

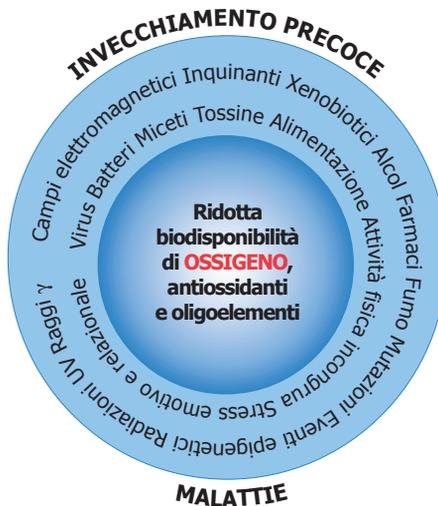
## Capitolo 1

# Ossigeno, ipossia e stress ossidativo

Eugenio Luigi Iorio

### 1.1 Premessa

Il nostro stato di salute – inteso non come semplice assenza di malattia, ma come sensazione percepita di completo benessere psicofisico e socioculturale, in armonia con la Natura e l'ambiente circostante – è oggi sempre più seriamente minacciato dall'esposizione agli effetti potenzialmente nocivi di agenti di natura fisica (radiazioni ultraviolette, campi elettromagnetici ecc.), chimica (benzene, diossina, pesticidi, fumo di sigaretta, metalli pesanti ecc.) e biologica (virus, batteri, funghi, tossine ecc.) (Iorio, 2003b).



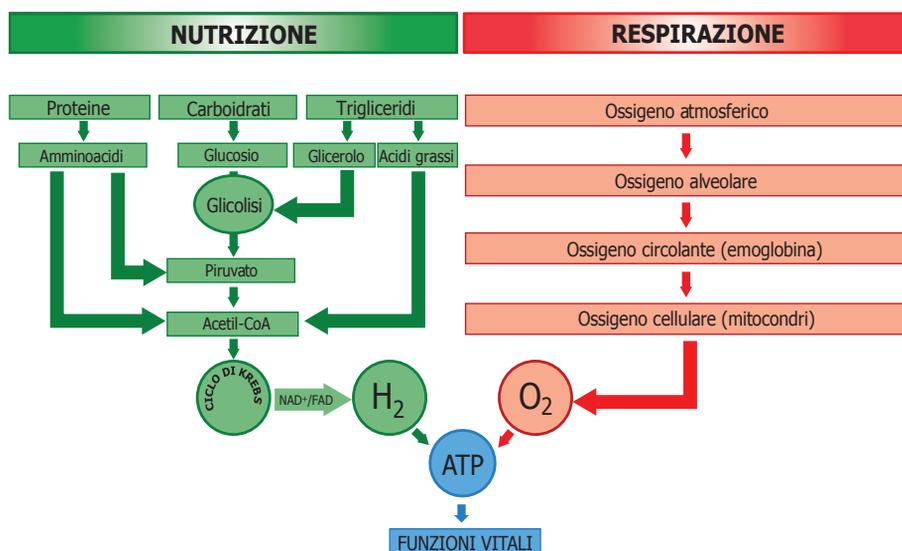
**Figura 1.1** – Una ridotta biodisponibilità di ossigeno, antiossidanti e oligoelementi, quali il selenio, può condurre a un'alterazione dello stato di salute e a conseguenti condizioni morbose, incluso l'invecchiamento precoce.

Su un terreno geneticamente favorevole, complici spesso lo stress emotivo-relazionale e uno stile di vita incongruo (alimentazione scorretta, abitudini viziose, attività fisica inadeguata), tali agenti possono alterare l'omeostasi dell'organismo a vari livelli (sistemi, organi, tessuti, cellule, organuli cellulari, molecole) e, attraverso differenti meccanismi, *in primis* la ridotta biodisponibilità di ossigeno, indurre o favorire uno stato di malattia (figura 1.1) (Calderón-Garcidueñas et al., 2012; Prabhakar e Semenza, 2012; Kelishadi et al., 2009; Sperati et al., 1999; Møller et al., 1996).

Per poter spezzare questa catena patogenetica di eventi in fase preventiva, auspicabilmente prima che eventuali condizioni morbose si siano manifestate o, nel caso non fosse possibile, anche a malattia conclamata, bisogna tener conto dei principi biochimici che sono alla base del metabolismo terminale (Semenza, 2012; Lehninger, 2005).

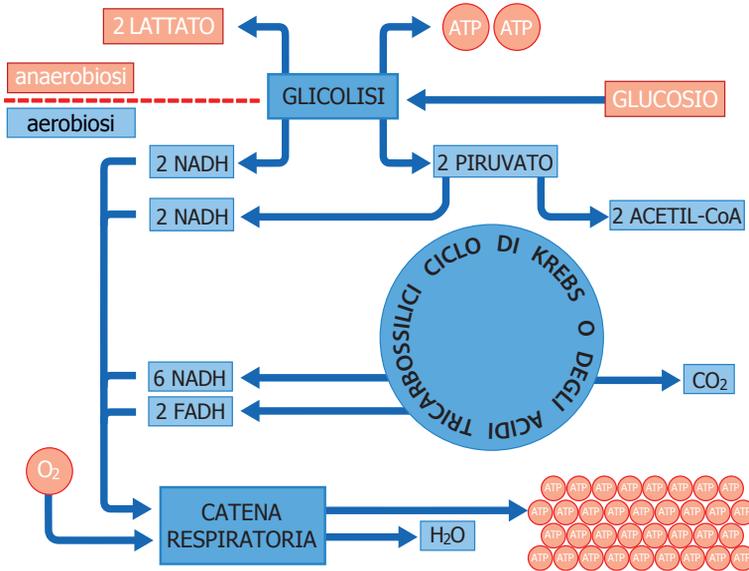
È noto, al riguardo, che gli organismi aerobi traggono l'energia necessaria per svolgere le loro funzioni vitali (assorbimento, digestione, assimilazione, secrezione, escrezione, movimento, accrescimento, riproduzione ecc.) da reazioni di ossidazione, ovvero dalla sottrazione, tramite specifiche deidrogenasi (piridiniche e flaviniche), dai nutrienti (opportuna-mente ridotti a molecole semplici di glicidi, lipidi e amminoacidi) di equivalenti riducenti (Lehninger, 2005). Questi ultimi – veicolati in coppia come elettroni liberi o legati a protoni, sotto forma di atomi di idrogeno – sono poi trasferiti all'ossigeno attraverso la catena respiratoria mitocondriale, allo scopo di generare energia chimica sotto forma di ATP (fosforilazione ossidativa) (Lehninger, 2005). In altri termini, nutrizione e respirazione sono processi biologici strettamente correlati e interdipendenti (figura 1.2).

Il "rendimento" energetico della macchina mitocondriale è notevole, se si considera che la "combustione" completa, ossia la riduzione ad anidride carbonica e acqua, di una



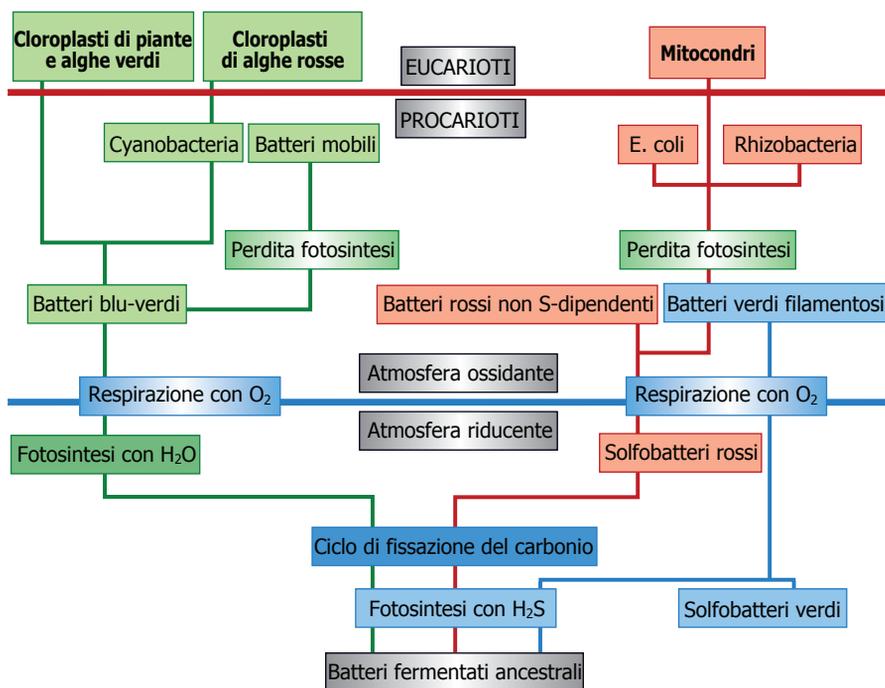
**Figura 1.2** – Interdipendenza nutrizione-respirazione: gli equivalenti riducenti sottratti ai nutrienti sono trasferiti all'ossigeno sulla catena respiratoria mitocondriale per generare energia chimica sotto forma di ATP.

molecola di glucosio, porta alla generazione di 36 molecole di ATP in presenza di ossigeno, ma a sole 2 molecole della preziosa moneta energetica in condizioni di anaerobiosi (Lehninger, 2005) (figura 1.3).

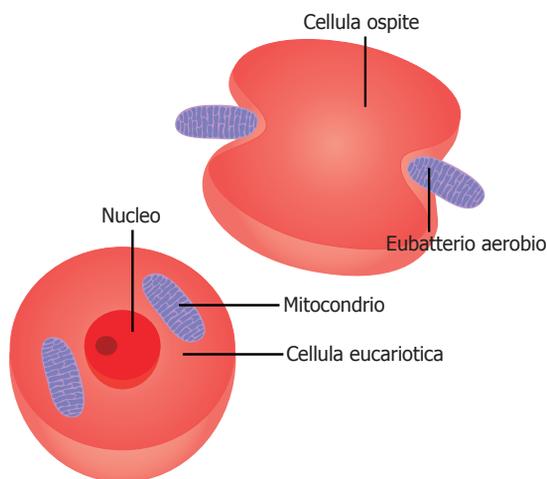


**Figura 1.3** – L'ossidazione completa della molecola di glucosio (glicolisi aerobica) genera una quantità significativamente più elevata di molecole di ATP rispetto alla semplice demolizione della stessa a lattato (glicolisi anaerobica).

Per questo motivo, molto probabilmente, gli organismi viventi hanno iniziato a differenziarsi ed evolvere proprio quando sul nostro pianeta l'atmosfera si è arricchita di quantità significative di ossigeno (Jiang et al., 2012) (figura 1.4). La traccia di questo importante passaggio è, probabilmente, rappresentata dai mitocondri. A questo proposito è interessante citare la teoria postulata da Lynn Margulis negli anni Settanta a partire dal confronto tra la struttura di un classico batterio (un esempio di organismo procariote) e il mitocondrio (Margulis, 1975). Ambedue possiedono un proprio materiale genetico, di forma circolare, non rivestito da proteine; ambedue possiedono un proprio apparato per la biosintesi proteica; ambedue sono avvolti da un sistema di due membrane; le creste mitocondriali, poi, ricordano il mesosoma, struttura primordiale adibita alla respirazione batterica. Appare, pertanto, verosimile che quando si è reso disponibile l'ossigeno nell'atmosfera terrestre alcuni eucarioti abbiano fagocitato batteri, i quali nel frattempo si erano specializzati nella capacità di utilizzare il prezioso elemento per produrre energia chimica, e che ciò abbia dato origine a una vera e propria simbiosi che si è trasmessa alle generazioni successive (figura 1.5).



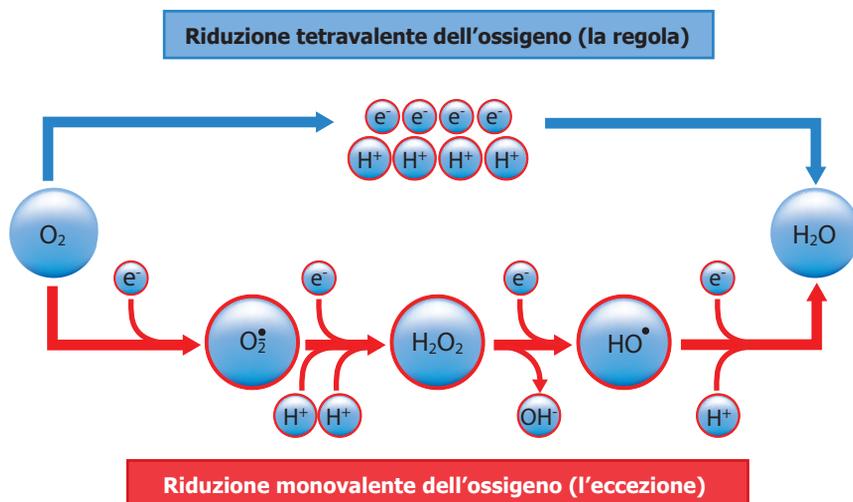
**Figura 1.4** – La comparsa dell'ossigeno sulla Terra ha impresso, molto probabilmente, una forte spinta evolutiva, a causa dell'enorme quantità di energia che ha reso disponibile agli organismi viventi attraverso lo sviluppo di cloroplasti e mitocondri (forme ancestrali di procarioti simbiotici?). (Modificata da: Alberts B et al., *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed.).



