

# ALIMENTI FUNZIONALI E NUTRIGENOMICA

Beatrice Scazzocchio, Rosaria Vari, Sara Del Papa, Roberta Masella  
Centro di riferimento Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità, Roma

## Introduzione

Molti studi epidemiologici hanno messo in evidenza la capacità di alcuni alimenti di esercitare effetti benefici sulla salute, sia garantendone un miglioramento che riducendo il rischio di malattia, in particolare delle malattie cronico-degenerative nell'insorgenza delle quali l'alimentazione svolge un ruolo determinante (1). Gli alimenti che aggiungono al loro valore nutrizionale specifico una funzione salutistica vengono definiti 'alimenti funzionali'. Il termine venne coniato in Giappone negli anni '80 e da allora è stato ampiamente utilizzato attribuendogli via via significati differenti. Ciò ha generato e tuttora genera, una grande confusione, alimentata dalla mancanza a livello istituzionale, di una chiara definizione dei termini e di una legislazione specifica su questa categoria di alimenti.

Vale la pena quindi citare la definizione riportata nel 1999 all'interno del *Consensus Document* stilato nell'ambito dei lavori del gruppo di studio FuFoSE (*Functional Food Science in Europe*) promosso dalla Commissione europea e coordinato dall'ILSI (*International Life Science Institute*) (2). Secondo tale documento, un alimento funzionale deve:

- possedere effetti addizionali oltre quelli più strettamente nutritivi dovuti alla presenza di componenti, generalmente micronutrienti, che interagiscono selettivamente con una o più funzioni fisiologiche dell'organismo (biomodulazione) in modo tale che risultino evidenti un miglioramento dello stato di salute e di benessere e/o una riduzione del rischio di malattia;
- essere un alimento naturale non modificato, non una pillola, una capsula, o un integratore alimentare;
- esercitare la sua funzione nelle quantità normalmente previste da una dieta equilibrata;
- dimostrare attraverso modelli sperimentali e successivi studi clinici un effetto misurabile sulla salute dell'uomo, cioè i suoi effetti devono essere scientificamente documentati e accertati.

Questo non ha fatto completa chiarezza, anche perché nel frattempo la definizione di cibo funzionale è stata estesa anche a quegli alimenti nei quali alcuni componenti sono stati aggiunti, o modificati, o eliminati mediante processi biotecnologici per aumentarne l'efficacia, la biodisponibilità ecc. Inoltre, l'alimento funzionale viene chiamato anche con il termine nutraceutico molto spesso utilizzato per indicare il componente attivo dell'alimento o un integratore. Il quadro è così complesso che recentemente in un interessante lavoro sono stati analizzati i significati attribuiti ai termini comunemente utilizzati nei lavori scientifici in campo nutrizionale (3) e si è evidenziato come ai termini 'alimento funzionale' e 'nutraceutico' non corrisponda una soddisfacente e chiara definizione comune. Al contrario, termini come 'alimento' o 'regime alimentare' sono molto ben definiti e hanno un chiaro e condiviso significato.

## Dieta mediterranea e alimenti funzionali

La dieta mediterranea, conosciuta come uno dei migliori regimi alimentari per la riduzione del rischio di malattia (4), è caratterizzata da un elevato consumo di frutta e verdura, cereali integrali, legumi, pesce azzurro e olio extravergine di oliva; alimenti funzionali ampiamente studiati e sui quali si sono raccolte evidenze scientifiche tali da supportare un loro ruolo protettivo sulla salute (1). Questa capacità è legata alla presenza in essi di componenti biologicamente attivi, fra i quali vitamine, acidi grassi, fitocomposti, probiotici, in grado di modulare attività cellulari fondamentali o di espletare attività protettive come quella antiossidante, antitrombotica, anticancerogena, ecc. L'individuazione dei componenti attivi contenuti negli alimenti funzionali, così come la definizione della loro efficacia e del meccanismo d'azione richiede un'intensa attività di ricerca che si snoda attraverso un percorso lungo e articolato (Figura 1) al termine del quale è possibile arrivare a definire strategie nutrizionali mirate.

