1.5 NUTRIZIONE E FUNZIONI METABOLICHE NELL'UOMO

PAGINA BIANCA

1.5.1 - Anoressia nervosa e riabilitazione nutrizionale

A. Polito

Obiettivi

Valutare le alterazioni fisiologiche e metaboliche nelle pazienti con anoressia nervosa dopo recupero del peso corporeo ed identificare i meccanismi coinvolti.
Mettere a punto interventi di educazione alimentare e approcci terapeutici per il ripristino di uno stato di nutrizione che favorisca il recupero dello stato di salute.

Descrizione dell'attività

Nel corso del 2003 sono state selezionate pazienti anoressiche esaminate negli anni precedenti che, dopo un programma di riabilitazione psicologico-nutrizionale seguito presso l'Ambulatorio dei Disturbi del Comportamento Alimentare dell'Università di Roma "La Sapienza", hanno recuperato il peso corporeo raggiungendo un IMC >18.5 kg/m^2. Su un gruppo di 10 pazienti sono state ripetute le misure di composizione corporea e dispendio energetico. I soggetti hanno recuperato in media 11.65 kg di cui il 73% come massa grassa. Il metabolismo di base è aumentato del 22% come valore assoluto (prima: 853.8±146 kcal/die; dopo: 1039±119 kcal/die) e del 12% quando corretto per massa magra.
I risultati sembrano confermare che la riabilitazione nutrizionale è associata prevalentemente ad un recupero del grasso corporeo con incremento del turn-over energetico. Tuttavia il confronto con un campione di controllo evidenzia che il metabolismo di base rimane inferiore rispetto alle condizioni di normalità suggerendo che i meccanismi che contribuiscono alle alterazioni del metabolismo energetico in fase di anoressia nervosa continuano ad essere operativi anche durante il recupero del peso corporeo.

Parole chiave

Composizione corporea, metabolismo energetico, anoressia nervosa, riabilitazione nutrizionale, leptina, ormoni.

Partecipanti alla ricerca	**Mesi/persona**	**Qualifica**
A. Polito	2	TEC
D. Ciarapica	3	CTER
E. Toti	2	CTER

Collaborazioni esterne

Istituzioni	*Nomi*	*Qualifica*
Università La Sapienza – Roma	M. Cuzzolaro	RIC
Università Tor Vergata – Roma	F. Jacoangeli	RIC

1.5.2 - Il ricambio energetico nell'enfisema polmonare e sue modificazioni dopo intervento di riduzione del volume polmonare.

A. Polito

Obiettivi

Quantificare le alterazioni del ricambio energetico di pazienti affetti da enfisema polmonare.
Definire il grado di normalizzazione del ricambio energetico degli stessi pazienti dopo intervento chirurgico di pneumoplastica riduttiva.

Descrizione dell'attività

Nel corso del 2003 è proseguita la ricerca rivolta ad individuare alterazioni del ricambio energetico in pazienti affetti da enfisema polmonare. Sono stati esaminati 13 pazienti affetti da enfisema polmonare (ENF età: 64±10 anni). Sono stati esclusi dal protocollo tutti i pazienti completamente ossigeno-dipendenti; inoltre, a causa della necessità di eliminare almeno da 48h prima delle indagini tutti i farmaci che potevano interferire con il metabolismo di base, non è stato possibile includere nello studio i pazienti che necessitavano della somministrazione giornaliera di questi farmaci. Tali pazienti sono stati comparati con un gruppo di 18 individui di simile età (68±7 anni) in buono stato di salute, non fumatori, e con un normale stato di nutrizione (CO). Su tutti i soggetti sono state rilevate le misure antropometriche di peso e statura, è stato stimato il grasso corporeo mediante plicometria, mentre il dispendio energetico a riposo (MB) è stato misurato in condizioni standardizzate in camera calorimetria.
I risultati evidenziano in media un normale stato di nutrizione per tutti i pazienti esaminati (IMC= 24.3±4.2 kg/m^2), nessun soggetto è sottopeso o gravemente malnutrito, mentre due soggetti sono in sovrappeso. Non emergono differenze statisticamente significative tra l'IMC dei pazienti affetti da enfisema polmonare ed il gruppo di controllo (26.4±2.5kg/m^2). Il grasso corporeo rappresenta il 25.4±6.8% del peso corporeo (17.7±6.9kg), moderatamente inferiore rispetto al gruppo di controllo (27.9±.3.9%; 21.4±4.9kg), con una massa magra significativamente inferiore (ENF: 50.1±5.3kg; CO: 54.4±4.2 kg, $P<0.01$). Il dispendio energetico a riposo, non si differenzia rispetto a quello del gruppo di controllo nei valori assoluti (ENF: 4.597±0.56kJ/die; CO: 4.188±0.683kJ/die), mentre quando corretto per peso corporeo o per massa magra risulta superiore di circa il 9% nei gruppo ENF. Il MB è positivamente correlato sia al peso corporeo ($r=0.63$ $P<0.0001$) sia alla massa magra ($r=0.63$ $P<0.0001$), con una correlazione maggiore nel gruppo di controllo (MB vs peso: ENF: $r=0.57$ $P<0.05$; CO: $r=0.59$ $P<0.0001$; MB vs FFM: ENF: $r=0.54$ $P<0.05$; CO: $r=0.61$ $P<0.05$).
La fase longitudinale dello studio e l'elaborazione dei dati è attualmente in corso.

