste un nucleo di 57 specie batteriche che possono essere considerate comuni a tutti gli individui.



## Le funzioni del microbiota

Il microbiota batterico è una vera e propria barriera in grado di proteggere l'organismo dall'attacco dei patogeni; sollecita e aiuta la risposta immunitaria; è coinvolto nella genesi immunologica di alcune patologie (ad es l'asma), favorisce i processi digestivi e le funzioni intestinali; produce vitamine e micronutrienti; produce acido lattico, perossido di idrogeno e surfattanti.

Il microbiota è anche responsabile della produzione locale di batteriocine, sostanze ad azione antibatterica che agiscono in maniera ristretta per genere e ricchezza ecologica.

Il microbiota risulta anche fondamentale da un punto di vista trofico: tramite la produzione di enzimi regola il metabolismo delle sostanze esogene e contribuisce a mantenere la struttura e la motilità del tubo digerente regolando la composizione dei gas intestinali e delle feci.

Partecipa, inoltre, alla regolazione del Ph gastro-enterico, alla sintesi delle vitamine (soprattutto K e B 12) e infine al metabolismo dei farmaci.



### L'eubiosi e la disbiosi

Un microbiota equilibrato è caratterizzato dall'essere preferenzialmente saccarolitico e dalla presenza di un numero significativo di bifidobatteri e lattobacilli. Infatti questi batteri sono prevalentemente glucidi-fermentanti a differenza di altri gruppi (tipo Clostridium) che sono anche capaci di proteolisi.

I prodotti derivanti dalla fermentazione dei carboidrati sono principalmente gli acidi grassi a catena corta, coinvolti negli aspetti di protezione mucosale colonica; quelli derivanti dal catabolismo proteico e amminico hanno un comportamento tossico.

Il neonato, soprattutto o esclusivamente allattato al seno, presenta un microbiota costituito prevalentemente da bifidobatteri che si ritiene possano essere parte integrante della difesa del bambino contro i microrganismi patogeni e primer di stimolo maturativo del sistema immunitario.

Si ritiene che il microbiota neonatale si nutra degli oligosaccaridi del latte materno che può essere considerato la miscela prebiotica originale.

## I prebiotici

Sono il substrato indigeribile dall'organismo umano utilizzato dai probiotici per espletare la loro azione. Sono componenti non digeribili che stimolano selettivamente la crescita e l'attività di un limitato numero di batteri residenti nel colon. I principali sono oligosaccaridi fruttooligosaccaridi (FOS) galatto-oligosaccaridi (GOS) e inulina.

I prebiotici resistono all'azione degli enzimi digestivi e raggiungono il colon inalterati prevenendo l'adesione di batteri patogeni a livello della mucosa intestinale e svolgendo un'azione di recettori solubili per i batteri patogeni e per le tossine da essi prodotti, con un effetto preventivo nei confronti dello sviluppo delle infezioni.

Il latte materno contiene oltre 130 differenti carboidrati e, in media, una quantità di oligosaccaridi pari a 12-15 g/l, pertanto può essere considerato il prebiotico per eccellenza.

I dati attualmente disponibili dimostrano l'assenza di effetti avversi correlati alla supplementazione di formule per l'infanzia con prebiotici.

## I probiotici

Sono microorganismi vivi e vitali, ad effetto benefico sulla flora batterica intestinale.

La supplementazione probiotica è generalmente considerata sicura in quanto sono identici ai microrganismi presenti nella flora vaginale materna e nel tratto digerente.

Un recente studio randomizzato in doppio cieco ha valutato l'effetto dei probiotici sulla riduzione delle infezioni in età pediatrica: ha dimostrato che l'assunzione di formula contenente probiotici potrebbe essere una strategia utile nel ridurre il rischio di IRR e conseguentemente l'uso di antibiotici nel primo anno di vita.