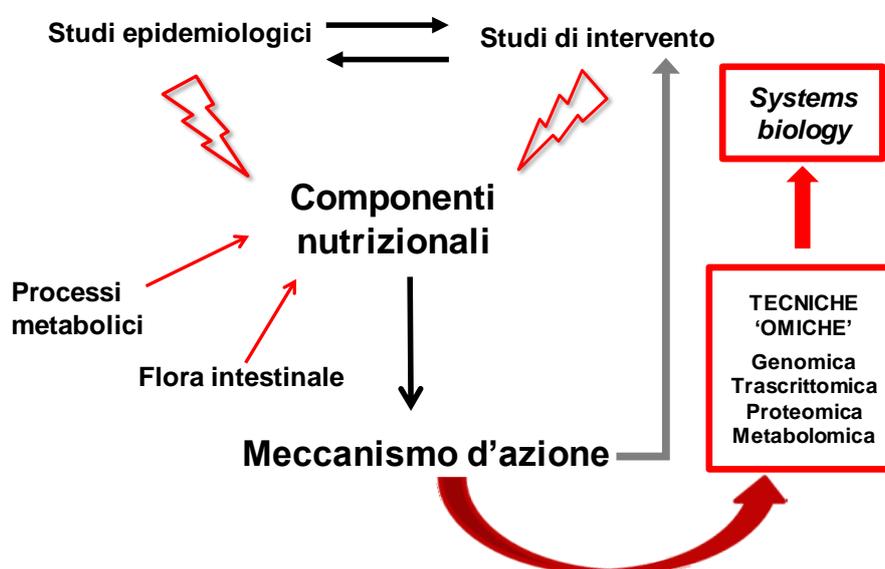


Figura 1. Schematizzazione della attività di ricerca per la definizione di strategie nutrizionali personalizzate

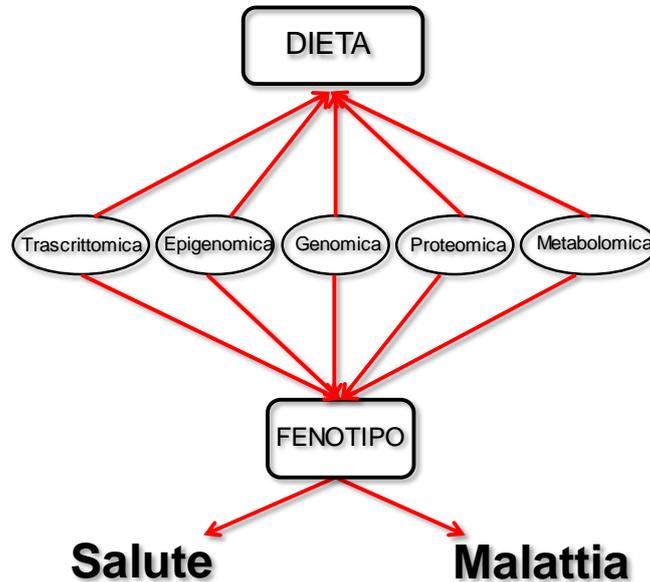
Analisi epidemiologiche permettono di associare il consumo di specifiche categorie di alimenti, o singoli alimenti, ad un miglioramento dello stato di benessere o ad una diminuzione del rischio di malattia. Il dato epidemiologico deve trovare conferma in studi di intervento che, seguendo protocolli ben definiti e controllati, devono dimostrare che il consumo di quello specifico alimento o gruppo di alimenti da parte di popolazioni omogenee e numericamente rappresentative è responsabile degli effetti salutistici osservati nella popolazione generale. Individuato l'alimento funzionale, bisogna identificare i componenti attivi responsabili dell'azione protettiva e il loro meccanismo di azione. Il percorso è piuttosto impervio ed è complicato da vari fattori, primo fra tutti il fatto che i potenziali componenti attivi in un alimento sono numerosi; inoltre, non sempre il componente attivo viene ingerito tal quale, ma molto spesso si forma all'interno dell'organismo grazie a processi metabolici dell'organismo stesso o della flora intestinale. Sia l'individuazione dei componenti bioattivi sia la definizione del loro