**Figura 1.5** – Secondo la teoria di Lynn Margulis (1970), le notevoli similitudini tra i batteri e i mitocondri porta a considerare questi ultimi come derivanti dalla simbiosi di forme viventi, di natura procariotica, con cellule eucariotiche. La biogenesi dei mitocondri, dunque, segnerebbe il passaggio della vita sulla Terra da condizioni di anaerobiosi a condizioni di aerobiosi.

## 1.2 Radicali liberi e altre specie ossidanti

C'è tuttavia da considerare che i mitocondri non sono una "macchina perfetta" (Richter et al., 1995). Infatti, se in linea teorica ci si attende che 2 coppie di equivalenti riducenti, ossia 4 equivalenti riducenti, siano "aggiunte" contemporaneamente a una molecola di ossigeno ( $O_2$ ) attraverso un meccanismo denominato, appunto, "riduzione tetravalente", purtroppo, nella pratica, si verifica che l'1-2% dell'ossigeno molecolare inspirato che raggiunge la catena respiratoria reagisce non contemporaneamente ma in modo sequenziale con i 4 singoli equivalenti riducenti, uno dopo l'altro (Richter et al., 1995). Questo fenomeno, peraltro "fisiologico", detto anche riduzione monovalente, porta alla generazione di tre differenti specie chimiche reattive centrate sull'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS) in successione, quali l'anione superossido ( $O_2^{\bullet-}$ ), il radicale idrossile ( $HO^{\bullet}$ ) e il perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ) (Richter et al., 1995) (figura 1.6).

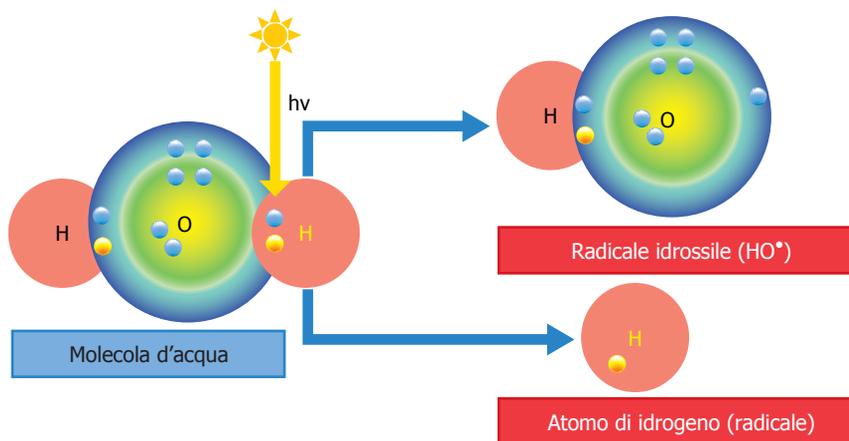


**Figura 1.6** – L'1-2% dell'ossigeno molecolare che raggiunge la catena respiratoria mitocondriale "accetta" gli equivalenti riducenti estratti dal catabolismo cellulare singolarmente, generando notevoli quantità di specie reattive centrate sull'ossigeno.

Il fenomeno della riduzione non tetravalente dell'ossigeno non è assolutamente da trascurare. È stato calcolato che per soddisfare le esigenze energetiche del metabolismo basale di una persona "media" il nostro organismo deve produrre ogni giorno almeno 300 moli di ATP (energia di idrolisi 7,3 kcal/mole), per generare le quali sono necessarie 100 moli di ossigeno molecolare ( $O_2$ ). Considerando che i mitocondri, come anticipato, non sono una macchina efficiente al cento per cento, 100 moli di  $O_2$  determinano la liberazione di 1-2 moli solamente di radicale idrossile ( $HO^{\bullet}$ ), considerato il radicale libero dell'ossigeno più altamente istolesivo. Dunque, solo attraverso questo meccanismo un uomo, in condizioni basali, ossia di "vita vegetativa", genera un carico indesiderato di

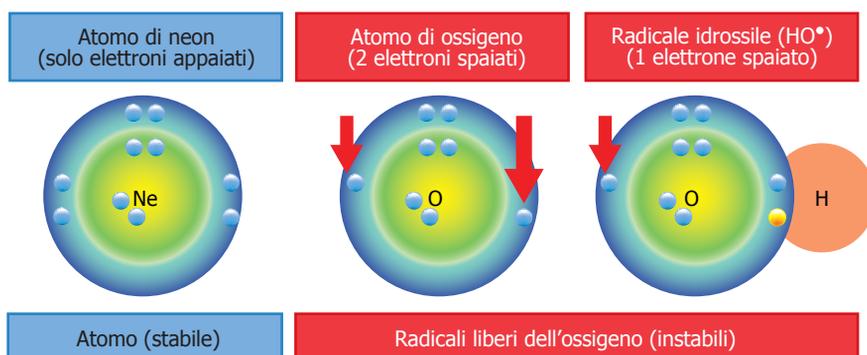
“scorie metaboliche”, quantificabile in 3-6 moli complessive di ROS (pari a  $6-12 \times 10^{23}$  atomi singoli o raggruppati più o meno altamente reattivi).

Se si considera, poi, che la semplice esposizione di una piccolissima parte della pelle alle radiazioni solari può generare 1 mole, per effetto della fotolisi completa di appena 18 g di acqua, ossia  $6 \times 10^{23}$  radicali idrossili, si comprende come in condizioni ordinarie la produzione di ROS sia già rilevante di per sé (Rutherford e Boussac, 2004) (figura 1.7).



**Figura 1.7** – I fotoni associati alle radiazioni solari sono in grado di spezzare uno dei due legami covalenti dell’ossigeno con l’idrogeno, generando, attraverso un processo denominato *fotolisi*, un radicale idrogeno (che può eventualmente riassemblarsi generando idrogeno molecolare) e un radicale idrossile, altamente reattivo.

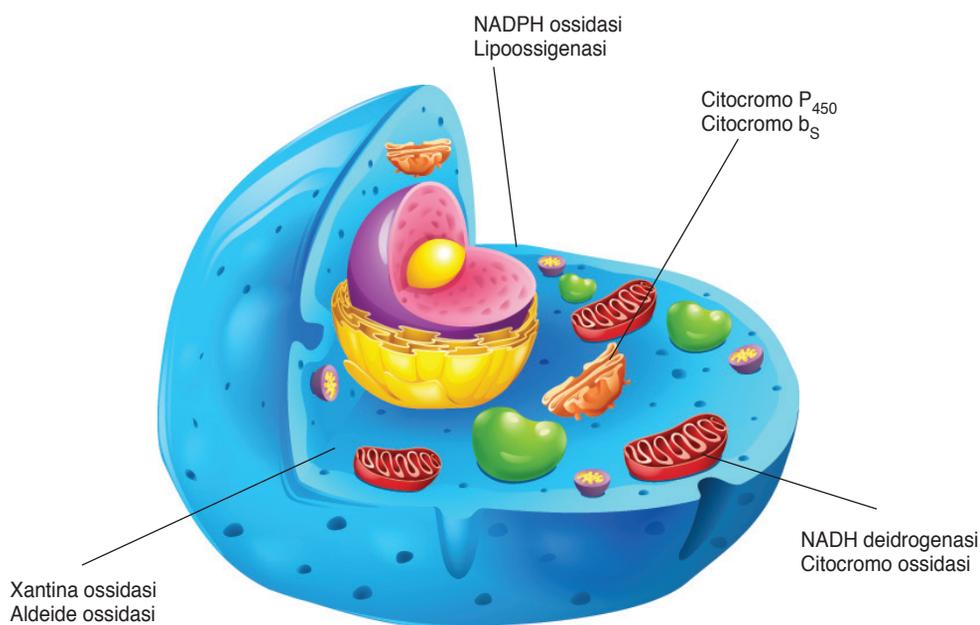
Ma le ROS, a loro volta, rappresentano solamente una piccola parte delle “specie chimiche ossidanti” (SCO) prodotte dall’organismo, riunendo sotto questa denominazione una serie di atomi, singoli o raggruppati, dotati della capacità di sottrarre, in determinate condizioni, equivalenti riducenti a determinate molecole bersaglio, in ciò concretizzandosi



**Figura 1.8** – I radicali liberi sono specie chimiche ad azione ossidante costituite da atomi o raggrupamenti di atomi con almeno un elettrone spaiato in uno degli orbitali esterni.

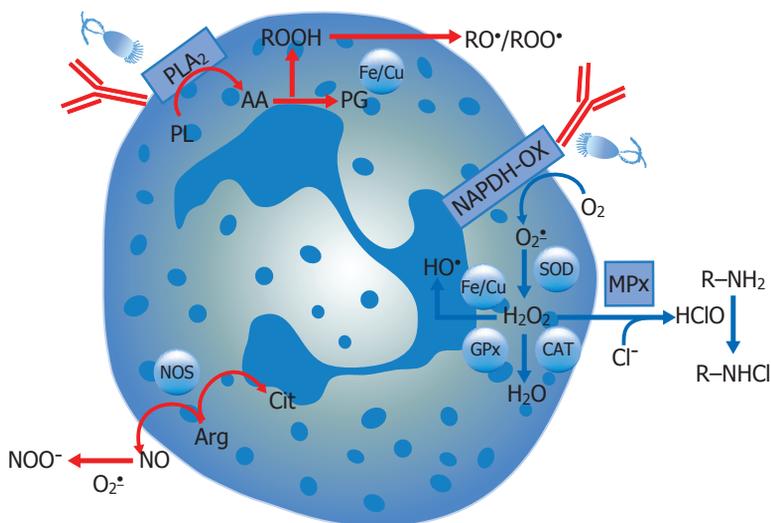
la loro capacità, appunto, "ossidante" (Halliwell e Gutteridge, 1999). Per inciso, alcune di queste SCO presentano in uno degli orbitali più esterni almeno un elettrone isolato anziché in coppia e, per questo motivo, sono definite correttamente "radicali liberi" (Valko et al., 2007; Delattre, 2006; Gardes-Albert, 2006). Ne costituisce rilevante esempio il radicale idrossile ( $\text{HO}^\bullet$ ) di cui si è parlato in precedenza (figura 1.8).

L'attività cellulare produce normalmente SCO non solo a livello dei mitocondri (figura 1.6), ma anche nel contesto della plasmamembrana, nel reticolo endoplasmatico e nel citosol (figura 1.9) per assolvere a ben specifiche funzioni, dalla difesa contro i patogeni alla trasduzione dei segnali biochimici, fino alla modulazione di processi complessi, quali l'emostasi e il controllo del flusso sanguigno (Bompiani e Galluzzo, 1990).



**Figura 1.9** – Le cellule producono normalmente specie chimiche ad azione ossidante che, per questo motivo, sono considerate "insostituibili compagne di viaggio" della vita stessa.

Per esempio, la membrana dei leucociti polimorfonucleati produce continuamente SCO, le quali hanno lo scopo di neutralizzare batteri e altri germi patogeni attraverso una cascata di eventi che, partendo dall'attivazione dell'enzima NADPH ossidasi (Arruda e Barja-Fidalgo, 2009) – un enzima, tra l'altro, espresso anche in altre cellule e coinvolto nella patogenesi dell'ipertensione arteriosa (Montezano e Touyz, 2012) – porta alla generazione di anione superossido, poi convertito dalla superossidodismutasi (SOD) a perossido di idrogeno, rilasciato, infine, sotto forma di acqua per azione della catalasi (CAT) o della glutationeperossidasi (GPx) (Arruda e Barja-Fidalgo, 2009) (figura 1.10).

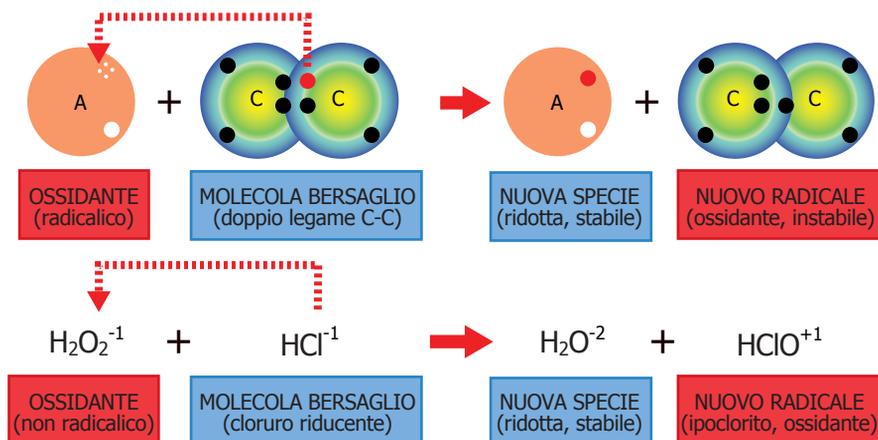


**Figura 1.10** – I leucociti polimorfonucleati producono specie chimiche ad azione antiossidante con lo scopo di neutralizzare germi patogeni (LPS, lipopolisaccaride; Ig, immunoglobuline ad azione anticorpale; NADH-Ox, NADPH ossidasi; SOD, superossidodismutasi; CAT, catalasi; GPx, glutatione perossidasi; MPx, mieloperossidasi; NOS, ossido nitrico sintetasi; Arg, arginina; Cit, citrullina; PLA<sub>2</sub>, fosfolipasi A<sub>2</sub>; PL, fosfolipidi di membrana; AA, acido arachidonico; PG, prostaglandine).