# La prevenzione delle “Non Communicable Diseases” (NCD)

Studi recenti hanno suggerito che molte delle patologie più comuni dell'età adulta (malattie cardiovascolari, diabete tipo 2, ipertensione, ecc) deriverebbero da uno squilibrio metabolico originatosi in seguito ad una alterata crescita nel periodo fetale e nelle prime fasi della vita extrauterina.

Tali studi sono oggi conosciuti come ipotesi di Barker dell'origine fetale delle patologie dell'adulto (“fetal origin hypothesis”).

## Rischio cardiovascolare

I primi studi epidemiologici effettuati nel Regno Unito hanno seguito fino all'età adulta gruppi di uomini e donne di cui era stato registrato il peso alla nascita. Da questi studi è merso che il rischio di morte legato a patologie cardiovascolari risultava essere maggiore in coloro che alla nascita avevano basso peso presumibilmente derivato da un ritardo di crescita intrauterina.

Anche da studi successivi si evince come bassi tassi di crescita fetale sarebbero più facilmente associati alla comparsa di patologie cardiovascolari in età adulta.

## Ipertensione

Da una revisione sistematica di 34 studi emerge una stretta associazione tra basso peso alla nascita e valori elevati di pressione arteriosa in età prepubere e adulta. Analogamente alle malattie cardiovascolari si sono riscontrati elevati valori di pressione arteriosa in soggetti che alla nascita erano piccoli per età gestazionale.

## Diabete mellito tipo 2 e resistenza insulinica

Una crescita fetale ristretta (“thrifty phenotype”) determinerebbe un ridotto numero di cellule beta pancreatiche e una conseguente ridotta possibilità di produrre insulina. Inoltre, da dati raccolti in letteratura, emerge che una condizione di insulino-resistenza, caratteristica dell'età adulta, indicherebbe la persistenza di un meccanismo di adattamento originatosi in epoca fetale.

Durante la vita fetale, l'asse glucosio-insulina-IGF1 gioca un ruolo chiave nello stimolo alla divisione cellulare. L'insulino-resistenza di specifici tessuti, ad es il tessuto muscolare, permetterebbe la conservazione di glucosio sia riducendo la crescita sia determinando una ridotta massa muscolare con conseguente magrezza alla nascita.

Durante la vita adulta, la persistenza dell'insulino-resistenza nella muscolatura scheletrica determinerebbe una cascata di anomalie metaboliche che potrebbe sottolineare la stretta associazione tra basso peso/magrezza alla nascita e la comparsa di sindrome da resistenza insulinica in età adulta.

La normale variabilità delle dimensioni fetali alla nascita potrebbe quindi avere importanti implicazioni per la salute di tutto l'arco della vita.

Anche se il potenziale di crescita è dettato dal genoma del singolo individuo, l'evidenza suggerisce che esso svolge un ruolo subordinato al tasso di crescita intrauterino, che a sua volta è determinato da fattori materno-placentari.

Sembra, infatti, che il maggior determinante della crescita fetale sia il substrato nutrizionale ed ormonale all'interno del quale cresce il feto.

La dieta e la composizione corporea materna potrebbero a loro volta influenzare l'equilibrio tra richiesta fetali di nutrienti e capacità dell'unità materno-placentare di soddisfare queste richieste.

L'incapacità di soddisfare queste richieste indurrebbe di conseguenza una serie di adattamenti fetali e una serie di modificazioni delle traiettorie di sviluppo che, se presumibilmente vantaggiose per la sopravvivenza a breve termine, potrebbero condurre a modificazioni permanenti della struttura corporea e del metabolismo con conseguenze sulla predisposizione allo sviluppo di patologie cardiovascolari in età adulta.

Un' ulteriore ipotesi, sviluppatasi più recentemente, pone l'accento soprattutto sul tasso di crescita nelle prime fasi di sviluppo della vita extrauterina.

Sono state dimostrate associazioni tra tassi di crescita ponderale nei primi anni di vita e alcuni markers precoci dei principali componenti di sindrome metabolica, ipertensione, dislipidemia, obesità, insulino-resistenza che conducono allo sviluppo di malattie cardio-vascolari.