meccanismo di azione, almeno nella fase iniziale, si avvalgono di sistemi sperimentali cellulari *in vitro* che, semplificando il contesto di studio, permettono di rivelarne più facilmente i meccanismi di azione. I risultati ottenuti vanno in seguito confermati in modelli animali e infine nell'uomo. È bene sottolineare infatti che per poter trasferire dal piano sperimentale a quello preventivo/terapeutico i dati ottenuti in sistemi cellulari, questi devono essere confermati con studi di intervento mirati a dimostrare *in vivo* l'effetto osservato *in vitro*.

## Nutrigenomica

La possibilità di migliorare la conoscenza dei meccanismi di azione di molti alimenti funzionali è cresciuta significativamente negli ultimi anni grazie all'opportunità di studiare a livello molecolare cosa succede quando un sistema biologico (da una singola cellula ad un organismo in toto) viene 'trattato' con specifici alimenti o loro componenti funzionali.

La nutrigenomica, un nuovo campo della ricerca in nutrizione, studia i meccanismi con i quali gli alimenti funzionali possono influenzare l'espressione dei geni sia a livello di trascrizione in RNA messaggero, che di traduzione in molecole proteiche, che di produzione di metaboliti; in altre parole la nutrigenomica studia come i nutrienti possono modificare il trascrittoma, il proteoma e il metaboloma modulando quindi la funzionalità cellulare. Gli avanzamenti ottenuti in questo campo sono stati resi possibili dallo sviluppo delle nuove tecniche 'omiche', cioè la genomica, la trascrittomica, la proteomica e la metabolomica che permettono di ottenere un profilo quanto mai dettagliato delle caratteristiche funzionali della cellula a livello molecolare. Attraverso tali tecniche si genera una considerevole mole di dati che possono essere analizzati e utilizzati soltanto mediante un approccio bioinformatico nell'ambito della cosiddetta *systems biology* (Figura 2).



**Figura 2. Rappresentazione schematica di come l'alimentazione può interferire con il codice genetico e di come l'organismo risponde modificando il suo fenotipo**

L'obiettivo finale degli studi nutrigenomici è quello di comprendere a quale livello l'alimentazione interferisce con il codice genetico e come l'individuo, in base alle sue caratteristiche personali, risponde a queste interferenze, indirizzandosi verso uno stato di salute o di malattia, così da definire strategie nutrizionali mirate e personalizzate che permettano di aumentare l'efficacia dell'intervento nutrizionale stesso.

## **Polifenoli dell'olio extravergine di oliva**

Un esempio di studio clinico è il progetto spagnolo PREDIMED (*PRE*venção con *DI*eta *MED*iterránea) avviato nel 2003 che aveva l'obiettivo di verificare l'efficacia della dieta mediterranea nella prevenzione di malattie cardiovascolari. Si tratta di uno studio a bracci paralleli, randomizzato e multicentrico che ha coinvolto più di 7000 soggetti, donne e uomini, ad alto rischio cardiometabolico perché affetti da diabete di tipo 2 o perché presentavano almeno 3 fattori di rischio come fumo, obesità/sovrappeso, ipercolesterolemia, ipertensione ecc. I soggetti sono stati divisi in tre gruppi; uno di questi consumava una dieta mediterranea con utilizzo di almeno 30/40 grammi al giorno di olio ExtraVergine di Oliva (EVO); un altro consumava una dieta mediterranea con utilizzo giornaliero di 30 grammi di frutta secca oleosa (noci/mandorle/nocciole); il gruppo di controllo, infine, seguiva una classica dieta a basso contenuto di grassi (5). La sperimentazione è durata sei anni con follow-up annuali. Il dato sulla curva di mortalità per cause cardiovascolari è apparso estremamente interessante poiché mostrava una chiara e significativa riduzione delle morti per eventi cardiovascolari acuti nei due gruppi a dieta mediterranea rispetto a quello di controllo; la dieta mediterranea con olio EVO, inoltre, riduceva significativamente la mortalità per tutte le cause (5). Il consumo delle due diete mediterranee arricchite con olio EVO o frutta secca determinava una modifica del profilo trascrittomico, cioè una diversa espressione di alcuni geni (6) a vario titolo coinvolti nel funzionamento del sistema cardiovascolare, nel trasporto del colesterolo dalle cellule al fegato e nei processi infiammatori.