Tutte le SCO e, in particolare, quelle radicaliche, specialmente se di esigue dimensioni, come il radicale idrossile, sono dotate di una loro intrinseca reattività, per cui tendono a raggiungere la stabilità sottraendo equivalenti riducenti a molecole bersaglio di qualsiasi natura (glicidica, lipidica, amminoacidica, nucleotidica), le quali ne risultano, per questo, ossidate e, quindi, potenzialmente danneggiate (Comporti, 2011; Halliwell e Gutteridge, 1999) (figura 1.11).

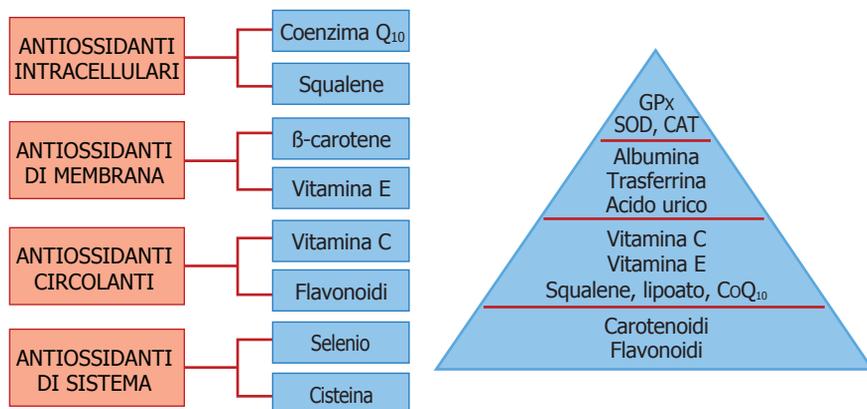
### 1.3 Gli antiossidanti

Poiché, dunque, le SCO, e in particolare le ROS, sono potenzialmente lesive, gli organismi viventi hanno sviluppato nel corso di millenni di evoluzione un complesso sistema di difesa, costituito dall'insieme degli antiossidanti (Cadenas e Packer, 1996). Questi ultimi sono appunto definiti, funzionalmente, come agenti – chimicamente eterogenei tra loro (enzimi, vitamine, sostanze simil-vitaminiche, oligoelementi ecc.) – in grado di prevenire o annullare l'azione, tipicamente ossidante, delle SCO (Cornelli e Iorio, 2007; Cooper, 1997).



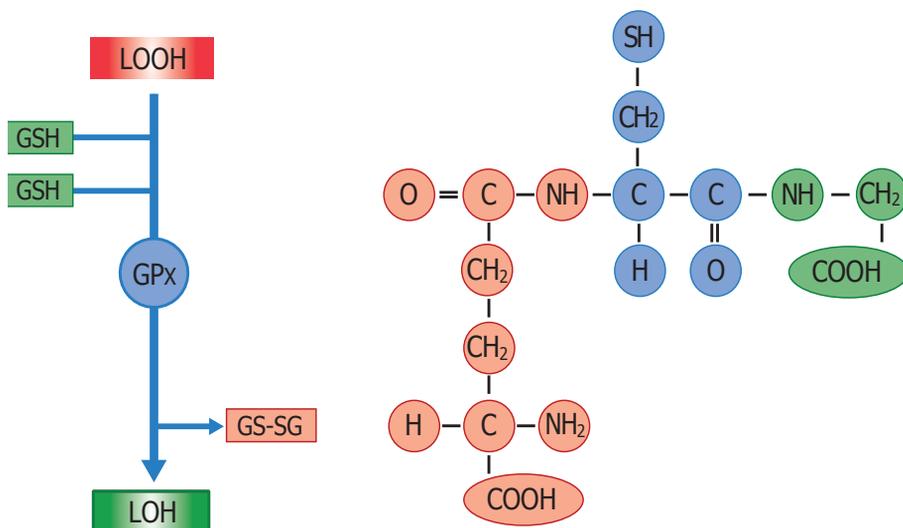
**Figura 1.11** – Le specie chimiche ossidanti agiscono sottraendo equivalenti riducenti, sotto forma di elettroni o atomi di idrogeno, a molecole bersaglio.

Gli antiossidanti possono essere classificati seguendo diversi criteri, tra cui quello della distribuzione all'interno del nostro organismo; una loro caratteristica precipua è quella di stratificarsi secondo una ben precisa "gerarchia" di potenza, al cui vertice c'è la triade enzimatica superossidodismutasi (SOD), catalasi e glutationeperossidasi (GPx) (Cornelli, 2009) (figura 1.12).



**Figura 1.12** – Il sistema di difesa antiossidante, che controlla la produzione esuberante e i relativi effetti indesiderati delle specie chimiche ossidanti, è distribuito nei diversi compartimenti dell'organismo ed è "stratificato" secondo una ben precisa potenza, con al vertice tre enzimi: la glutationeperossidasi (GPx), la superossidodismutasi (SOD) e la catalasi (CAT).

La GPx è un enzima ubiquitario, presente a elevate concentrazioni negli eritrociti, che richiede glutazione come coenzima e selenio come cofattore, e che presiede soprattutto all'inattivazione dei perossidi, marcatori e amplificatori del danno ossidativo (vedi oltre) (Conrad et al., 2007; Brigelius-Flohé, 2006) (figura 1.13).

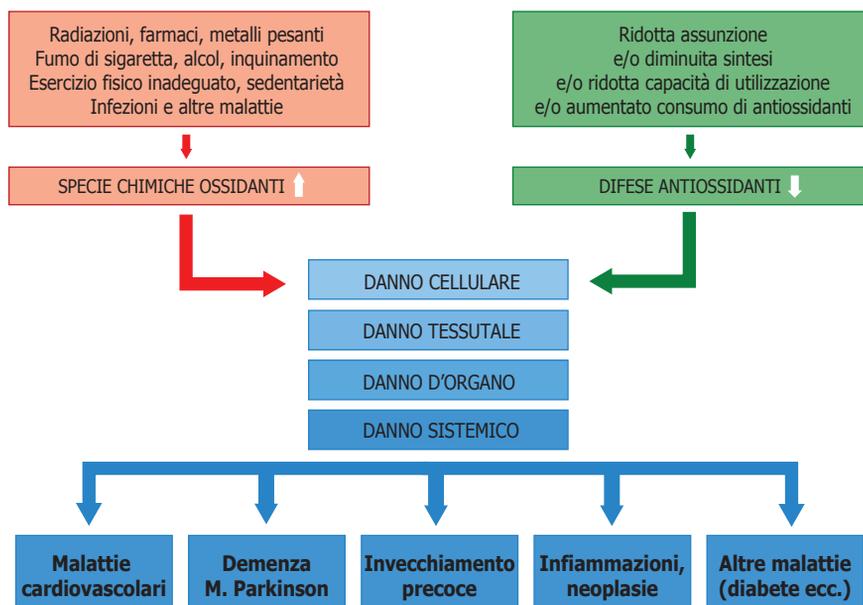


**Figura 1.13** – L'enzima glutationeperossidasi (GPx) catalizza la riduzione dei perossidi lipidici (LOOH) ad alcoli (LOH) (a sinistra), usando come cofattore due molecole di glutatione (GSH) (a destra), un tripeptide costituito da acido glutammico, cisteina e glicina, che viene rilasciato nella sua forma ossidata (GS-SG).

## 1.4 Lo stress ossidativo

Purtroppo, quando il sistema di difesa antiossidante non è più in grado di fronteggiare l'attacco di una produzione esuberante di SCO, può configurarsi una condizione di stress ossidativo (Favier, 2006) (figura 1.14).

Le cause più frequentemente responsabili di un aumento della produzione di SCO sono da individuarsi in fattori ambientali, situazioni fisiologiche, stili di vita, fattori psicologici, malattie e fattori iatrogeni ecc. (Iorio, 2004) (tabella 1.1).



**Figura 1.14** – Lo stress ossidativo si configura come l'esito della rottura, per varie cause, del fisiologico equilibrio tra la produzione di specie ossidanti (aumentate) e le difese antiossidanti (diminuite). Se non prontamente corretto da una singola cellula può estendersi a tessuti e organi con conseguente accelerazione del processo di invecchiamento e insorgenza o aggravamento di numerose patologie.

■ **TABELLA 1.1 – CAUSE DI AUMENTATA PRODUZIONE DI SPECIE CHIMICHE OSSIDANTI.**

Eziologia	Esempi
Fattori ambientali	Radiazioni, inquinamento ambientale, xenobiotici, parassiti
Stati fisiologici	Gravidanza, accrescimento
Fattori psicologici	Stress psico-emotivo
Stile di vita	Alimentazione, alcol, fumo, esercizio fisico inadeguato
Malattie	Traumi, infiammazioni, infezioni, vasculopatie, neoplasie
Fattori iatrogeni	Pillola anticoncezionale, radio/chemioterapia, dialisi, by-pass

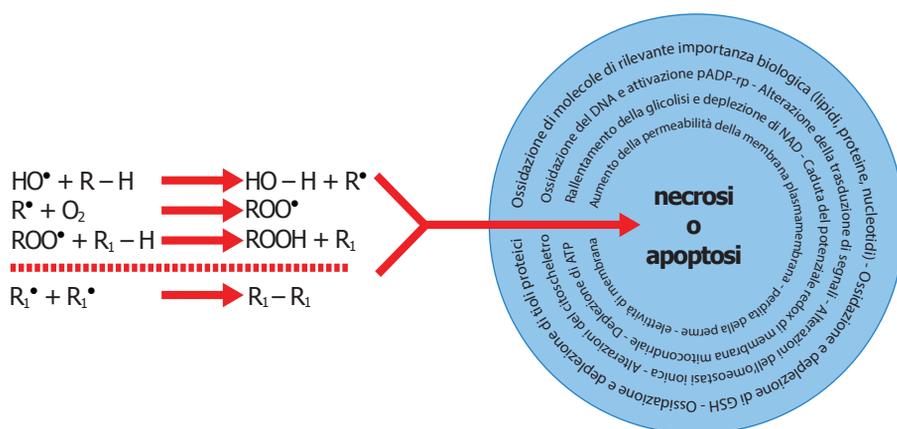
Una riduzione delle difese antiossidanti, invece, è da imputarsi sostanzialmente a un deficit assoluto o relativo di antiossidanti, comunque determinatosi. In tale contesto, alcune malattie, quali la celiachia, possono provocare uno stress ossidativo riducendo la disponibilità di antiossidanti assunti con l'alimentazione (tabella 1.2).

■ **TABELLA 1.2 – CAUSE DI RIDUZIONE DELLE DIFESE ANTIOSSIDANTI.**

Eziologia	Esempi
Ridotta assunzione di antiossidanti	Ipovitaminosi, diete monotone
Ridotto assorbimento di antiossidanti	Sindromi da malassorbimento, celiachia
Ridotta biodisponibilità di antiossidanti	Malattie genetiche, abuso di farmaci
Deficit dei sistemi enzimatici antiossidanti	Sclerosi laterale amiotrofica, sindrome di Down
Eccessivo consumo di antiossidanti	Assunzione di farmaci, fumo di sigaretta, malattie

È interessante sottolineare come molte delle cause di stress ossidativo (*tabelle 1 e 2*) sono anche responsabili, in generale, di un'alterazione dello stato di benessere (*figura 1.1*).

Comunque determinatosi (aumento della produzione di SCO e/o riduzione delle difese antiossidanti), lo stress ossidativo comporta una serie di alterazioni biochimiche, principalmente dipendenti dall'innesco di processi perossidativi e dalla deplezione dei tioli, che, nei casi estremi, possono condurre finanche alla morte cellulare, per necrosi o apoptosi (*figura 1.15*) (Comporti, 2011).



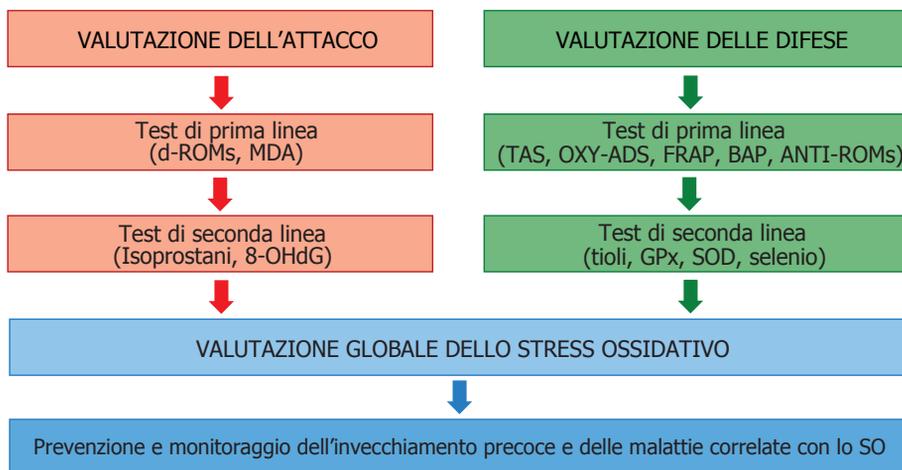
**Figura 1.15** – Meccanismi biochimici responsabili del danno ossidativo cellulare: dalla perossidazione lipidica alla deplezione dei tioli.