Parole chiave

Enfisema polmonare, dispendio energetico, calorimetria indiretta, composizione corporea, fabbisogno energetico.

Partecipanti alla ricerca	**Mesi/persona**	**Qualifica**
A. Polito	2	TEC
D. Ciarapica	2	CTER
A. Taras	3	CTER-C

Collaborazioni esterne

Istituzioni	*Nomi*	*Qualifica*
Università Tor Vergata – Roma	C. Mineo	ORD
Università Tor Vergata – Roma	V. Ambrogi	RIC
Università Tor Vergata – Roma	A. Fabbri	ASS

1.5.3 - Effetto dello zinco sulla interazione tra nutrienti e sulla salute dell'uomo

G. Maiani. E. Mengheri, M. D'Aquino, A. Polito

Obiettivi

Scopo generale del progetto è valutare l'effetto di diverse supplementazioni dello zinco (15 mg/die o 30 mg/die) in anziani volontari (70-85 anni) e fornire dati utili a stabilire ottimali raccomandazioni dietetiche per la fascia più anziana della popolazione.
Il progetto finanziato dalla EU è di durata triennale. In particolare il progetto di ricerca è organizzato in quattro sottoprogetti e vede la partecipazione di altre unità dell' Istituto:

Sottoprogetto 1. *Effetto della supplementazione dello zinco sullo stress ossidativo.*
(Resp. M. D'Aquino)

Sottoprogetto 2. *Effetto della supplementazione dello zinco sulla risposta immunitaria.*
(Resp. E. Mengheri)

Sottoprogetto 3. *Effetto della supplementazione dello zinco sul metabolismo di base e sulla funzionalità muscolare.*
(Resp. A. Polito)

Sottoprogetto 4. *Effetto della supplementazione dello zinco sullo stato di nutrizione.*
(Resp. G. Maiani)

Descrizione dell'attività di comune interesse per i partecipanti

Il progetto finanziato dalla EU è iniziato il 1 marzo 2002. Nel corso del 2003 è terminata la fase di selezione del campione ed è stata avviata la supplementazione con zinco che terminerà nel giugno 2004. La selezione dei soggetti di età compresa tra i 70 e gli 85 anni è stata effettuata in due aree della città di Roma a maggiore densità di ultrasettantenni con la collaborazione delle autorità locali (municipio ed ASL) e dei medici di base. Hanno collaborato 37 medici di base che hanno esaminato l'elenco dei loro assistiti ed hanno segnalato, sulla base dei criteri di inclusione ed esclusione previsti dal protocollo dello studio ZENITH, i pazienti potenzialmente idonei a partecipare allo studio. Su un totale di 6563 pazienti sono risultati potenzialmente idonei a partecipare allo studio 2424 (37%). A tutti i soggetti è stata spedita una lettera che li invitava a prendere parte ad un progetto di ricerca nel quale era stato coinvolto anche il loro medico di base. In un secondo momento 1417 (58%) di questi soggetti hanno ricevuto una telefonata da parte dell'Istituto, mentre non è stato possibile risalire al numero telefonico dei restanti 1007. 992 (70%) pazienti contattati telefonicamente hanno rifiutato di sottoporsi alla visita medica. Il restante 25% (362) ha accettato di sottoporsi alla visita medica di preinclusione ed ha firmato il consenso informato. Nella fase di preinclusione è stata effettuata un'anamnesi clinica, il rilevamento delle misure antropometriche di peso e statura, la somministrazione di questionari riguardanti lo stile di vita, alcuni tests psicologici (Mini Mental State Examination e Geriatric Depression Scale) ed un prelievo ematico rivolto a valutare emocromo, funzionalità epatica, funzionalità renale ed eventuale presenza di epatite C. In base ai criteri previsti dal protocollo di studio sono stati esclusi 184 soggetti, 25 soggetti hanno rifiutato il prelievo ematico, mentre sono risultati idonei 154 pazienti (42%). Il 14% dei pazienti idonei (n=22) hanno ritirato il loro consenso informato di conseguenza la fase di supplementazione della durata di sei mesi è iniziata su 132 pazienti (suddivisi per i tre differenti livelli di supplementazione (placebo, 15 mg/die Zn e 30 mg/die Zn). Allo stato attuale hanno terminato i sei mesi di studio 70 pazienti (36 uomini e 34 donne), 16 soggetti hanno smesso la supplementazione a causa di ricoveri ospedalieri o segni di presunta intolleranza, mentre sono ancora nella fase di supplementazione