Numerosi altri studi (7, 8) hanno dimostrato una evidente attività protettiva dell'olio EVO sulla salute; è quindi lecito chiedersi quale siano i componenti in esso contenuti che possano contribuire a tali effetti.

Da sempre l'attività benefica dell'olio EVO è stata attribuita all'alto contenuto di acidi grassi monoinsaturi, ma la letteratura è ormai concorde nel ritenere che le proprietà salutistiche dell'olio EVO siano anche dovute all'elevata presenza di polifenoli. Questi costituiscono una famiglia di circa 8000 fitocomposti, variamente rappresentati negli alimenti vegetali caratteristici della dieta mediterranea. In base alla loro struttura chimica possono essere suddivisi in diverse classi, fra le quali acidi fenolici, alcoli fenolici, stilbeni, lignani e flavonoidi. Da un punto di vista chimico essi sono derivati del benzene e presentano un numero variabile di anelli aromatici e di gruppi idrossilici; questa complessa struttura chimica può mostrare capacità antiossidanti di notevole grado.

Tuttavia, i polifenoli sono generalmente poco assorbiti a livello intestinale e i loro livelli ematici risultano piuttosto bassi (circa 1%) rispetto alle quantità (10-100 mg) effettivamente assunte con gli alimenti. Ciò ha messo in discussione la loro possibile funzione antiossidante visto che nel sangue sono presenti, in quantità molto più elevata, altri forti antiossidanti come la vitamina E, cosa che rende improbabile una possibile competizione dei polifenoli con essi nello svolgimento di difese antiossidanti.

Inoltre, durante l'assorbimento i polifenoli vengono ampiamente modificati dagli enzimi intestinali e/o dalla microflora del colon e una volta assorbiti sono ulteriormente metabolizzati; spesso i componenti bioattivi sono quelli che derivano dalle trasformazioni all'interno

dell'organismo e presentano strutture chimiche completamente diverse da quella originaria potenzialmente antiossidante (9).

La modalità di azione dei polifenoli è risultata molto complessa, infatti negli ultimi anni numerosi studi sia *in vivo* che *in vitro* hanno dimostrato che questi composti possono modulare l'espressione genica e regolare vie di segnale intracellulari, nonché attività enzimatiche e recettoriali; in questo modo essi possono influire sulla funzionalità cellulare. In particolare, i polifenoli dell'olio EVO contribuiscono a ridurre la concentrazione delle *oxidized Low-Density Lipoproteins* (oxLDL) plasmatiche (10), aumentano la concentrazione del colesterolo HDL (colesterolo legato a lipoproteine ad alta densità o *High Density Lipoprotein cholesterol*) (11), e sono in grado di aumentare le difese antiossidanti endogene incrementando l'espressione e l'attività di enzimi come la glutazione perossidasi e la glutazione reduttasi (12). Infine, essi sono capaci di modulare direttamente l'espressione di geni implicati in vie metaboliche e di segnale cruciali (12, 13).