Lo stress ossidativo può essere considerato un fattore emergente di rischio per la salute, al quale sono riconducibili non solo l'invecchiamento precoce ma anche una serie di patologie, dalle infezioni ai tumori (Cannizzo et al., 2011; Whaley-Connell et al., 2011; Afanas'ev, 2010a, 2010b; Dalle-Donne et al., 2006) (*tabella 1.3*).

**■ TABELLA 1.3 – PATOLOGIE ASSOCIATE ALLO STRESS OSSIDATIVO (LO STRESS OSSIDATIVO PUÒ ESSERNE SIA LA CAUSA SIA LA CONSEGUENZA).**

Aceruloplasminemia	Disfunzione erettile	Obesità
Amiloidosi sistemica	Dislipidemie	Osteoartrosi
Anemia falciforme	Displasia broncopolmonare grave neonatale	Osteoporosi
Angina instabile	Eclampsia/pre-eclampsia	Pancreatite
Apnea notturna	Epatite cronica C	Photoaging
Arteriopatia coronarica	Epatopatia alcolica	Pneumopatie interstiziali
Artrite cronica giovanile	Fibroplasia retro lenticolare	Progeria
Artrite psoriasica	Fibrosi cistica	Psoriasi
Artrite reumatoide	Fibrosi polmonare idiopatica	Retinopatia dei prematuri
Asbestosi	Ictus cerebrale	Rettocolite ulcerosa
Asma	Infarto del miocardio	Sarcoidosi
Atassia di Friedreich	Infezione da streptococco beta-emolitico	Sclerosi multipla
Atassia teleangectasia	Infertilità maschile	Sclerodermia
Aterosclerosi	Infezione e infiammazione da <i>Helicobacter pylori</i>	Sclerosi laterale amiotrofica
Baropatie	Insufficienza renale cronica/emodialisi	Scompenso cardiaco
Broncopneumopatia cronica ostruttiva	Insufficienza venosa	Sepsi
Broncopneumopatie professionali	Iperomocisteinemia	Sferocitosi
By-pass cardiopolmonare	Iperensione arteriosa	Sindrome da distress respiratorio
Cancro del polmone	Iperensione polmonare	Sindrome da fatica cronica
Carcinoma a cellule renali	Leishmaniosi cutanea	Sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS)
Cataratta	Leucemia	Sindrome di Down
Cellulite	Lupus eritematoso sistemico	Sindrome di Ménière
Cirrosi biliare primitiva	Malattia di Alzheimer	Sindrome di Werner
Cirrosi epatica	Malattia di Creutzfeldt-Jacob	Sindrome di Zellweger
Claudicatio intermittens	Malattia di Parkinson	Sindromi mielodisplastiche
Colite	Malattia parodontale	Sinucleinopatie
Compromissione cognitiva minima	Malattia reumatica	Taupatie
Corea di Huntington	Meningite	Trapianto renale
Danno da ischemia-riperfusion	Miocardite	Traumi
Degenerazione maculare	Morbo di Crohn	Tubercolosi
Dermatite atopica		Uremia
Diabete mellito		Ustioni

Purtroppo, al contrario delle condizioni morbose elencate, lo stress ossidativo non dà luogo a dei sintomi caratteristici né si manifesta con un quadro clinico patognomonico, per cui esso può essere diagnosticato solo sottoponendo il soggetto in questione a specifici test di laboratorio (Iorio, 2003a, 2008, 2010a, 2010b; Iorio e Balestrieri, 2009; Regano et al., 2008) (figura 1.16).

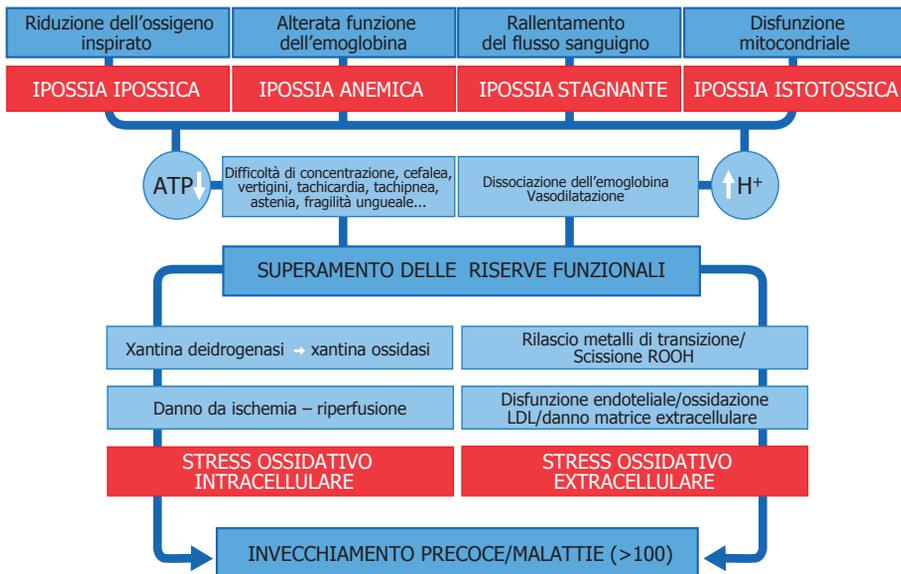


**Figura 1.16** – Una condizione di stress ossidativo può essere individuata solo attraverso specifici test di laboratorio, di prima e/o di seconda linea, alcuni dei quali esplorano la capacità ossidante (come il d-ROMs test), altri la capacità antiossidante (come l'anti-ROMs test).

Tra i vari test che hanno dimostrato un'alta affidabilità analitica e un buon rapporto costo/benefici sono da citare il d-ROMs test, che misura la capacità ossidante totale del plasma/siero nei confronti della N,N-dietilparafenilendiammina, principalmente riconducibile agli idroperossidi (range normale compreso tra 250 e 300 U CARR) (Vassalle et al., 2006; Iorio et al., 2003; Alberti et al., 2000), e il BAP test, che valuta il potenziale biologico antiossidante del plasma/siero in termini di riduzione del ferro ferri-co, usando la vitamina C come standard (valore ottimale >2200 micromoli/L) (Dohi et al., 2007; Dohi et al., 2005). Si parla di stress ossidativo quando il valore del d-ROMs test è al di sopra del limite superiore della norma e/o quello del BAP test è al di sotto della soglia considerata come ottimale per la salute.

## 1.5 L'ipossia come *primum movens* di patologia

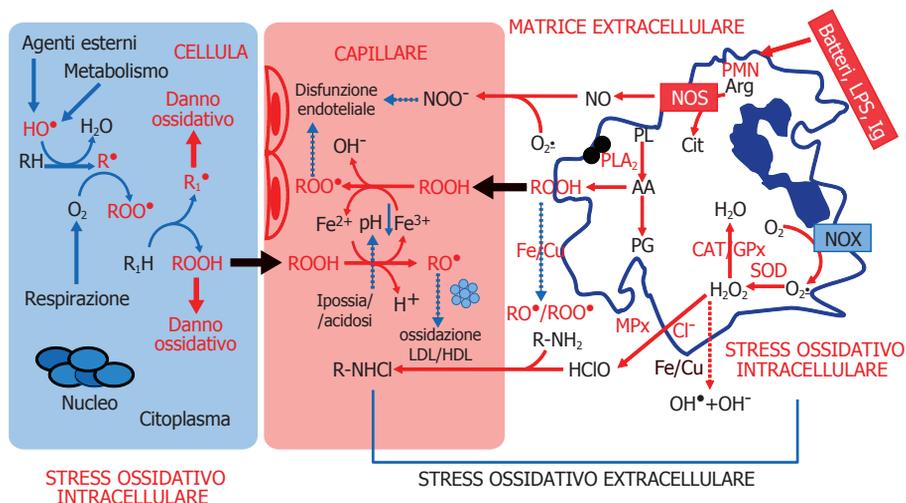
In tutte le malattie elencate correlate con lo stress ossidativo (Dalle-Donne et al., 2006) (tabella 1.3), quantunque possa apparire paradossale, all'origine dell'insulto cellulare vi è spesso una condizione di ipossia in grado di innescare un circolo vizioso di eventi che, se non efficacemente e tempestivamente corretto, può condurre a una condizione di malattia o, comunque, alla perdita del benessere (figura 1.17) (Arden e Sivaprasad, 2011).



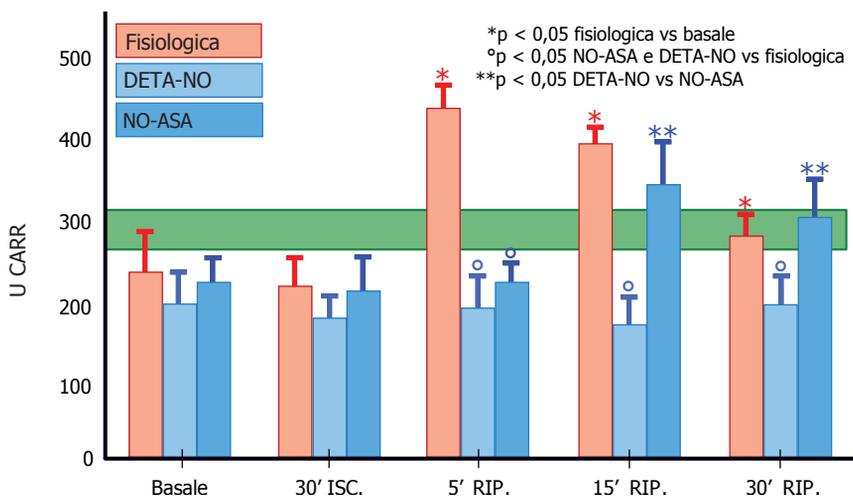
**Figura 1.17** – Dall’ipossia all’invecchiamento precoce e alla perdita di benessere. Basi biochimiche.

Infatti, l’abbassamento della pressione parziale di ossigeno al di sotto della soglia critica di 60 mm di mercurio nel sangue arterioso favorisce la degradazione cellulare del glucosio non ad anidride carbonica e acqua ma ad acido lattico che, accumulandosi nel microcircolo, attiva inizialmente, attraverso l’abbassamento del pH, importanti meccanismi di compenso, quali la riduzione sia delle resistenze periferiche, con conseguente aumento del flusso sanguigno, sia dell’affinità dell’emoglobina nei confronti dell’ossigeno, con conseguente aumento della biodisponibilità del prezioso gas (Lehninger, 2005).

Tuttavia, se non corretta, la microacidosi indotta dall’ipossia favorisce il rilascio dalle rispettive proteine carrier (trasferrina e ceruloplasmina) di metalli di transizione (ferro e rame) responsabili della trasformazione degli idroperossidi circolanti – prodotti dell’insulto ossidativo cellulare e non più adeguatamente rimossi dalla GPx – in ROS, potenzialmente lesive anche per la matrice extracellulare, con esito finale nella cosiddetta disfunzione endoteliale, momento patogenetico comune a tutte le malattie cardiovascolari (Montero et al., 2011; Halliwell e Gutteridge, 1990) (figura 1.18).



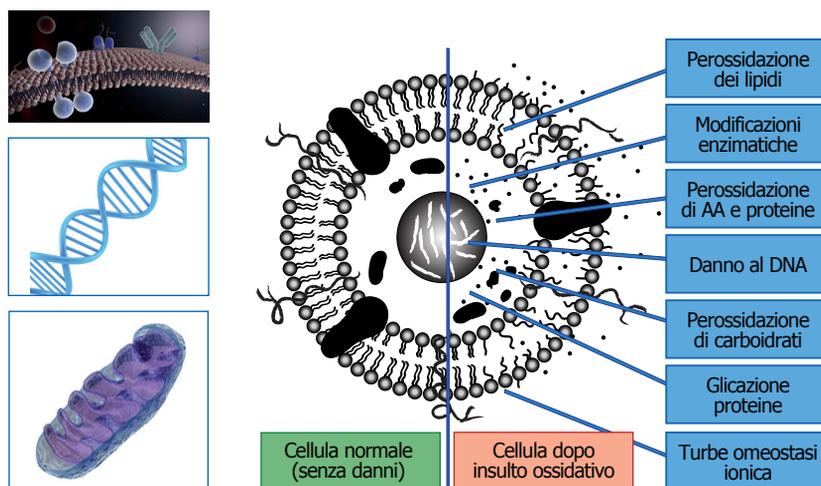
**Figura 1.18** – I perossidi (ROOH) prodotti dall'insulto ossidativo cellulare, superata una soglia critica, vengono espulsi dalle cellule e immessi nella matrice extracellulare e, quindi, nel sangue, ove, se trovano le condizioni ottimali (acidosi, metalli di transizione, quali il ferro, allo stato libero) possono essere riconvertiti in radicali liberi, in grado di ossidare il colesterolo e danneggiare l'endotelio, complice spesso una condizione infiammatoria. È da notare come, in questa serie di eventi, si passi facilmente da uno stress ossidativo intracellulare a uno extracellulare e, quindi, all'amplificazione dell'insulto ossidativo iniziale.