46 soggetti. Su tutti i soggetti in studio è stata effettuata la valutazione dei consumi alimentari, delle funzioni cognitive e della percezione sensoriale e tutte le misure previste nei vari sottoprogetti in accordo al protocollo di studio.

Sottoprogetto 1. Effetto della supplementazione dello zinco sullo stress ossidativo
(Resp. M. D'Aquino)
Le misure previste dal protocollo di studio (SOD, GPX catalasi, emolisi e produzione di metaemoglobina) sono state effettuate su 132 soggetti a MO e 70 soggetti a M6. L'informatizzazione e l' elaborazione de dati è attualmente in corso.

Sottoprogetto 2. Effetto della supplementazione dello zinco sulla risposta immunitaria
(Resp. E. Mengheri)
La proliferazione dei linfociti è stata misurata su 132 soggetti a MO e 64 soggetti a M6. La risposta proliferativa espressa come indice di stimolazione sembra essere più bassa dopo sei mesi di supplementazione in due dei tre gruppi di trattamento.
Sottoprogetto 3. Effetto della supplementazione dello zinco sul metabolismo di base e sulla funzionalità muscolare
(Resp. A. Polito)
Tutte le misure previste dal protocollo di studio sono state effettuate su 132 soggetti a MO, 73 soggetti a M3 e 70 soggetti a M6. L'informatizzazione e l' elaborazione de dati è attualmente in corso.
Sono stati inoltre raccolti i campioni ematici per l'analisi degli ormoni tiroidei che sono stati spediti al Rowett Research Institute per l'analisi biochimica.

Sottoprogetto 4. Effetto della supplementazione dello zinco sullo stato di nutrizione
(Resp. G. Maiani)
I campioni ematici per le misure previste dal protocollo di studio sono stati raccolti su 132 soggetti a MO, 73 soggetti a M3 e 70 soggetti a M6 e spediti ai singoli partner responsabili per le rispettive analisi. Inoltre sono state effettuate le analisi relative a Vitamina A e Vitamina E a MO per un campione di 86 soggetti per L'INRAN, 38 soggetti per l'UJF (Grenoble) e 96 soggetti a M0 e M3 per l'INRA. L'informatizzazione e l' elaborazione de dati è attualmente in corso.

Parole chiave
anziani, supplementazione di zinco, stress ossidativi, risposta immunitaria, metabolismo di base, ormoni tiroidei, forza muscolare, attività fisica, stato antiossidante

Partecipanti alla ricerca	**Mesi/persona**	**Qualifica**
G. Maiani	2,5	P.RIC
M. D'Aquino	4	P.RIC
E. Mengheri	4	P.RIC
V. Gentili	4	CTER
F. Vignolini		CTER
A. Finamore	12	CO
A. Polito	6	TEC
D. Ciarapica	7	CTER
E Azzini	6	CTER
C. Catasta	4	CTER
M. Serafini	12	RIC-C
L. Palomba	4	CO
E. Barison	8	CTER

E.Toti	10	CTER
P Ferranti	3	AO
Collaborazioni esterne		
INRA, Clermont Ferrant - Francia	C. Coudray	P. RIC
Università J.Fourier, Grenoble - Francia	A.M .Rousse	ORD
Università of Ulster, Coleraine – UK	M. O'Connor	ORD
CENES, UK	E. Syles	ORD
University College, Cork - UK	K. Cashman	ORD
Rowett Research Institute, Aberdeen - UK	J.H. Beattie	P.RIC

1.5.4 - Uso di alimenti ricchi in fitoestrogeni per la prevenzione delle fratture osteoporotiche nella donna in menopausa (PHYTOS)

F Branca

Obiettivi

- Dimostrare dell'efficacia degli isoflavoni contenuti nella soia (IF) sulla densità ossea e il metabolismo scheletrico di donne in post-menopausa di ceppo caucasico viventi in Europa.
- Identificare i fattori che influenzano la scelta e il consumo di alimenti arricchiti in diversi contesti socio-economici.
- Mettere a punto strategie di promozione del consumo dei fitoestrogeni da parte dei gruppi target.