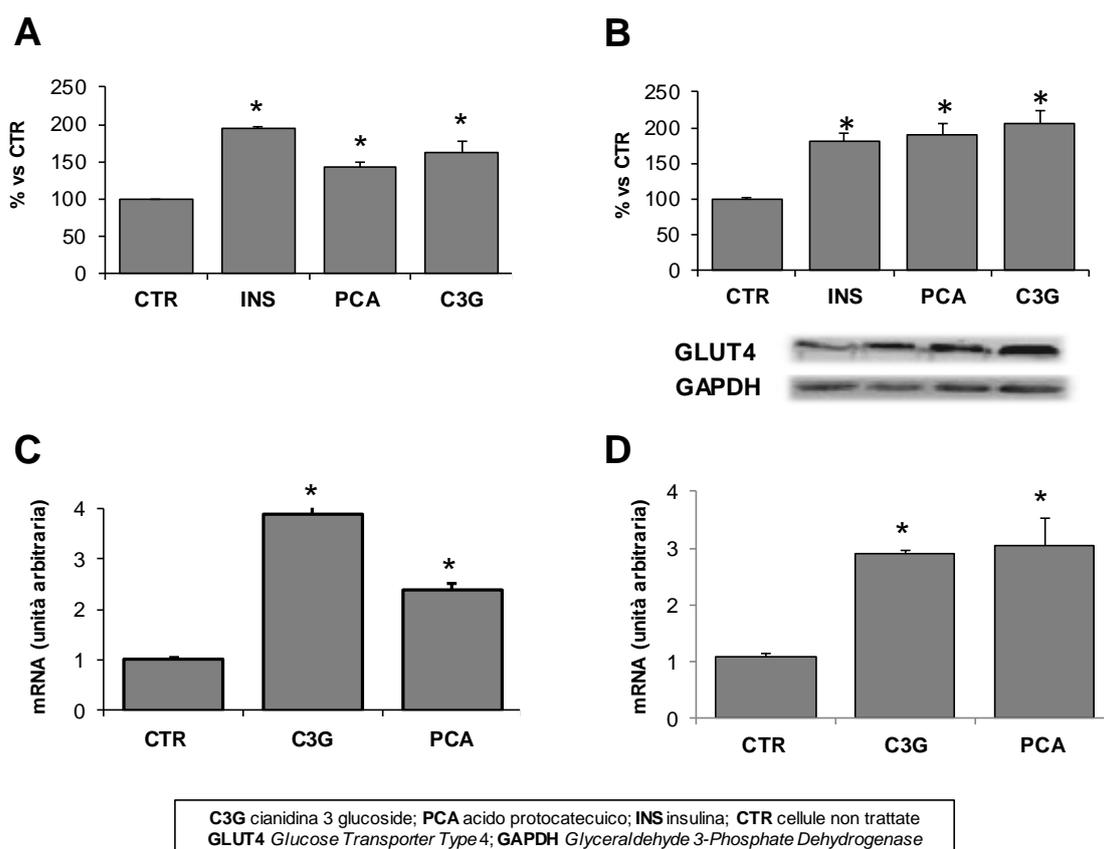
### Attività biologiche delle antocianine

Una classe di polifenoli di forte interesse nutrizionale è quella dei flavonoidi e al suo interno la famiglia delle antocianine, la cui assunzione giornaliera è di molto superiore (180-250 mg/die) a quella degli altri polifenoli alimentari.

La cianidina-3-glucoside (C3G) è una delle antocianine più abbondanti nella frutta (circa il 90%); essa viene velocemente assorbita e metabolizzata in metaboliti con spiccata attività biologica come l'acido protocatecuico (PCA) (14). Il PCA appartiene alla classe degli acidi fenolici derivati dall'acido idrossibenzoico. Il suo contenuto nelle piante commestibili è generalmente molto basso, ad eccezione di alcuni frutti rossi, come i lamponi (83 mg/kg), ma anche le olive nere (210 mg/kg) e la cicoria rossa (250 mg/kg), tuttavia la sua concentrazione nei fluidi biologici dell'uomo può ritenersi molto più alta della semplice quantità ingerita perché esso rappresenta il principale metabolita delle antocianine. Interessanti metanalisi hanno dimostrato che le antocianine e i loro metaboliti esercitano un'ampia gamma di funzioni benefiche e protettive per la salute (15).