**Figura 1.19** – Il clampaggio sperimentale di un'arteria provoca, dopo circa 30 minuti di ischemia, un aumento della produzione di radicali liberi circolanti nel momento in cui il flusso sanguigno viene ripristinato. Il fenomeno è dovuto al fatto che durante la fase ipossica la xantina deidrogenasi, preposta al catabolismo delle purine, viene trasformata in xantina ossidasi la quale, al momento del ripristino di una normale circolazione, utilizza l'ossigeno per produrre ROS (anione superossido e perossido di idrogeno), onde il danno, appunto, da ischemia-riperfusion. (Modificata da: Bertuglia S, Giusti A, Del Soldato P. Antioxidant activity of a nitro derivative of aspirin against ischemia-reperfusion in hamster cheek pouch microcirculation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*, 2004, 286 (3): G437-G443)

Inoltre, superato un certo intervallo critico di tempo, l'eventuale ma ormai tardivo ripristino del flusso ematico nel distretto precedentemente ischemico conduce, per le alterazioni occorse nella fase ipossica (trasformazione della xantina deidrogenasi in xantina ossidasi), alla generazione di ulteriori ROS, che aggravano l'insulto ossidativo. Si parla, in questo caso, di "danno da ischemia-riperfusion", un fenomeno che gioca un ruolo rilevante negli interventi di rivascularizzazione e nei trapianti (Zhao e Zhao, 2010; Misra et al., 2009) (figura 1.19).

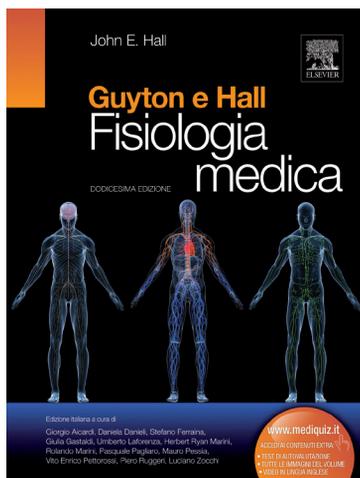
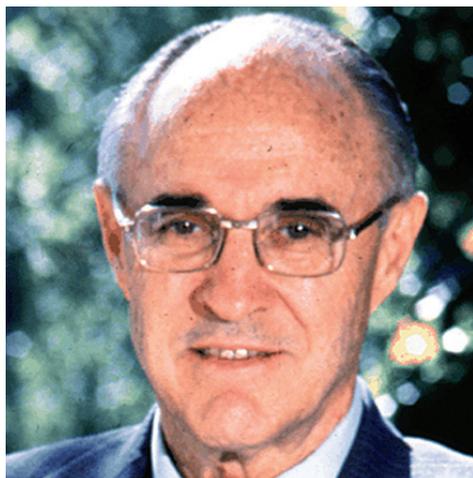
L'effetto dell'insulto ossidativo sulle cellule può essere disastroso (figura 1.20).



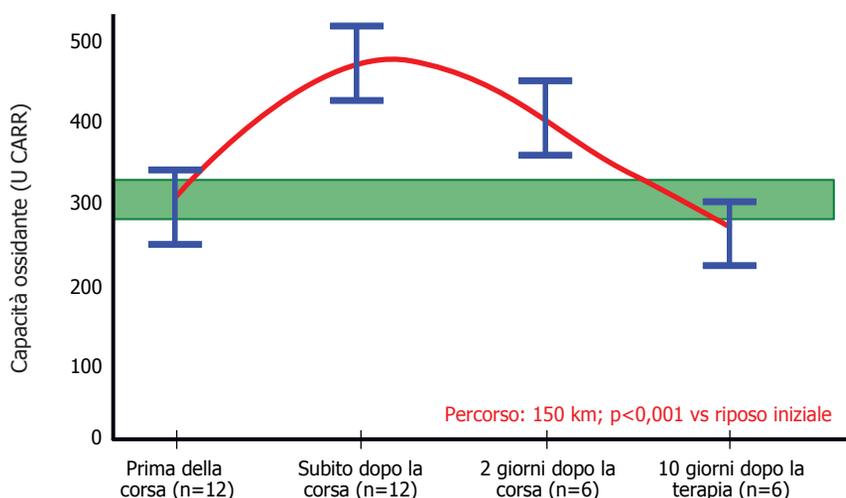
**Figura 1.20** – L'insulto ossidativo cellulare può interessare tutte le componenti cellulari, dalla membrana cellulare al DNA, con esito in apoptosi o necrosi. (Modificata da: *Free Radicals*, Randox, Regno Unito)

In questo senso, realmente il problema metabolico che è alla base della sofferenza cellulare di qualsiasi malattia – come aveva ben preconizzato Guyton (1976) (figura 1.21) – è l'alterata biodisponibilità dell'ossigeno, elemento posto all'estremo terminale della catena di eventi metabolici che conduce alla trasformazione dei nutrienti in energia (figura 1.2), ma anche punto di partenza per la generazione di specie chimiche ossidanti potenzialmente lesive (Lehninger, 2005) (figura 1.6).

Questo concetto è ben esemplificato – già fisiologicamente – dall'attività fisica che, quando eseguita in maniera regolare, favorisce il corretto consumo di ossigeno, riducendo il rischio di ROS in eccesso e stimolando le naturali difese antiossidanti, migliorando complessivamente lo stato di salute, ma, quando condotta in maniera incongrua – per difetto, ma anche per eccesso – accentua i fenomeni ossidativi (Karlsson J, 1997; Iorio et al., 2001; Iorio, 2007), predisponendo allo stress ossidativo vero e proprio ("paradosso sportivo"), come si osserva spesso nei ciclisti (Iorio, 2004) (figura 1.22).



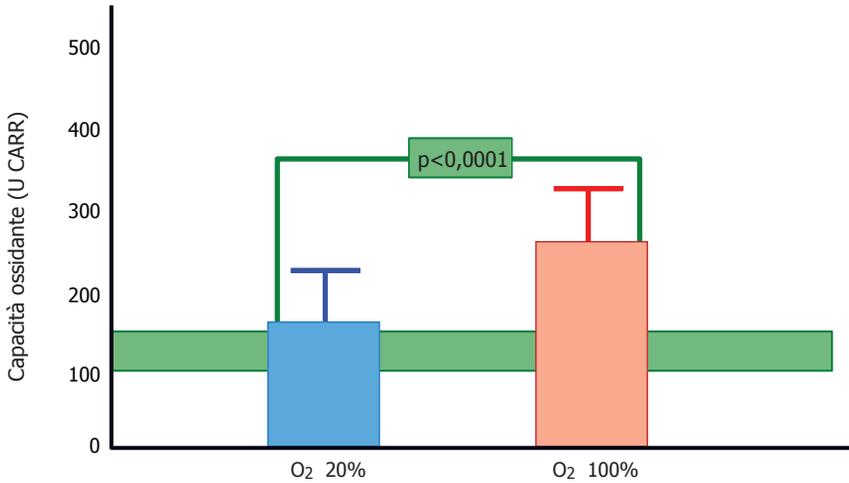
**Figura 1.21** – Il celebre fisiologo Guyton, autore di uno dei best-seller di fisiologia, secondo il quale “ogni sofferenza cellulare dipende dalla carenza di ossigeno”.



**Figura 1.22** – Dopo una gara ciclistica di gran fondo (150 km), in soggetti non ben allenati, il livello di radicali liberi nel sangue (misurato attraverso il d-ROMs test, in termini di capacità ossidante totale) raggiunge valori quasi doppi rispetto al riposo e persiste a lungo elevato prima di tornare nella norma. Finché ci si trova nell’area “sotto la curva” gli atleti sono da considerarsi a rischio di insulto ossidativo.

Purtroppo, sia gli approcci tradizionali volti ad aumentare, in caso di ipossia, il livello di ossigenazione tissutale, quali ad esempio la terapia iperbarica, sia i trattamenti antiossidanti convenzionali ad alto dosaggio volti a contrastare, in caso di iperossia, l’esuberante produzione di ROS possono, paradossalmente, aumentare il rischio di stress ossidativo.

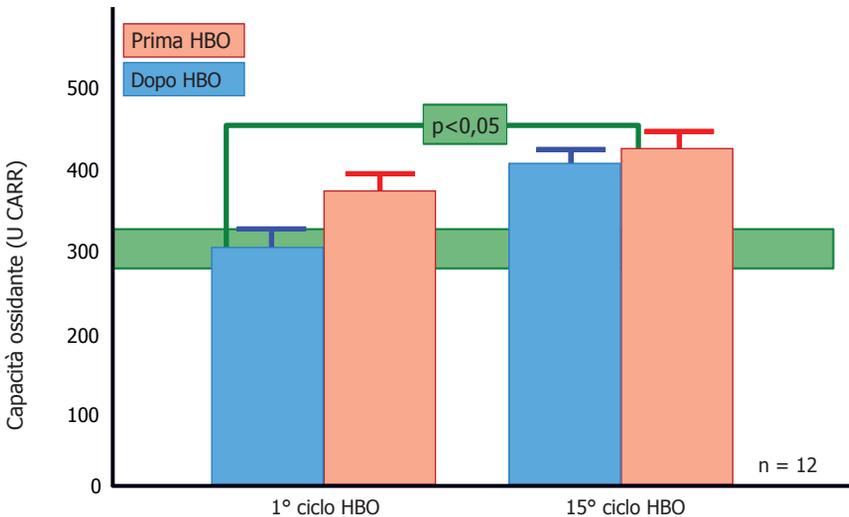
Infatti, la somministrazione di ossigeno ai neonati, praticata allo scopo di contrastare l’ipossia, risolve la cianosi, ma può essere causa di un aumento dei radicali liberi (Ezaki



**Figura 1.23** – La somministrazione di ossigeno puro ai neonati produce un aumento del livello ematico di radicali liberi, misurato attraverso il d-ROMs test, che appare significativamente elevata rispetto allo stato ossidativo basale (corrispondente all’assunzione di ossigeno attraverso l’aria inspirata). (Modificata da: Ezaki, 2009)

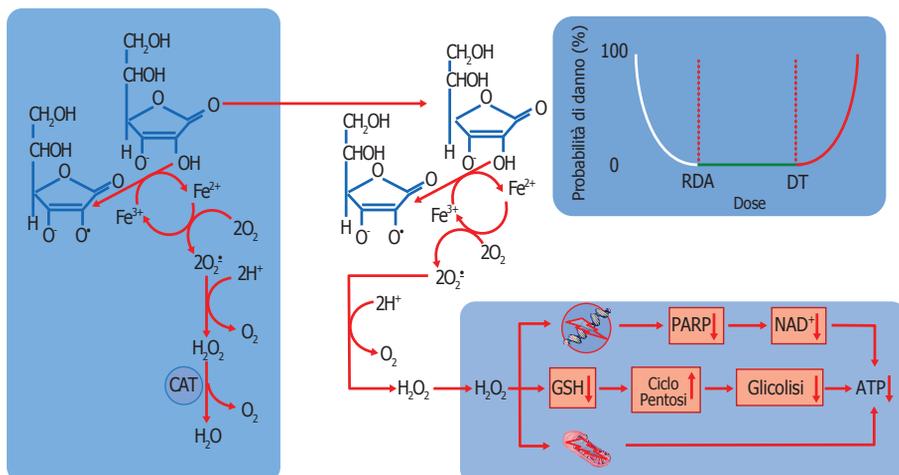
et al., 2009) (figura 1.23). Non a caso la prima patologia da stress ossidativo è stata descritta proprio nei neonati (*fibroplasia retrolenticolare*, vedi tabella 1.3).

Negli adulti, analogamente, la terapia iperbarica, eseguita per curare condizioni patologiche quali il piede diabetico o l’osteomielite, provoca, comunque, un aumento dei radicali liberi, anche se questo effetto può essere sfruttato temporaneamente per ottenere dei benefici (Benedetti et al., 2004) (figura 1.24).



**Figura 1.24** – Ripetuti cicli di terapia iperbarica provocano un aumento significativo del livello ematico dei radicali liberi, misurato attraverso il d-ROMs test. (Modificata da: Benedetti, 2004)

Purtroppo, anche i trattamenti antiossidanti convenzionali, se basati sull'impiego di dosaggi elevati, possono, paradossalmente, indurre un effetto pro-ossidante. È questo il caso della vitamina C la quale, somministrata a dosi superiori a quelle previste dalla ragione giornaliera suggerita dai nutrizionisti per la popolazione di appartenenza (LARN o RDA), induce un aumento dei livelli di perossido di idrogeno all'interno delle cellule che, per potersi difendere, "bruciano glucosio" (necessario per riciclare il glutatiene, cofattore della GPx) e lo sottraggono alla glicolisi; ne consegue un deficit energetico che può condurre anche all'apoptosi (Chen et al., 2007) (figura 1.25).