Descrizione dell'attività

Questo studio fa parte di uno studio di intervento multicentrico della durtata di 4 anni, finanziato dalla comunità europea e coordinato dall'INRAN, nella quale l'INRAN è anche uno dei tre siti clinici coinvolti. Lo studio prevede un intervento controllato prospettico, randomizzato, condotto in doppio cieco. Scopo dello studio è valutare gli effetti di una dieta ricca in fitoestrogeni sul metabolismo osseo e sulla massa ossea di un campione di donne in menopausa. Il risultato atteso è di una riduzione del 50% della perdita di massa ossea rispetto al gruppo placebo.

Nel corso del terzo anno di attività è stato completato il reclutamento e si sta conducendo l'intervento. Nella coorte italiana sono state contattate 226 donne e sono state sottoposte a selezione 151 donne in menopausa da un minimo di 1 a un massimo di 5 anni. Di queste, solo 102 donne soddisfacevano i criteri di inclusione e sono state reclutate nello studio, dopo avere espresso un consenso informato. Nella coorte olandese sono state reclutate 102 donne e nella coorte francese 97 donne. Le donne hanno consumato biscotti e barrette ai cereali arricchiti con isoflavoni della soia. Il contenuto di isoflavoni della soia è stato sperimentalmente determinato in ogni lotto di produzione ed è stata verificata inoltre la stabilità dei composti con determinazioni ripetute. Le barrette contengono 73 mg di isoflavoni totali, in forma agliconica, e i biscotti 54 mg. Gli alimenti vengono consumati in modo tale da permettere un consumo medio giornaliero di 108 mg di isoflavoni totali.
Sono stati raccolti campioni biologici (sangue intero, plasma, siero, urine, epitelio vaginale), registrati i consumi alimentari e raccolte informazioni relativamente ai livelli di attività fisica.

E' stato istituito un sistema per certificare la qualità dello studio incaricando una compagnia specializzata (Quanta medical) di effettuare controlli di qualità. Ogni centro clinico ha ricevuto due visite, per la verifica della raccolta e dell'informatizzazione dei dati. L'INRAN ha ottenuto un punteggio di 9,7/10 della SAMI scale, indicando un'elevata qualità di esecuzione dello studio. E' stato inoltre istituito un sistema di controllo di qualità e di standardizzazione delle misure di densità ossea e un Comitato per il monitoraggio degli Eventi Avversi, costituito da un ginecologo dell'Università di Hull e da uno statistico.

Nell'ambito del progetto è stato realizzato uno studio su motivazione, significati, valori, fattori situazionali e influenze sociali che guidano il potenziale consumo di alimenti arricchiti, con l'obiettivo di esplorare strategie di comunicazione efficaci per promuovere la comprensione dell'informazione nutrizionale e dei claim per la salute. Lo studio è stato condotto su campioni rappresentativi (n= 500 per paese) di donne di 45 anni e più di cinque Paesi membri della EU (Italia, Francia, Olanda, Gran Bretagna, Finlandia). Gli intervistati hano mostrato un'attitudine positiva nei confronti degli alimenti arricchiti, preferibilmente i prodotti lattiero-caseari.

Parole chiave
Fitoestrogeni, osteoporosi, menopausa

Partecipanti alla ricerca	***Mesi/persona***	***Qualifica***
F. Branca	7	P.RIC
A Corsi	20	TEC-C
M Gadler	24	CO
V Di Mattei	30	DOT
A Woess	**10**	CO
P D'Acapito	18	CO
P D'Errico	12	CO
R Spada	30	CO

Collaborazioni esterne

TNO Food and Nutrition Institute, Zeist, The Netherlands	Dr. A KARDINAAL	RIC
Unilever, UK	Dr. A CASSIDY	RIC
University of Helsinki, Finland	Prof. K WAHALA	ORD
Rowett Research Institute, Aberdeen, UK	Dr. S ROBINS	DRIC
INRA, Clermont Ferrand, France	Dr. V COXAM	RIC
Danone, France	Dr. V. BRAESCO	RIC
Novartis, France	Dr. P. LADROITTE	RIC

1.5.5. - Sviluppo di modelli cellulari *ex vivo* e *in vitro* per lo studio del riassorbimento osseo