Recentemente, uno studio condotto su dati raccolti in grandi coorti negli Stati Uniti, ha dimostrato che a consumi crescenti di antociani corrispondeva una riduzione del rischio di comparsa di diabete di tipo 2 (16). Altri studi di intervento hanno dimostrato che la supplementazione con antociani, in soggetti diabetici determinava un miglioramento dei parametri di ossidazione, infiammazione e insulino-resistenza (17).

Diversi studi suggeriscono che tali effetti potrebbero essere determinati dalla loro capacità di regolare l'omeostasi del glucosio, regolando vie di segnale coinvolte nella risposta delle cellule target all'insulina. In particolare, è stato dimostrato che la C3G e il PCA hanno un'azione insulino-simile, in adipociti omentali, promuovendo lo spostamento del trasportatore del glucosio, il *Glucose transporter type 4* (GLUT4) alla membrana cellulare e quindi l'incorporazione del glucosio. A livello molecolare essi sono in grado di attivare componenti della via di segnale dell'insulina, come il substrato del recettore dell'insulina-1 o *insulin receptor substrate 1* (IRS1), la chinasi inibente l'apoptosi (Akt), e il fattore di trascrizione recettore gamma attivato dai proliferatori dei perossisomi o *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma* (PPAR $\gamma$ ) aumentando l'espressione di uno dei suoi geni target, l'adiponectina, noto per la sua capacità di migliorare la risposta all'insulina e ridurre l'infiammazione (18, 19) (Figura 3).



**Figura 3. Adipociti primari umani isolati da biopsie di tessuto adiposo viscerale trattati con C3G o con il suo metabolita PCA: incorporazione del glucosio (A); traslocazione del GLUT4 sulla membrana plasmatica (le cellule trattate con INS 100nM sono state utilizzate come controllo positivo) (B); espressione di RNA messaggero di PPAR $\gamma$  e adiponectina (C e D)**  
 \*  $p < 0,05$  verso CTR

## Conclusioni

Per arrivare a definire strategie nutrizionali mirate è necessario raccogliere dati scientifici di qualità che permettano di raggiungere un elevato grado di evidenza scientifica attraverso la raccolta di dati epidemiologici e la conduzione di studi clinici di intervento controllati, randomizzati e possibilmente a doppio cieco e studi su sistemi cellulari *in vitro* al fine di individuare l'alimento funzionale, i componenti attivi e il loro meccanismo di azione. Negli ultimi anni gli studi di nutrigenomica hanno evidenziato l'esistenza di interazioni tra alimenti e geni, ponendo le basi per progredire verso interventi nutrizionali personalizzati in grado di aumentarne l'efficacia e di diminuire i costi per il Servizio Sanitario Nazionale.