**Figura 1.25** – Dosaggi elevati di vitamina C provocano un aumento della concentrazione ematica di perossido di idrogeno che, non essendo efficacemente degradato a livello extracellulare, diffonde nelle cellule, provocando uno shift del metabolismo del glucosio verso il ciclo dei pentosi, allo scopo di rigenerare NADPH indispensabile per il funzionamento della glutatieneperossidasi. Ne consegue un abbassamento della sintesi di ATP e sofferenza cellulare diffusa, fino all'apoptosi. Come illustrato nel box in alto a destra, inoltre, la probabilità dell'insulto ossidativo si abbassa; all'aumento del dosaggio di un dato ossidante fino a un massimo che corrisponde alla dose giornaliera raccomandata (*Recommended Daily Allowance*, RDA); ulteriori incrementi della dose non migliorano l'effetto protettivo, che si abbassa superata la dose tossica (DT). PARP: poli ADP ribosio polimerasi; NAD<sup>+</sup>: nicotinamide adenina dinucleotide (coenzima); GSH: glutatiene; ATP: adenosina trifosfato.

In questo scenario, Cellfood® (Storey, 1982) appare come il promettente prototipo di una nuova classe di nutraceutici, i "modulatori fisiologici", ossia agenti potenzialmente in grado di prevenire o rallentare, attraverso una fine regolazione di funzioni biochimiche chiave (es. permeabilità di membrana, trasduzione dei segnali, metabolismo energetico ecc.), la comparsa, ovvero influenzare in senso favorevole l'evoluzione, di una serie di malattie, spesso a carattere degenerativo e ad andamento cronico, come quelle associate allo stress ossidativo (Cornelli, 2009; Olson, 1996).

## Bibliografia

- Afanas'ev I (2010a). Reactive oxygen species and age-related genes p66Shc, Sirtuin, FoxO3 and Klotho in senescence, *Oxid Med Cell Longevity* 3, 1-9.
- Afanas'ev I (2010b). Signaling and damaging functions of free radicals in aging-free radical theory, hormesis, and TOR, *Aging and Disease* 1, 75-88.
- Alberti A, Bolognini L, Macciantelli D, et al. (2000). The radical cation of N,N-diethyl-para-phenyldiamine: a possible indicator of oxidative stress in biological samples, *Res Chem Intermed* 26 (3), 253-267.
- Arden GB, Sivaprasad S (2011). Hypoxia and oxidative stress in the causation of diabetic retinopathy, *Curr Diabetes Rev* 7 (5), 291-304.
- Arruda MA, Barja-Fidalgo C (2009). NADPH oxidase activity: In the crossroad of neutrophil life and death, *Front Biosci* 14, 4546-4556.
- Benedetti S, Lamorgese A, Piersantelli M, et al. (2004). Oxidative stress and antioxidant status in patients undergoing prolonged exposure to hyperbaric oxygen, *Clinical Biochemistry* 37, 312-317.
- Bompiani GD, Galluzzo A (1990). *Radicali liberi in fisiologia e patologia*, Torino, Minerva Medica, pp. 19-24.
- Brigelius-Flohé R (2006). Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors, *Biol Chem* 387 (10-11), 1329-1335.
- Cadenas E, Packer L (1996). *Handbook of antioxidants*, New York, Marcel Dekker.
- Calderón-Garcidueñas L, Serrano-Sierra A, Torres-Jardón R, et al. (2012). The impact of environmental metals in young urbanites' brains, *Exp Toxicol Pathol*, Mar 19 [ePub ahead of print].
- Cannizzo ES, Clement CC, Sahu R, et al. (2011). Oxidative stress, inflamm-aging and immunosenescence, *J Proteomics* 74 (11), 2313-2323.
- Chen Q, Espey MG, Sun AY, et al. (2007). Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo, *Proc Natl Acad Sci USA* 104 (21), 8749-8754.
- Comporti M (2011). *Radicali liberi, patologia da stress ossidativo e antiossidanti*, Roma, Società Editrice Universo.
- Conrad M, Schneider M, Seiler A, et al. (2007). Physiological role of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in mammals, *Biol Chem* 388 (10), 1019-1025.
- Cooper KH (1997). *Il potere curativo degli antiossidanti*, Milano, Red.
- Cornelli U (2009). Antioxidant use in nutraceuticals, *Clin Dermatol* 27 (2), 175-194.
- Cornelli U, Iorio EL (2007). *Antiossidanti. Aspetti terapeutici e diagnostici*, Milano, GUNA.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, et al. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease, *Clinical Chemistry* 52 (4), 601-623.
- Delattre J (2006). Introduction: from molecular oxygen to oxidative stress and radical biochemistry, *Ann Pharm Fr* 64 (6), 363.
- Dohi K, Satoh K, Nakamachi T, et al. (2007). Does Edaravone (MCI-186) act as an antioxidant and a neuroprotector in experimental traumatic brain injury? *Antioxid, Redox Signal* 8, 281-287.
- Dohi K, Satoh K, Ohtaki H, et al. (2005). Elevated plasma levels of bilirubin in patients with neurotrauma reflect its pathophysiological role in free radical scavenging, *In Vivo* 19 (5), 855-860.
- Ezaki S, Suzuki K, Kurishima C, et al. (2009). Resuscitation of preterm infants with reduced oxygen results in less oxidative stress than resuscitation with 100% oxygen, *J Clin Biochem Nutr* 44, 111-118.

- Favier A (2006). Oxidative stress in human diseases, *Ann Pharm Fr* 64 (6), 390-396.
- Gardes-Albert M (2006). Physico-chemical aspects of reactive oxygen species, *Ann Pharm Fr* 64 (6), 365-372.
- Guyton AC (1976). *Textbook of Medical Physiology* (12th ed. 2011), Philadelphia, WB Saunders [trad. it. *Guyton e Hall. Fisiologia medica*. 12<sup>a</sup> ed. Elsevier, Milano 2012].
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, *Meth Enzymol* 186, 1-85.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1999). *Free radicals in biology and medicine*, 3rd ed., Oxford, Clarendon Press.
- lorio EL (2003a). La valutazione globale dello stress ossidativo, *Il Patologo Clinico* 5/6, 155-159.
- lorio EL (2003b). Lo stress ossidativo quale fattore di rischio per la salute. Il ruolo dei fattori ambientali, *Atti delle Giornate Medico-Chirurgiche Romane "Ambiente: salute o malattia"*, Roma, 31 ottobre 2003.
- lorio EL (2004). d-ROMs test in sport, *Cosmetic News* 157, 272-275.
- lorio EL (2007). Stress ossidativo e sport, *European Journal of Health, Sport and Nutrition* 1, 102-103.
- lorio EL (2008). *El laboratorio en el estudio del estrés oxidativo*, Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, Plan Nacional de Formación Continuada, Análisis Clínicos II, Modulo II, 1-28.
- lorio EL (2010a). New perspectives in oxidative stress research: the Redoxomics, *Proceedings International Conference on Advances in Free Radicals Research, Natural Products, Antioxidants and Radioprotectors in Health & Ninth Annual Meeting of the Society of Free Radical Research India*, Hyderabad (India), January 11-13, 2010, pp. 26-27.
- lorio EL (2010b). The novel field of Redoxomics, *Proceedings BIT Life Sciences' 3rd Annual Pep-Con-2010*, Beijing (China), March 21-23 (2010). p. 283.
- lorio EL, Balestrieri ML (2009). Lo stress ossidativo. In: *Trattato Italiano di Medicina di Laboratorio*, di Angelo Burlina, a cura di Balestrieri C et al., Padova, Piccin, pp. 533-549.
- lorio EL, Boccellino M, Balestrieri P, et al. (2003). d-ROMs test and oxidative stress assessment, *Rendiconti e Atti della Accademia di Scienze Mediche e Chirurgiche* 157, 49-61.
- lorio EL, Carratelli M, Quagliuolo L, et al. (2001). Oxidative stress evaluation in athletes, *Proceedings 2nd International Conference on Oxidative Stress and Aging*, April 2-5, 2001, Maui (Hawaii, USA), p. 60.
- Jiang YY, Kong DX, Qin T, et al. (2012). The impact of oxygen on metabolic evolution: a chemoinformatic investigation, *PLoS Comput Biol* 8 (3), e1002426 [ePub 2012 Mar 15].
- Karlsson J (1997). Antioxidants and exercise, *Human Kinetics*.
- Kelishadi R, Mirghaffari N, Poursafa P, et al. (2009). Lifestyle and environmental factors associated with inflammation, oxidative stress and insulin resistance in children, *Atherosclerosis* 203 (1), 311-319.
- Lehninger A (2005). *Principles of Biochemistry*, Nelson DL and Cox MM Eds., 4th ed., WH Freeman.
- Margulis L (1975). Symbiotic theory of the origin of eukaryotic organelles; criteria for proof, *Symp Soc Exp Biol* 29, 21-38.
- Misra MK, Sarwat M, Bhakuni P, et al. (2009). Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes, *Med Sci Monit* 15 (10), RA209-RA219.
- Møller P, Wallin H, Knudsen LE (1996). Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors, *Chem Biol Interact* 102 (1), 17-36.
- Montero D, Walther G, Perez-Martin A, et al. (2011). Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: markers and effect of lifestyle intervention, *Obes Rev*, doi: 10.1111/j.1467-789X.2011.00956.x.

- Montezano AC, Touyz RM (2012). Molecular mechanisms of hypertension-reactive oxygen species and antioxidants: a basic science update for the clinician, *Can J Cardiol*, Mar 23 [ePub ahead of print].
- Olson JA. (1996). Benefits and liabilities of vitamin A and carotenoids, *J Nutr* 126, 1208S-1221S.
- Prabhakar NR, Semenza GL (2012). Gaseous messengers in oxygen sensing, *J Mol Med (Berl)* 90 (3), 265-272.
- Regano N, Iorio EI, Guglielmi A, et al. (2008). The assessment of oxidative stress in clinical practice and its importance in nutrition, *Nutritional Therapy & Metabolism* 26 (4), 149-162.
- Richter C, Gogvadze V, Laffranchi R, et al. (1995). Oxidants in mitochondria: from physiology to diseases, *Biochim Biophys Acta* 1271 (1), 67-74.
- Rutherford AW, Boussac A. (2004). Biochemistry, Water photolysis in biology, *Science* 303 (5665), 1782-1784.
- Semenza GL (2012). Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine, *Cell* 148 (3), 399-408.
- Sperati A, Abeni DD, Tagesson C, et al. (1999). Exposure to indoor background radiation and urinary concentrations of 8-hydroxydeoxyguanosine, a marker of oxidative DNA damage, *Environ Health Perspect* 107 (3), 213-215.
- Storey EL (1982). *Beyond Belief*, Feedback Books.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int J Biochem Cell Biol* 39 (1), 44-84.
- Vassalle C, Boni C, Di Cecco P, et al. (2006). Automation and validation of a fast method for the assessment of in vivo oxidative stress levels, *Clin Chem Lab Med* 44 (11), 1372-1375.
- Whaley-Connell A, McCullough PA, Sowers JR (2011). The role of oxidative stress in the metabolic syndrome, *Rev Cardiovasc Med* 12 (1), 21-29.
- Zhao Y, Zhao B (2010). Protective effect of natural antioxidants on heart against ischemia-reperfusion damage, *Curr Pharm Biotechnol* 11 (8), 868-874.



# Cellfood<sup>®</sup>, prototipo dei modulatori fisiologici di ossigeno *on demand*

Eugenio Luigi Iorio

## 2.1 Cellfood<sup>®</sup>. Composizione e principali caratteristiche

Cellfood<sup>®</sup> (Storey, 1982; Dyer, 2010) è un integratore alimentare multifunzionale di natura colloidale contenente disciolta in fase disperdente acquosa una miscela complessa di amminoacidi, enzimi e oligoelementi, in particolare selenio, accuratamente selezionati, ricavati da alghe della specie *Lithothamnium calcareum* (figura 2.1) e da altre alghe e fossili provenienti da ecosistemi marini praticamente incontaminati (Maughan, 2001).

Tali alghe sono dotate della singolare capacità di estrarre preziosi minerali dall'acqua marina e di concentrarli principalmente sotto forma di carbonati nelle loro propaggini (Maughan, 2001). Queste ultime presentano una composizione chimica del tutto diffe-



IMMAGINE OK  
PER dr TERZIANI  
e dr IORIO

L'immagine è molto usata  
su INTERNET e il dr Iorio  
chiede, se non si acconsente  
alla sua pubblicazione,  
di comprarne una.