F. Branca

Obiettivi

Sviluppare un modello *ex vivo/in vitro* di riassorbimento osseo a partire da monociti del sangue periferico umano per valutare:

- l'effetto di una supplementazione con alimenti arricchiti sulla prevenzione del riassorbimento osseo;
- i meccanismi di azione implicati nel riassorbimento osseo, in particolare nella comprensione degli effetti dei fitoestrogeni nella prevenzione dell'osteoporosi;
- l'efficacia relativa di molecole e/o estratti vegetali in confronto con i farmaci attualmente in uso nella prevenzione dell'osteoporosi;
- l'effetto di diversi regimi dietetici somministrati nel breve e nel lungo periodo sulla capacità di riassorbimento degli osteoclasti;

- Utilizzare una linea cellulare murina, RAW 264.7, capace di differenziare dallo stato di monocita/macrofago a quello di osteoclasto, al fine di:
- selezionare fito-, mico, e xeno-estrogeni (screening dell'attività estrogenica) capaci di inibire il riassorbimento osseo di cellule murine e da sperimentare successivamente nel predetto modello umano;
- individuare estratti di piante o miscele di fito-, mico-, e xeno-estrogeni capaci di modulare e/o alterare la normale attività di riassorbimento osseo;
- valutare l'interazione di vie metaboliche attivate da fattori di crescita con quelle attivate dagli estrogeni e da molecole ad azione estrogeno-simile.

Descrizione dell'attività

Al fine di identificare il ruolo biologico dei fitoestrogeni sul differenziamento degli osteoclasti, due modelli di osteoclastogenesi sono stati messi a punto e utilizzati. Il primo è un modello umano di differenziamento *ex vivo* degli osteoclasti ottenuti a partire dai monociti del sangue periferico. Il secondo è un modello di osteoclastogenesi basato sulla linea murina RAW264.7.

Il sistema *ex vivo/in vitro* di osteoclastogenesi umano è stato utilizzato per analizzare il ruolo dell'isoflavone della soia genisteina e l'effetto dose-dipendenza di quest'ultimo sull'espressione dei markers molecolari noti del differenziamento degli osteoclasti. L'espressione dei recettori per l'estrogeno, mediatori sia dell'attività degli estrogeni naturali che dei fitoestrogeni,, risulta essere osteoclasto-specifica poiché oltre all'espressione del recettore per l'estrogeno di tipo a (ERa), tra le diverse isoforme dell'estrogeno b, solo il sottotipo ERb5 viene espresso. Inoltre, il recettore ERb5 viene regolato dalla genisteina (almeno in soggetti sani, adulti, di genere maschile): tale induzione si ottiene già alla concentrazione di 10nM genisteina ed è di circa 3 volte maggiore a quanto si ottiene con cellule non differenzianti. Oltre ai recettori per l'estrogeno, tra i diversi markers biologici investigati le regolazioni più rilevanti sono state ottenute nell'espressione dei geni per il recettore della vitamina D (VDR), per la calcitonina (CTR), la metalloproteinasi 2 (MMP-2), l'inibitore di metalloproteinasi (TIMP-1), e l'integrina b5. Inoltre, l'azione della genisteina a concentrazioni fisiologiche sembra inibire anche le attività delle metalloproteinasi MMP-9 e MMP-2, come dimostrato mediante zimografia su gelatina.

Nel sistema murino di osteoclastogenesi, il ruolo dei fitoestrogeni è stato analizzato sia al livello proliferativo che a quello differenziativo. Due diversi esperimenti di proliferazione cellulare indicano come gli isoflavoni della soia non abbiano effetti mitogenici sugli osteoclasti, mentre hanno un effetto sensibile sull'inibizione del differenziamento. Infatti, la genisteina, la daidzeina e lo zearalenone riducono il differenziamento di circa il 50%, in maniera di poco superiore al 17b-estradiolo (E2), mentre la quercetina di circa il 90% con una potenza di poco superiore a

quella del raloxifene. A livello molecolare, l'effetto dei fitoestrogeni sembra essere mediato dalla regolazione di diversi recettori tra cui il CTR, il recettore per il fattore di crescita insulino-simile (IGF1R), e l'integrina b3. Il sistema murino è attualmente utilizzato anche come metodo di screening per metaboliti di possibile azione fitoestrogenica. Benzofurani e stilbeni, per esempio, ottenuti da leguminose endemiche dell'area mediterranea sono attualmente allo studio per essere classificati come possibili molecole estrogeno-simile ad azione anti-osteoclastogenica.