## Bibliografia

1. Sofi F, Macchi C, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public Health Nutr* 2014;17(12):2769-82.
2. Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document. *Br J Nutr* 1999;81:S1-S27.
3. Aronson JK. Defining 'nutraceuticals': neither nutritious nor pharmaceutical. *Br J Clin Pharmacol* 2017;83(1):8-19.
4. Schwingshackl L, Hoffmann G. Adherence to Mediterranean diet and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int J Cancer* 2014;135(8):1884-97.
5. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, Gómez-Gracia E, Ruiz-Gutiérrez V, Fiol M, Lapetra J, Lamuela-Raventós RM, Serra-Majem L, Pintó X, Basora J, Muñoz MA, Sorlí JV, Martínez JA, Martínez-González MA; PREDIMED Study Investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med* 2013;368(14):1279-90.
6. Castañer O, Corella D, Covas MI, Sorlí JV, Subirana I, Flores-Mateo G, Nonell L, Bulló M, de la Torre R, Portolés O, Fitó M; PREDIMED study investigators. *In vivo* transcriptomic profile after a Mediterranean diet in high-cardiovascular risk patients: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2013;98(3):845-53.
7. Martínez-Lapiscina EH, Clavero P, Toledo E, San Julián B, Sanchez-Tainta A, Corella D, Lamuela-Raventós RM, Martínez JA, Martínez-González MÁ. Virgin olive oil supplementation and long-term cognition: the PREDIMED-NAVARRA randomized trial. *J Nutr Health Aging* 2013;17(6):544-52.
8. Fitó M, de la Torre R, Covas MI. Olive oil and oxidative stress. *Mol Nutr Food Res* 2007 Oct;51(10):1215-24.
9. D'Archivio M, Filesi C, Vari R, Sczzocchio B, Masella R. 2010. Bioavailability of the polyphenols: status and controversies. *Int J Mol Sci* 11:1321-1342.
10. Fitó M, Cladellas M, de la Torre R, Martí J, Alcántara M, Pujadas-Bastardes M, Marrugat J, Bruguera J, López-Sabater MC, Vila J, Covas MI; members of the SOLOS Investigators. Antioxidant effect of virgin olive oil in patients with stable coronary heart disease: a randomized, crossover, controlled, clinical trial. *Atherosclerosis* 2005;181(1):149-58.
11. Weinbrenner T, Fitó M, de la Torre R, Saez GT, Rijken P, Tormos C, Coolen S, Albaladejo MF, Abanades S, Schroder H, Marrugat J, Covas MI. Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. *J Nutr* 2004;134(9):2314-21.
12. Vari R, D'Archivio M, Filesi C, Carotenuto S, Sczzocchio B, Santangelo C, Giovannini C, Masella R. Protocatechuic acid induces antioxidant/detoxifying enzyme expression through JNK-mediated Nrf2 activation in murine macrophages. *J Nutr Biochem* 2011;22(5):409-17.
13. Farràs M, Valls RM, Fernández-Castillejo S, Giralt M, Solà R, Subirana I, Motilva MJ, Konstantinidou V, Covas MI, Fitó M. Olive oil polyphenols enhance the expression of cholesterol efflux related genes *in vivo* in humans. A randomized controlled trial. *J Nutr Biochem* 2013;24(7):1334-9.
14. Vitaglione P, Donnarumma G, Napolitano A, Galvano F, Gallo A, Scalfi L, Fogliano V. Protocatechuic acid is the major human metabolite of cyanidin-glucosides. *J Nutr* 2007;137:2043-2048.
15. Guo X, Yang B, Tan J, Jiang J, Li D. Associations of dietary intakes of anthocyanins and berry fruits with risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Clin Nutr* 2016;70(12):1360-1367.
16. Wedick NM, Pan A, Cassidy A, Rimm EB, Sampson L, Rosner B, Willett W, Hu FB, Sun Q, van Dam RM. Dietary flavonoid intakes and risk of type 2 diabetes in US men and women. *Am J Clin Nutr* 2012;95(4):925-33.

17. Li D, Zhang Y, Liu Y, Sun R, Xia M. Purified anthocyanin supplementation reduces dyslipidemia, enhances antioxidant capacity, and prevents insulin resistance in diabetic patients. *J Nutr* 2015;145(4):742-8.
18. Scazzocchio B, Vari R, Filesi C, D'Archivio M, Santangelo C, Giovannini C, Iacovelli A, Silecchia G, Li Volti G, Galvano F, Masella R. Cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside and protocatechuic acid exert insulin-like effects by upregulating PPAR $\gamma$  activity in human omental adipocytes. *Diabetes* 2011;60(9):2234-44.
19. Scazzocchio B, Vari R, Filesi C, Del Gaudio I, D'Archivio M, Santangelo C, Iacovelli A, Galvano F, Pluchinotta FR, Giovannini C, Masella R. Protocatechuic acid activates key components of insulin signaling pathway mimicking insulin activity. *Mol Nutr Food Res* 2015;59(8):1472-81.