Questa teoria è stata definita come "teoria dell'ipotesi dell'accelerazione di crescita". Secondo tale ipotesi un eccessivo intake di nutrienti determinerebbe una rapida crescita

nelle prime fasi della vita programmando in modo “avverso” la salute del sistema cardiovascolare.

I vantaggi legati all'allattamento al seno supporterebbero questa ipotesi: i bambini allattati al seno mostrano una curva di crescita più lenta rispetto agli allattati con latte formulato e pertanto sarebbero programmati a diventare adulti con un minor rischio di patologie cardiovascolari.

I recenti sviluppi nella formulazione dei latti sostituti del latte materno sono indirizzati a riprodurre gli effetti funzionali rispetto alla semplice composizione qualitativa attraverso l'aggiunta di molecole a valenza funzionale.

Sono stati considerati:

- possibili modifiche della composizione quantitativa e qualitativa per bilanciare il pattern aminoacidico plasmatico e per ridurre l'introito proteico che potrebbe concorrere alla prevenzione dello sviluppo di sovrappeso e obesità;
- gli acidi grassi polinsaturi a lunga catena (LCPUFA) per la composizione del tessuto cerebrale e per lo sviluppo neurologico;
- i probiotici e i prebiotici per la flora batterica intestinale;
- i nucleotidi per migliorare la risposta immune

Recentemente, la Società Italiana di Nutrizione Umana ha formulato la IV revisione dei LARN (Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti), come insieme di valori di riferimento per macronutrienti, micronutrienti ed energia, sulla base di un'analisi sistematica della letteratura (studi epidemiologici e d'intervento).

I LARN forniscono indicazioni separate per neonati, bambini, adolescenti, adulti e anziani e anche per la gravidanza e l'allattamento.

Nella versione 2014 si forniscono indicazioni più complete su carboidrati, fibra alimentare e grassi, con una maggior attenzione alle relazioni fra tali nutrienti e la riduzione dei rischio di malattie cronico-degenerative, a partire dalle malattie .

Un'importante novità è rappresentata dalla **riduzione, in tutte le fasce d'età, del fabbisogno proteico rispetto a quanto raccomandato precedentemente.**

In accordo con quanto dimostrato da diversi studi osservazionali e d'intervento questa riduzione assume notevole importanza nella primissima infanzia. Sebbene si tratti di un

argomento ancora dibattuto, sembra, difatti, esser presente un'associazione positiva tra elevata assunzione proteica (>15% dell'apporto energetico complessivo) nelle prime fasi della vita e aumentato rischio di sviluppare obesità e "non-communicable diseases" nelle epoche successive.

Anche riguardo l'apporto di carboidrati **la percentuale di energia derivante dai carboidrati passa dal 55-60% al 45-60%** (intervallo di riferimento, RI), un range quindi più ampio.

Inoltre, mentre nel 1996 si raccomandava che il livello di zuccheri semplici nella dieta non dovesse superare il 10-12% dell'energia giornaliera e che potesse essere accettabile una presenza di zuccheri semplici sino al 15-16% dell'energia, **la quarta revisione dei LARN raccomanda di limitare l'assunzione di zuccheri semplici a valori inferiori al 15% dell'energia**, comprendente sia il livello di zuccheri semplici presenti naturalmente negli alimenti sia quelli aggiunti.

Non solo la quantità di carboidrati ma quindi anche la qualità: è importante, infatti, limitare l'assunzione di zuccheri semplici, provenienti ad esempio da succhi di frutta, bevande zuccherine e dolciumi in generale, alimenti molto presenti nella dieta dei bambini, e limitare l'utilizzo di fruttosio come dolcificante così come il consumo di alimenti e bevande formulati con fruttosio. Meglio prediligere, inoltre, alimenti a basso indice glicemico e garantire il giusto apporto di fibra (in età evolutiva = 8,4 g/1000 kcal), preferendo alimenti naturalmente ricchi in fibra alimentare quali cereali integrali, legumi, frutta e verdura.