Parole chiave: fitoestrogeni, osteoporosi, sistema modello umano

Partecipanti alla ricerca	**Mesi/persona**	**Qualifica**
F. Branca	4	P.RIC
S Lorenzetti	30	AR

Collaborazioni esterne

Hoffmann-La Roche, Basel-CH	P WEBER	RIC
IIQAB-CSIC, Barcelona-E	D BARCELÓ	ORD
TU, Dresden-D	G VOLLMER	ORD
Univ. Tor Vergata, Rome-I	D FARINI	RIC
Univ. Tor Vergata, Rome-I	S CIANFARANI	RIC

1.5.6. - Rete tematica europea su fitoestrogeni e salute dell'uomo (PHYTOHEALTH)

F. Branca

Obiettivi

- Creare un flusso di informazioni sui differenti aspetti della ricerca scientifica sui fitoestrogeni.
- Produrre documenti di consenso sulle implicazioni per la salute dell'uomo della promozione del consumo di fitoestrogeni.
- Studiare l'attitudine dei consumatori riguardo all'uso di supplementi e nei confronti della promozione del consumo di alimenti contenenti fitoestrogeni.
- Mettere a punto di strategie di comunicazione con il pubblico e con le autorità competenti in merito alla sicurezza alimentare (European Food Authority).
- Creare una piattaforma di collaborazione per lo sviluppo di progetti di ricerca sul rapporto tra alimentazione e regolazione endocrina

Descrizione dell'attività

PHYTOHEALTH è un network di 45 istituzioni europee (Istituti di ricerca, industria alimentare e farmaceutica, rappresentanti dei consumatori) coordinato dall'INRAN, con l'obiettivo di creare un consenso sugli effetti per la salute delle molecole bioattive ad attività estrogeno modulatrice contenute negli alimenti e garantire un flusso di informazione corretta ai consumatori.

Nel primo anno di progetto è stata creata la struttura della rete, composta da un Comitato di Direzione e da tre reti di interesse specifico. I ricercatori hanno il compito di raccogliere l'informazione originata da vari progetti di ricerca in corso di completamento e di trarne conclusioni integrate. I produttori sono stimolati alla utilizzazione di materie prime che permettano la estrazione e la purificazione di prodotti di alta qualità e alla identificazione di nuove fonti alimentari di fitoestrogeni a partire a alimenti della tradizione europea. I consumatori sono coinvolti in questa rete progettuale dal punto di vista della identificazione dei fattori che influenzano le scelte e il consumo di alimenti arricchiti in diversi contesti socio-economici.

E' stata effettuata una prima riunione della rete, in occasione della 9° Conferenza Europea di Nutrizione, durante il quale si è svolto un aggiornamento sullo stato dell'arte nel campo delle malattie cardiovascolari, dei tumori e del cancro.

E' stato inoltre strutturato un Bollettino di informazione sui progetti, che viene inviato trimestralmente a tutti i partner della rete e agli altri soggetti interessati.

Parole chiave

Fitoestrogeni, consumatori, produttori, benefici sulla salute dell'uomo

Partecipanti alla ricerca	Mesi/persona	Qualifica
F. Branca	7	P.RIC
L.Rossi	6	RIC-C
S.Lorenzetti	6	AR
A Corsi	10	TEC-C
V.Di Mattei	6	DOT
A.Woess	6	CO
P.D'Acapito	6	CO