**Figura 2.1** – I principi attivi di Cellfood<sup>®</sup> sono estratti in gran parte da alghe marine e fossili.

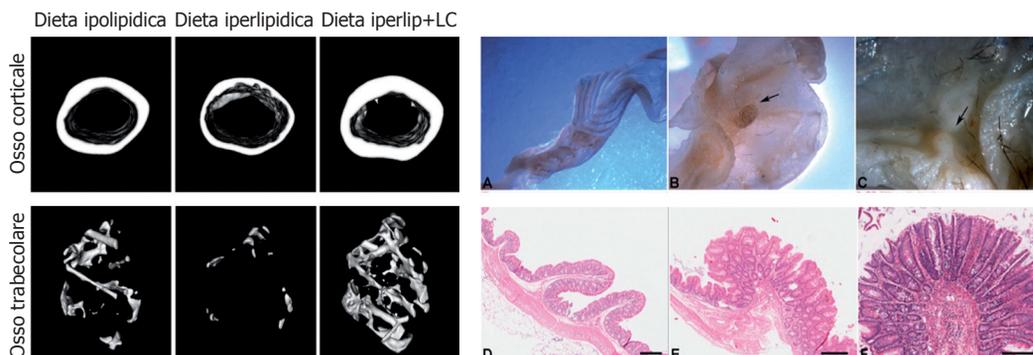
■ **TABELLA 2.1 – COMPOSIZIONE ELEMENTARE DEL *LITHOTHAMNIUM CALCAREUM*.**

Elemento	µg/g	Elemento	µg/g	Elemento	µg/g
Afnio	< 0,03	Gallio	2,48	Rame	4,89
Alluminio	291,00	Germanio	0,21	Renio	< 0,05
Antimonio	6,74	Indio	0,05	Rodio	< 0,01
Argento	0,25	Iodio	32,80	Rubidio	1,95
Arsenico	< 0,20	Iridio	< 0,05	Rutenio	0,09
Bario	64,2	Itterbio	0,10	Samario	0,53
Berillio	0,31	Ittrio	1,22	Scandio	0,04
Bismuto	0,08	Lantanio	0,37	Selenio	0,67
Boro	39,50	Litio	2,77	Silicio	504,00
Bromo	10,10	Lutezio	0,06	Sodio	4,15
Cadmio	0,07	Magnesio	25,80	Stronzio	1,81
Calcio	351,50	Manganese	57,50	Tallio	0,09
Carbonio	122,00	Mercurio	< 0,01	Tantalo	0,06
Cerio	2,17	Molibdeno	0,05	Tellurio	0,05
Cesio	0,10	Neodimio	0,03	Terbio	0,03
Cloro	910	Nickel	1,48	Tin	0,20
Cobalto	0,08	Niobio	0,14	Titanio	27,8
Cromo	0,82	Olmio	< 0,05	Torio	< 0,02
Disprosio	0,08	Oro	< 0,01	Tulio	0,06
Erbio	4,27	Osmio	< 0,05	Tungsteno	0,19
Europio	0,05	Palladio	< 0,01	Vanadio	37,50
Ferro	915,00	Piombo	0,16	Zinco	15,8
Fluoro	7,28	Platino	< 0,01	Zirconio	0,34
Fosforo	310,00	Potassio	5,18	Zolfo	5,70
Gadolinio	0,11	Praseodimio	0,23		

rente rispetto a quelle delle comuni alghe in quanto sono praticamente prive di carragenina, agar, alginati ecc.

La straordinaria ricchezza di sali minerali – ne sono stati individuati almeno 72 (tabella 2.1) – ha reso per anni il *Lithothamnium calcareum* un eccezionale fertilizzante in agricoltura. Studi successivi hanno poi aperto la strada a un suo utilizzo nell'alimentazione.

Recentemente si è visto che, somministrato a ratti tenuti a differenti regimi dietetici, un estratto di *Lithothamnium calcareum* ha consentito, a 15 mesi rispetto ai controlli, il



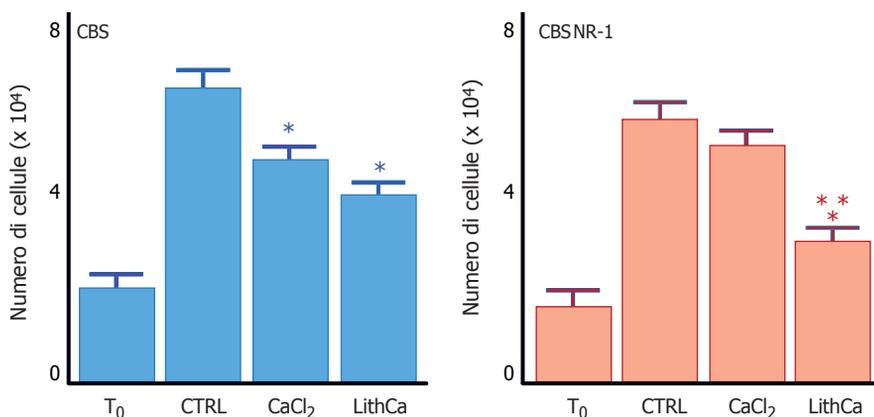
**Figura 2.2** – Effetti dell’estratto di *Lithothamnium calcareum* sulla struttura ossea (Aslam, Kreider et al., 2010) e sulla chemio prevenzione della poliposi del colon in modello di ratto (Aslam, Paruchuri et al., 2010).

il dr Iorio dice di chiedere i diritti alle pubblicazioni



mantenimento di una migliore struttura e funzionalità ossea, con livelli più elevati di fosfatasi acida tartrato resistente, nelle femmine, e di un migliore aspetto dell’osso all’esame microtomografico computerizzato (Aslam, Kreider et al., 2010) (figura 2.2, sinistra). Inoltre, in un altro studio, negli stessi animali, l’assunzione dell’estratto si è associata, a 15 mesi rispetto ai controlli, a un’assenza totale di polipi (0% vs 20%) e di infiammazione iperplastica nonché a una più bassa mortalità (30% vs 55%  $p < 0,05$ ), a suggerire una possibile attività chemio preventiva del preparato (Aslam, Paruchuri et al., 2010) (figura 2.2, destra).

E ancora, l’aggiunta di un estratto di *Lithothamnium calcareum* è accompagnata, rispetto ai controlli, a una soppressione della crescita e a una stimolazione della differenziazione in cellule di carcinoma umano di colon calcio-sensibili in coltura (Aslam et al., 2009) (figura 2.3). Questi risultati sono stati confermati, più recentemente, anche su colture d’organo.



**Figura 2.3** – Possibili effetti antineoplastici dell’estratto di *Lithothamnium calcareum* in colture cellulari derivate da carcinoma umano del colon. (Modificata da: Aslam et al., 2009)

Un originale processo brevettato, della durata di nove mesi, che prevede l'arricchimento dell'iniziale estratto marino di *Lithothamnium calcareum* con ulteriori componenti minerali, quali il solfato di deuterio, ottenuti dalle emanazioni vulcaniche di geysir, conduce in definitiva alla cosiddetta *formula Everett-Storey*, indicata anche come Deutrosulfazyme® (letteralmente "deuterio solfato ed enzimi"), che è alla base del prodotto attualmente commercializzato come Cellfood® (Storey, 1982; Dyer, 2010).

Arricchito, all'occorrenza, da altre componenti nutrizionali (vitamine, S-adenosilmetionina, metilsulfonilmetano, silicio, acido isocitrico ecc.) grazie alle sue nove formulazioni (otto sistemiche e una topica), Cellfood® si propone come l'unico modulatore fisiologico in grado di rendere biodisponibile ossigeno "on demand" – ossia nella giusta quantità e al momento opportuno – ai tessuti a rischio di ipossia (effetto ossigenante) e, contemporaneamente, evitare che l'eventuale gas in eccesso, trasformato in radicali liberi, generi le caratteristiche lesioni da stress ossidativo (effetto antiossidante), nelle più svariate condizioni cliniche (Iorio, 2003) (vedi oltre). Rapido e completo assorbimento e massima biodisponibilità a basso dosaggio garantiscono la distribuzione dei principi attivi nei vari tessuti in funzione delle reali necessità metaboliche (Iorio, 2003).

Tornando alla composizione chimica, Cellfood® contiene dispersi in tracce 78 minerali, 17 amminoacidi, 34 enzimi e solfato di deuterio (Storey, 1982; Dyer, 2010; Iorio, 2003).

I minerali coprono quasi l'intera tavola periodica, compresi quelli dotati di potenziale azione antiossidante (*selenio, manganese, zinco, rame, germanio, molibdeno*) (figura 2.4).

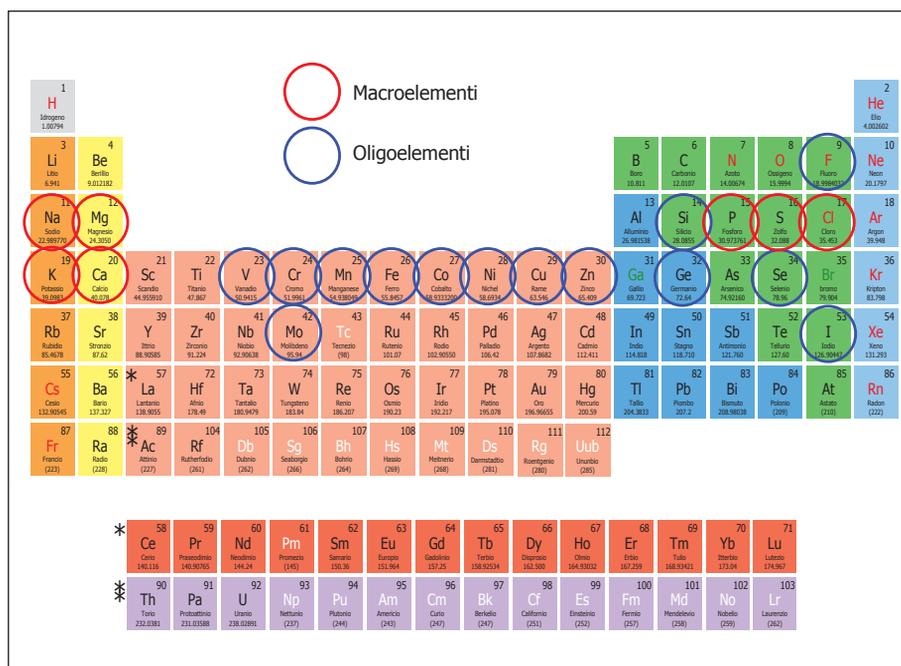


Figura 2.4 – Molti degli elementi della Tavola Periodica sono presenti in tracce nella formulazione di Cellfood®.

Non sono inclusi, invece, elementi irritanti (*cloro*), metalli potenzialmente tossici (*alluminio, cadmio, mercurio, piombo*) ed elementi radioattivi (*radio*). Molti di essi (soprattutto il *calcio* del *Lithothamnium calcareum*, *ma anche sodio, potassio, ferro, rame, manganese, zinco* ecc.) sono in forma ionica, quindi in grado di assumere, all'interno dell'organismo, il ruolo di elettroliti, preziosi ioni di cui è ampiamente noto il benefico ruolo non solo nella genesi e nella modulazione dei fenomeni elettrici cellulari (eccitabilità, generazione, propagazione e trasmissione dell'impulso nervoso, contrazione muscolare, attività cardiaca) ma anche nel mantenimento del bilancio idrico.

Gli amminoacidi occupano il vasto range di quelli essenziali sia per l'adulto (isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina) che per il bambino (arginina e istidina) (*tabella 2.2*).

■ **TABELLA 2.2 – COMPOSIZIONE AMMINOACIDICA DI CELLFOOD®.**

Essenziali per l'adulto	Essenziali per il bambino	Non essenziali
Fenilalanina	Arginina	Acido aspartico
Isoleucina	Istidina	Acido glutammico
Lisina		Alanina
Metionina		Cisteina
Treonina		Glicina
Triptofano		Prolina
Valina		Serina
		Tirosina

Essi possono essere utilizzati come preziosi precursori sia di proteine – ad azione strutturale (collagene, elastina) o funzionale (recettori di membrana, ormoni, anticorpi) – sia di antiossidanti. A proposito di quest'ultima proprietà, infatti, va ricordato che arginina, lisina, cisteina, metionina e istidina sono in vario modo coinvolte nella difesa contro le ROS. In particolare, l'arginina presente in Cellfood® è una preziosa fonte di ossido nitrico (NO), un potentissimo mediatore biochimico coinvolto nella modulazione della pressione arteriosa, dell'aggregazione piastrinica e dell'infiammazione (Iorio 2004a).

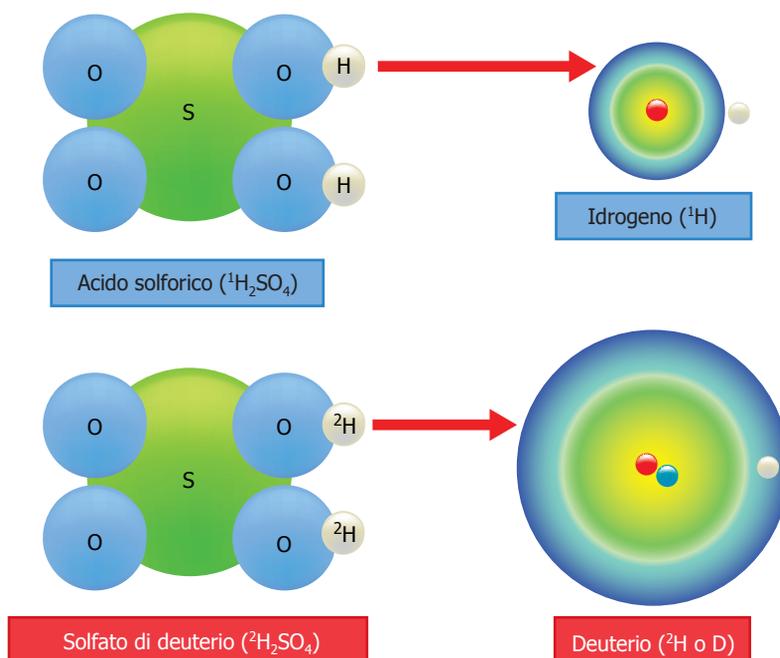
Gli enzimi estendono la propria attività catalitica alle principali vie metaboliche che coinvolgono i carboidrati, i lipidi, gli amminoacidi, le proteine e i nucleotidi (*tabella 2.3a*). Alcuni di essi catalizzano reazioni intermedie della glicolisi, altri sono attivi sul ciclo di Krebs, altri ancora modulano il delicatissimo equilibrio fosforilazione-defosforilazione. Svariate sono le tipologie di reazioni chimiche che accelerano: idrolisi, ossido-riduzione, isomerizzazione ecc.