Per quel che riguarda i lipidi, nel secondo semestre di vita i fabbisogni della popolazione rappresentata dai piccoli lattanti sembrano soddisfatti da una percentuale di energia derivante dai lipidi pari al 40%, mentre durante la primissima infanzia (1-3 anni) si considera ottimale che ben il 35-40% dell'energia totale derivi da lipidi. Infine, per i bambini di età superiore ai 4 anni, così come per l'adulto, l'intervallo di riferimento risulta compreso tra il 20-35% dell'energia totale, aumentando quindi la sua ampiezza rispetto a quanto indicato nei LARN 1996 (25-30% En a partire dai 2 anni).

Si conferma, inoltre, l'attenzione a mantenere un apporto di grassi saturi inferiore al 10% dell'energia totale e a limitare quanto più possibile l'assunzione di acidi grassi trans, correlati allo sviluppo di patologie cardiovascolari e aterosclerosi. Importante, inoltre, la parte dedicata agli acidi grassi polinsaturi omega-3: nel bambino di età superiore ai due

anni sembra adeguata un'introduzione pari a 0,5-2% dell'energia, con almeno 250 mg/die sotto forma di EPA+DHA; nel bambino con meno di due anni, invece, l'assunzione di ulteriori 100 mg/die di DHA oltre ai 250 mg/die di EPA-DHA sembra sufficiente a soddisfare il fabbisogno di questa particolare categoria, anche in relazione ad una possibile influenza sullo sviluppo neurologico e cognitivo.

Infine, è bene ricordare che i lattanti e i bambini sono i gruppi maggiormente vulnerabili a deficit di vitamine e minerali, a causa dell'elevata quantità di macronutrienti di cui necessitano per la crescita.

La quarta revisione dei LARN dedica a ciascun micronutriente grande attenzione, fornendo diversi valori di riferimento, che vanno dall'assunzione raccomandata per la popolazione (PRI) e assunzione adeguata (AI) al livello massimo tollerabile di assunzione (UL), differenti in base alle diverse fasce d'età ed esigenze.

# Dalla teoria alla pratica: take home messages

## **Piccoli buongustai crescono se:**

### **1. Si condivide la tavola insieme come rito, come esperienza arricchente per una buona alimentazione.**

Bisogna che genitori e figli (di tutte le età) condividano almeno un pasto al giorno, sempre.

Così l'esperienza diventa regola e si struttura nel tempo come un atto indispensabile e irrinunciabile. Occasione di incontro, dialogo, scambio, relazione.

### **2. Non si propone il piatto preferito tutti i giorni.**

Assecondare i gusti dei bambini senza costringerli a mangiare alimenti che non amano.

Riproporre sempre ciò che "non amano mangiare", ma mai costringerli, né anteporre il mangiare come contro-prova all'amore verso i genitori ("se mi vuoi bene devi mangiare").

Riproporre lo stesso cibo che il piccolo inizialmente aveva rifiutato è molto utile per indurre tolleranza e anche molto semplice da attuare nel primo anno di vita, perché a quest'età egli non riconosce e non ricorda, solo guardando, il cibo che non gli piace.

### **3. Si propone un piatto con varietà di colori e di sapori: la chiave è la multisensorialità.**

Usare la dieta mediterranea per tutti, anche con i piccoli da svezzare, e usare cibo ad alta densità nutrizionale per tutta la famiglia.

### **4. Non si usa mai il cibo come mezzo di gratificazione o di punizione.**

Occorre evitare che i bambini apprendano precocemente l'emotional eating, cioè l'uso inconsapevole del cibo come strumento di regolazione delle emozioni. Per fare questo è opportuno non usare mai il cibo come premio o punizione: se fai questo ti dò una merendina, attento perché vai a letto senza cena.

### **5. si cura la tavola apparecchiata, riempendola di colori e di profumi.**

Perché ciò che è bello è anche buono! Quando i bambini saranno più grandicelli, chiedere loro di produrre qualcosa di bello per "apparecchiare" la tavola, magari soprattutto nei giorni di festa o quando ci sono degli invitati.