Collaborazioni esterne

University of Hull, UK	Dr. P.ALBERTAZZI	ORD
Consejo Superior de Investigaciones cientificas, Barcellona, Spagna	Prof. D.BARCELO'	ORD
ENITA Bordeaux, France	Prof. C.BENNETAU	ORD
Istituto dei Tumori, Milano	Dr. F.BERINO	DRIC
Università degli studi di Milano	Prof. E.BOSISIO	ORD
Università degli studi di Parma	Prof. F.BRIGHENTI	ORD
University College Cork - National University of Ireland	Prof. K.CASHMAN	ORD
Unilever, UK	Dr. A.CASSIDY	RIC
Università degli Studi di Bari	Prof. L.M.CHIECHI	ORD
Tor Vergata University	Prof. S.CIANFARANI	ASS
INRA, Clermont Ferrand, France	Dr. V.COXAM	RIC
University of Vienna Medical School, Austria	Prof. H.CROSS	ORD
KELLOGG'S, Manchester, UK	Prof. R.FLETCHER	ORD
University of Ioannina, Greece	Prof. T.FOTSIS	ORD
Karolinska Institute, Stoccolma, Svezia	Prof. J.GUSTAFFSON	ASS
Leatherhead Research International, UK	Dr. B.HANLEY	RIC
Medical Research Council, Leicester, UK	Dr. P.HARRISON	RIC
Hormos-Neutraceutical Ltd, Turku, Finland	Dr. M.HIILOVAARATEIJO	ORD
TNO Food and Nutrition Institute, Zeist, The Netherlands	Dr. A KARDINAAL	RIC
Federal Research Centre for Nutrition, Karleruhe, Germany	Dr. S.KULLING	RIC
ATO B.V., Wageningen, The Netherlands	Prof. B.LANGELAAN	ORD
University of Turku, Finland	Prof. S.MAKELA	ORD
Harokopio University, Atene, Grecia	Prof. Y.MANIOS	ORD
Università La Sapienza Rome	Dr. S.MIGLIACCIO	RIC
Friedrich-Schiller-Universitaet Jjena, Germany	Prof. B.POOL-ZOBEL	ORD
Rowett Research Institute, Aberdeen, UK	Dr. S ROBINS	DRIC
University of Ulster at Coleraine	Prof. I.ROWLAND	ORD
The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark	Prof. B.SANDSTROM	ORD
International Academy of Phytotherapy, Venezia	Dr. A.SANNIA	RIC
University of Athens, Grecia	Prof. A.SKALTSOUNIS	ORD
Danish Veterinary and Food Administration, Soeborg, Denmark	Dr. I.SORESEN	DRIC
Università degli Studi di Milano	Prof. G.TESTOLIN	ASS
National Public Health Institute, Helsinki, Finland	Dr. L.VALSTA	ORD
National Institute of Public Health, Bilthoven, The Netherlands	Prof. C.VAN KREIJL	ORD
ORFFA Belgium NV, Giessen, The Netherlands	Dr. M.VERBRUGGEN	RIC
Technological Educational Institute of Crete, Greece	Prof. F.VERVERIDIS	ORD
Technishe Universitat Dresden	Prof.G.VOLLMER	ORD
University of Helsinki, Finland	Prof. K.WAHALA	ORD
Institute of Immunology and Experimental Therapy Polish Academy of Sciences, Wroclaw, Poland	Prof. A.OPOLOSKI	ORD
University of Reading, UK	Prof. C.WILLIAMS	ORD

Nestlè, Lausanne, Switzerland	Dr. G.WILLLIAMSON	DRIC
TU-Braunshweig, Germany	Dr. P.WINTERHALTER	DRIC
Karolinska Institutet, Stoccolma, Svezia	Prof. A.WOLK	ORD
Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Bergholz-Rehbruecle, Germany	Prof. H.ZUNFT	ORD

1.5.7 - Efficacia degli isoflavoni nella riduzione del rischio di insorgenza delle coronaropatie in donne in post-menopausa (ISOHEART)

F. Virgili, F. Branca

Obiettivi

Creare una rete scientifica multidisciplinare che permetta di studiare prodotti alimentari arricchiti utili a promuovere la salute della donna in menopausa.

- Documentare i benefici sulla salute del consumo di alimenti arricchiti con isoflavoni nelle donne in post-menopausa attraverso la identificazione di positivi cambiamenti degli indicatori di rischio cardiovascolare.
- Identificare le basi molecolari del meccanismo d'azione degli isoflavoni utilizzando l'approccio genomico e proteomico.

Descrizione dell'attività

Obiettivi 1-2 (Responsabile F. Branca)

Nel secondo anno di progetto è stato realizzato uno studio di intervento clinico randomizzato e controllato con placebo su di un gruppo di 33 donne in periodo post-menopausale (60-70 anni) che presentano un rischio moderatamente elevato di insorgenza di patologie cardiovascolari. L'INRAN ha seguito una delle quattro coorti prevista dallo studio : Italia, Regno Unito, Danimarca, Germania. La selezione dei soggetti è stata effettuata mediante un primo contatto telefonico e seguita da una valutazione della storia clinica e delle caratteristiche biochimiche. Le donne italiane selezionate avevano il livello plasmatico di colesterolo più basso che le altre coorti europee. I soggetti reclutati sono stati successivamente randomizzati in due gruppi, ciascuno dei quali è stato sottoposto, in ordine inverso, a un trattamento con barrette di cereali e frutta arricchite con isoflavoni della soia (50 mg/die) per un periodo di 8 settimane e a un trattamento costituito dagli stessi alimenti privi dell'arrichimento, intervallati da un periodo di 8 settimane. All'inizio e alla fine di ciascun periodo di trattamento sono stati raccolti campioni plasmatici ed urinari, sui quali sono in corso le analisi per un'ampia gamma di indicatori di rischio cardiovascolare e dei meccanismi coinvolti nella aterogenesi e nella trombogenesi. L'analisi preliminare dei dati ha indicato che la somministrazione di alimenti arricchiti non determina effetti sulla concentrazione plasmatica di colesterolo totale, colesterolo LDL e colesterolo HDL.

Ai soggetti coinvolti nello studio e a 100 soggetti contattati per la selezione iniziale è stato inoltre somministrato un questionario per la valutazione delle attitudini nei confronti dell'uso di alimenti arricchiti per il trattamento della sindrome climaterica. Gli intervistati hanno dimostrato maggiore fiducia nei trattamenti farmacologici che negli alimenti funzionali.

Obiettivo 3 (Responsabile F. Virgili)

Durante l'anno 2003-2004, in accordo con gli altri componenti del gruppo di ricerca europeo ISOHEART, ci siamo occupati di mantenere la banca di cellule endoteliali preparati da cordoni ombelical umani (HUVEC), necessarie per gli studi genomici e proteomici volti alla comprensione dei meccanismi molecolari responsabili dell'insorgenza e della progressione delle malattie cardiovascolari (CVD). A tale scopo abbiamo analizzato, mediante tecnologie di analisi globale dell'espressione genica, la risposta genomica delle HUVEC quando queste cellule sono trattate con gli agenti stressogeni oxLDL (5 μg/ml), omocisteina (25 μM) o TNF-α (100U/ml), comunemente considerati fattori di rischio nell'eziologia delle CVD. Inoltre abbiamo analizzato la capacità della genisteina, il principale isoflavone della soia, di prevenire le risposte genomiche degli agenti stressogeni nelle HUVEC. A tale scopo le HUVEC sono state incubate per 24 ore con genisteina (2.5μM) e quindi successivamente trattate con lo specifico agente stressogeno per

12 ore. In seguito al trattamento, le cellule vengono raccolte e l'RNA estratto mediante un metodo da noi messo a punto che consiste nella estrazione con solventi organici e la precipitazione con cloruro di litio. La frazione di RNA messaggero viene isolata mediante tecniche di ibridazione che separano le molecole di RNA contenenti la caratteristica coda di poli-A. Queste molecole sono state utilizzate per preparare sonde molecolari utilizzate per ibridare membrane di nylon contenenti 588 geni selezionati per il loro coinvolgimento in funzioni cardiovascolari.
I risultati indicano che le oxLDL e l'omocisteina modulano rispettivamente 44 e 31 geni. Degno di nota è il fatto che i due agenti stressogeni inducono quasi le stesse modifiche geniche, mentre il TNF-α, modula un numero maggiore di geni (130), non influenzati dagli altri trattamenti.
La pre-incubazione delle HUVEC con genisteina preveniva gran parte degli effetti genici indotti da oxLDL e dall'omocisteina, mentre rimanevano inalterati gli effetti indotti dal TNF-α.
Tra i geni identificati negli array vi è il gene codificante la subunità B del fattore di crescita piastrinico, che rappresenta uno stimolo autocrino sufficiente per la mitogenesi delle cellule endoteliali. I nostri risultati indicano che la genisteina è in grado di prevenire la sovraregolazione del gene indotta dagli stressogeni. Il pre-trattamento con genisteina impediva inoltre la sovraregolazione di entrambi i geni codificanti i recettori alfa e beta dell'acido retinoico, indicando un potenziale ruolo dell'isoflavone nei segnali di trasduzione associati a questi recettori, come l'apoptosi e la proliferazione. I risultati hanno permesso l'identificazione di possibili markers associati alla fase precoce di sviluppo della disfunzione endoteliale.

Parole chiave
Isoflavoni, malattie cardiovascolari, menopausa.

Partecipanti alla ricerca	***Mesi/persona***	**Qualifica**
F Branca	2	P.RIC
F Virgili	6	RIC
L Rossi	10	RIC-C
R Ambra	12	RIC-C
P D'Acapito	6	CTER-C
A Woess	20	CO
R Spada	6	CO
A Corsi	6	TEC-C
M Gadler	12	CO

Collaborazioni esterne

Research Department of Human Nutrition, The Royal Veterinary & Agricultural University, Denmark	B SANDSTRÖM	ASS
Department of Food Science and Technology, The University of Reading, UK	C WILLIAMS	ASS
ATO-DLO, Wageningen, The Netherlands	J MOJET	RIC
Molecular Physiology, Unilever, Colworth, UK	A CASSIDY	RIC
Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Germany	F ZUNFT	ORD
University of Weihenstephan, Germany,	H DANIEL	ASS

PAGINA BIANCA