### **6. Si scandiscono i tempi dei pasti, non si asseconda il "fuori pasto".**

C'è un momento per ogni cosa e così deve essere anche per il mangiare. L'orologio alimentare ricorderà a noi e a loro che si mangia 4 volte al giorno: colazione (al mattino), pranzo, merenda (al pomeriggio), cena.

## Bibliografia

1. M Amarasekera et al " Nutrition in early life, immune-programming and allergies: the role of epigenetics", Asian Pac J Allergy Immunol 2013, 31:175-82
2. F Backhed "Programming of host Metabolism by the gut microbiota" Ann Nutr Metab 2011 , 58 (suppl), 44-52
3. Barrat-Fornell et al. "The taste of health: nature's bitter gifts" Nutrition Today , 2002, 37, 144-150
4. Belfort MB et al. "Infant feeding and childhood cognition at ages 3 and 7 years: effects of breastfeeding duration and exclusivity" JAMA Pediatr 2013; 167: 836-44
5. R Berni Canani et al "Epigenetic mechanisms elicited by nutrition in early life" Nutrition Research review 2011, 24: 198-205
6. LL Birch "Effects of peer models' food choices and eating behaviours on preschoolers' food preferences" Child Development, 1980, 51, 489-496
7. B Brenseke et al "Current thoughts on maternal nutrition and fetal programming of the metabolic syndrome" J Pregnancy 2013, article ID 368461
8. Cetin I et al.; "Working Group on Breastfeeding, Italian Society of Perinatal Medicine and Task Force on Breastfeeding, Ministry of Health, Italy. Breastfeeding during Pregnancy: Position Paper of the Italian Society of Perinatal Medicine and the Task Force on Breastfeeding, Ministry of Health, Italy". J Hum Lact 2014; 30: 20-7
9. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. "Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease". Lancet 2002; 360: 187-95
10. LJ Cooke et al "Genetic and environmental influences on children's food neophobia" American Journal of Clinical Nutrition, 2007, 86, 428-433
11. Cova MA et al. "Radiological contrast media in the breastfeeding woman. Position Paper of Italian Society of Radiology (SIRM), Italian Society of Pediatrics (SIP), Italian Society of Neonatology (SIN) and Task Force on Breastfeeding, Ministry of Health, Italy". Eur Radiol 2014; 24: 2012-22
12. LA Da Costa et al "Nutrigenetics and Modulation of Oxidative Stress", Ann Nutr Metab 2012, 60 (suppl), 27-36(S)
13. Deoni SC et al. "Breastfeeding and early white matter development: A cross-sectional study". Neuroimage 2013; 82: 77-86

14. Drewnowski A et al "Bitter taste, phytonutrients, consumer: a review." *American Journal of Clinical Nutrition*, 2000, 72, 1424-1435
15. P Gasparini "Sviluppo del gusto nel bambino: tra genetica e ambiente", *Medico e Bambino* 2010, 29: 483-484
16. A Gabory et al "Developmental programming and epigenetics" *Am J Nutr* 2011, 94(suppl): 1943(S)-52S
17. L. Greco et al " Lo sviluppo del gusto nel bambino" *Medico e Bambino* 2010, 29: 509-513
18. Guilloteau P et al "Adverse effects of nutritional programming during prenatal and early postnatal life, some aspects of regulation and potential prevention and treatments" *J Physiol and Pharmacol* 2009, 60(suppl) 3, 17-35
19. Koletzko B et al "The early nutrition programming project (EARNEST): 5 y of successful multidisciplinary collaborative research" *Am J Clin Nutr* 2011, 94(suppl), 1749S-53S
20. MA Hanson " Epigenetic epidemiology: the rebirth of host inheritance, *Ann Nutr Metab* 2011, 58(suppl), 8-15
21. M Hanson et al "Developmental plasticity and developmental origins of non-communicable disease: theoretical considerations and epigenetic mechanisms" *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 2011, 106:272-280
22. Heikkilä K et al. "Breastfeeding and educational achievement at age 5". *Matern Child Nutr* 2014; 10: 92-101
23. Hounsome N. et al "Plant metabolites and nutritional quality of vegetables" *Journal of Food Science*, 2008, 73, 48-65.
24. SC Langley-Evans "Nutritional programming of disease: unravelling the mechanism" *J Anat* 2009, 215: 36-51
25. SC Langley-Evans "Nutrition in early life and programming of adult diseases: a review", *J Hum Nutr Diet* 2014, 1-14
26. E Lattka et al "Genetic variations in polyunsaturated Fatty Acid Metabolism- Implications for Child Health?", *Ann Nutr Metab* 2012, 60 (suppl) 8-17 (S)
27. F Laugeronne et al "CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretion" *Journal of Clinical Investigation*, 2006, 115, 3177-3184.
28. KA Lillycrop "Nutrition and epigenetics. Effect of maternal diet on the epigenome: implication for human metabolic disease" *proceedings of the Nutrition society* 2011, 70: 64-72
29. A Maier A et al. "Effect of repeated exposure on acceptance of initially disliked vegetable in 7-months old infants" *Food Quality and Preferences*. 2007, 18; 1023-1032
30. Mennella JA et al. "Maternal diet alters the sensory quality of human milk and the nursing's behaviour" *Pediatrics*, 1991, 88, 737-744.
31. Mennella JA et al "Prenatal and postnatal flavour learning by human infants" *Pediatrics*, 2001, 107, 88.
32. Mennella JA et al. "Flavor experience during formula feeding are related to preferences during childhood" *Early Human Development*, 2002, 68, 71-82.

33. S Nicklaus et al "A prospective study of food variety seeking in childhood, adolescence and early adult life" *Appetite*, 2005, 44, 289-297
34. JA Mennella et al " Genetic and environmental determinants of bitter perception and sweet preferences" *Pediatrics*. 2005, feb;115(2): 216-22.
35. AJ Nauta et al "relevance of pre- and post-natal nutrition to development and interplay between the microbiota and metabolic and immune systems" *Am J Nutr* 2013, 98(suppl), 586S-93S
36. MS Patel et al "Metabolic Programming in the Immediate postnatal life", *Ann Nutr metab* 2011, 58(suppl) 18-28
37. FM Ruemmele "Why are genetics important for nutrition? Lessons from epigenetics research", *Ann Nutr metab* 2012, 60 (suppl), 38-43 (S)
38. Sachs HC. Committee on Drugs. "The transfer of drugs and therapeutics into human breast milk: an update on selected topics". *Pediatrics* 2013; 132: e796-809
39. Sacker A et al. "Breast feeding and intergenerational social mobility: what are the mechanisms?" *Arch Dis Child* 2013; 98: 666-71
40. CB Saper et al "The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating" *Neuron*, 2002, 36, 199–211.
41. Sullivan S, Birch LL. "Infant dietary experience and acceptance of solid foods.", *Pediatrics*, 1994, 93, 271-277.
42. BJ Tepper et al. "Genetic variation in taste sensitivity to 6-n-propylthiouracil and its relationship to taste perception and food selection" *Ann N Y Acad Sci.* 2009, 1170, 126-139.
43. P Tounian "Programming towards childhood obesity" *Ann Nutr Metab* 2011, 58 (suppl) 30-41
44. E. Verduci et al "Epigenetic Effects of Human Breast Milk", *Nutrients* 2014 6, 1711-1734
45. MH Vickers "Early Life nutrition, epigenetics and programming of later life disease", *Nutrients* 2014, 6, 2165-2178
46. J Wardle et al "Modifying childrens' food preferences: the effect of exposure and reward on acceptance of an unfamiliar vegetable" *European Journal of Clinical Nutrition*, 2003, 57, 341-348
47. JA Woo Baidal et al "Reducing Hispanic Children's Obesity Risk Factors in the first 1000 days of life: a qualitative analysis", *J Obesity* 2015 article ID 945918