Tra gli enzimi ad azione ossido-reduttasica sono da segnalare la catalasi e la perossidasi, che grazie alla loro azione antiossidante contribuiscono a difendere l'organismo dall'attacco delle ROS. L'efficacia di questi enzimi è potenziata dall'attivazione della superossidodismutasi (SOD) e della glutationeperossidasi (GPx), modulata da alcuni oligoelementi (manganese, zinco, rame e selenio), tutti presenti nella formulazione di Cellfood®.

■ **TABELLA 2.3 – GLI ENZIMI DI CELLFOOD®**

<p><b>Enzimi attivi sul metabolismo dei carboidrati</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Saccarasi</li> <li>2. Maltasi</li> <li>3. Emulsina</li> </ol>	<p><b>Enzimi attivi sul metabolismo dei nucleotidi</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Nucleotidasi</li> <li>2. Polinucleotidasi</li> </ol>
<p><b>Enzimi della glicolisi e del metabolismo dei P-esosi</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Esochinasi</li> <li>2. Fosfoesisomerasi</li> <li>3. Zimosiasi (fruttosio-difosfato-aldolasi)</li> <li>4. Fosfoglutamasi</li> <li>5. Enolasi</li> <li>6. Lattico-deidrogenasi</li> <li>7. Deidrogenasi dell'estere di Robinson</li> </ol>	<p><b>Enzimi del ciclo di Krebs</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Fumarasi</li> <li>2. Succinico-deidrogenasi</li> </ol>
<p><b>Enzimi attivi sul metabolismo dei lipidi</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Lipasi</li> </ol>	<p><b>Enzimi ad azione diretta sul metabolismo ossidativo</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Catalasi</li> <li>2. Perossidasi</li> <li>3. Citocromo-ossidasi</li> <li>4. Citocromo C-reduttasi</li> <li>5. Ascorbato ossidasi</li> </ol>
<p><b>Enzimi attivi sul metabolismo delle proteine</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Aminopolipeptidasi</li> <li>2. Dipeptidasi</li> </ol>	<p><b>Enzimi attivi sul metabolismo del fosforo e dello zolfo</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Fosforilasi</li> <li>2. Fosfatasi</li> <li>3. Solfatasi</li> </ol>
<p><b>Enzimi attivi sul metabolismo degli amminoacidi</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Prolinasi</li> <li>2. Tirosinasi</li> <li>3. Ureasi</li> </ol>	<p><b>Altri enzimi diversamente attivi</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Aldeide mutasi</li> <li>2. Gliossalasi</li> <li>3. Carbossilasi</li> <li>4. Diaforasi</li> <li>5. Enzimi di Warburg</li> </ol>

Infine, il solfato di deuterio ( ${}^2\text{H}_2\text{SO}_4$  o  $\text{D}_2\text{SO}_4$ ) è un composto strutturalmente assimilabile all'acido solforico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), l'unica differenza consistendo nella presenza, appunto, del deuterio nel primo e del comune idrogeno nel secondo (Thomson, 1963) (figura 2.5). Tale differenza, che rende inutilizzabile ai fini alimentari il comune acido solforico, conferisce, invece, all'innocuo solfato di deuterio – presente in tracce in Cellfood® – singolari proprietà biologiche (Bianchi, 2010; Mariani, 2004) (vedi oltre).

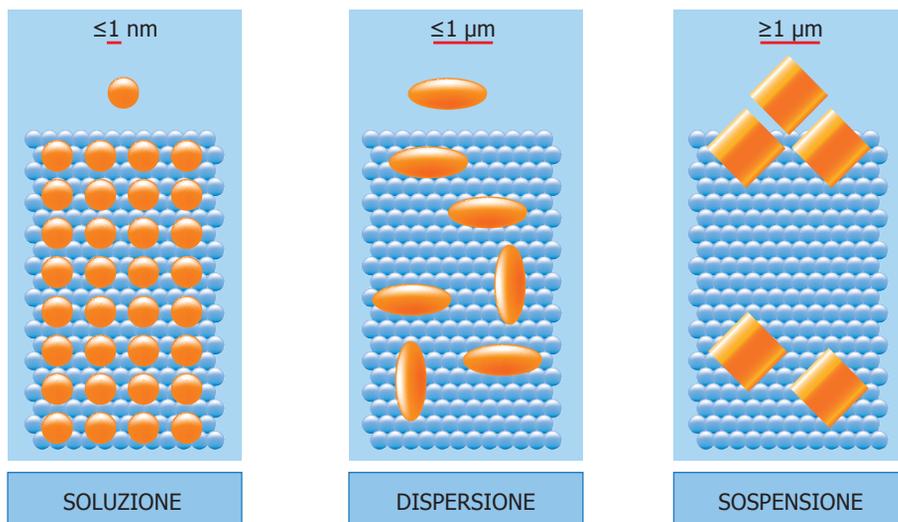


**Figura 2.5** – L'atomo di deuterio differisce da quello di idrogeno per il fatto di possedere nel nucleo un neutrone in più.

## 2.2 Cellfood®. Aspetti farmacocinetici

Le proprietà farmacocinetiche di Cellfood® dipendono in larga misura dalla natura colloidale della sua formulazione (Fairhurst, 1995). Un colloide è un particolare sistema chimico (micro)eterogeneo, che gode di proprietà intermedie tra quelle ascritte alle soluzioni e quelle attribuite alle sospensioni (Everett, 1988; Hunter, 1993) (figura 2.6).

Le soluzioni sono sistemi omogenei costituiti da un soluto (in forma di atomi, ioni, molecole, o radicali) finemente disciolto in un solvente, dei quali il secondo rappresenta, per definizione, la componente quantitativamente maggiore (Balestrieri, 1991). Affinché si possa parlare di soluzione, le dimensioni delle particelle di soluto non devono superare il limite di 1 nanometro (ossia la milionesima parte del metro) (Balestrieri, 1991). Le soluzioni, come quelle acquose che, già all'aspetto, si presentano perfettamente limpide, godono della costanza delle proprietà chimico-fisiche (es. temperatura di ebollizione, punto di congelamento, tensione di vapore, pressione osmotica) in tutte le parti di cui sono costituite (Balestrieri, 1991). Per esempio, se sciogliamo del cloruro di sodio in acqua in quantità tale da non determinare la formazione di precipitati e preleviamo un campione della soluzione risultante dal fondo o dal centro o dalla superficie del recipiente che la contiene, potremo verificare facilmente che tutti i campioni presi in considerazione congeleranno, per esempio, alla stessa temperatura (Balestrieri, 1991).



**Figura 2.6** – A differenza delle soluzioni, che sono sistemi omogenei, i colloidali appartengono alle dispersioni, ossia sistemi eterogenei costituiti da particelle di dimensioni comprese tra 1 nanometro e 1 micron disperse in una fase continua, generalmente, ma non esclusivamente, acquosa. Dimensioni superiori a 1 micron sono tipiche delle sospensioni.

Le dispersioni colloidali, invece, che si presentano generalmente torbide di aspetto, sono sistemi eterogenei, costituiti da due fasi ben distinte: una fase dispersa (equivalente al soluto delle soluzioni) e una fase disperdente o continua (equivalente al solvente delle soluzioni) (Everett, 1988). Al contrario delle soluzioni, però, le dimensioni delle particelle della fase dispersa sono comprese tra 1 nanometro e 1 micron (milionesima parte del metro). Per tale motivo i colloidali non esibiscono la costanza delle loro proprietà fisico-chimiche, ma mostrano un comportamento *sui generis*, quale, ad esempio, il cosiddetto fenomeno Tyndall (Hunter, 1993). In pratica, a causa delle dimensioni apprezzabili della fase dispersa, essi sono in grado di diffondere un raggio di luce che li attraversa e il cui percorso potrà, quindi, essere visibile lateralmente; per questo motivo, per esempio, il latte appare torbido e biancastro. Le soluzioni acquose, invece, a causa delle dimensioni estremamente piccole delle particelle di soluto di cui sono costituite, non riescono a diffondere la luce il cui percorso, quindi, non può essere identificato.

Esistono diversi tipi di colloidali, a seconda dello stato fisico (solido, liquido o aeriforme) della fase dispersa e della fase continua (aerosol, schiume, emulsioni, sol, gel, sospensioni ecc.) (Everett, 1988; Hunter, 1993).

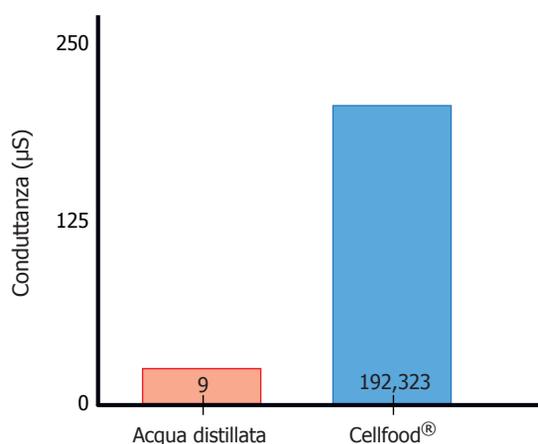
Molto utile è la distinzione, per le proprietà biologiche che possono derivarne, tra colloidali liofili e colloidali liofili. I primi (es. quelli a base di oro o di argento) sono caratterizzati da una scarsa affinità tra la fase dispersa e quella disperdente, per cui risultano instabili e tendono a dar luogo a una separazione di fase nel tempo. I secondi, invece, mostrano un'elevata affinità tra le loro fasi, per cui sono assimilabili a dei sistemi omogenei; in particolare, messi in soluzione si rivestono di uno strato di molecole di solvente (solvatazione) e diventano così praticamente solubili (Everett, 1988; Hunter, 1993).

Nei sistemi colloidali entrano in gioco diverse forze, quali interazioni elettrostatiche, forze entropiche e tensione superficiale, che sono responsabili di peculiari proprietà fisico-chimiche di rilevante interesse biologico, quali la precipitazione, l'osmosi, la catalisi eterogenea e la tensioattività (Tan et al., 2011; Wen et al., 2010; Nakanishi et al., 2011; Krajewski et al., 1998; Stefanescu et al., 1958).

Cellfood® è a tutti gli effetti un sistema colloidale, la cui fase continua o disperdente è di natura acquosa e la cui fase dispersa, corrispondente ai suoi numerosi principi attivi (minerali, amminoacidi, enzimi e solfato di deuterio), è costituita da particelle di dimensioni oscillanti tra 1 nm e 200 nm (70).

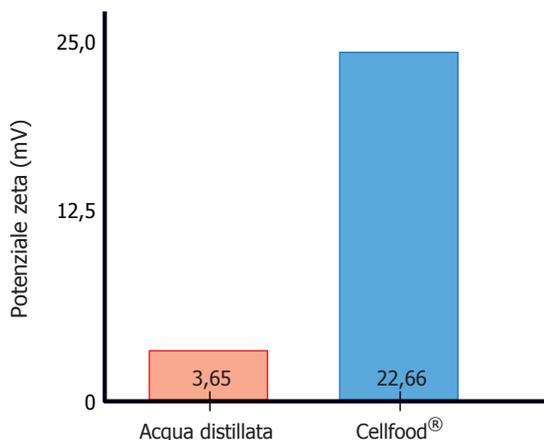
La natura colloidale e "elettrolitica" di Cellfood® è dimostrata da una serie di test eseguiti *in vitro*, la cui corretta interpretazione aiuta a comprendere le ragioni dell'alta biodisponibilità ipotizzata per la formulazione sulla base dei favorevoli riscontri clinici (58, 60).

Anzitutto, rispetto a un campione di acqua distillata, Cellfood® esibisce, come tale, un valore significativamente più elevato di conduttanza, quantificabile in 192,323  $\mu\text{S}$  vs 9  $\mu\text{S}$  (figura 2.7).



**Figura 2.7** – Cellfood® esibisce un valore significativamente più elevato di conduttanza rispetto all'acqua distillata.

La conduttanza (che si misura in unità siemens, S) esprime quantitativamente l'attitudine di un conduttore a essere percorso da una corrente elettrica. In pratica, Cellfood® si comporta come un conduttore di seconda classe, ossia, inserito in un circuito consente l'attraversamento di una corrente elettrica alla stregua di un filo di rame (sebbene con minore efficienza, rispetto a questo conduttore di prima classe). Il riscontro di valori elevati di conduttanza fornisce l'evidenza oggettiva che Cellfood® effettivamente contiene in dispersione numerosi elettroliti e, dunque, ioni, cioè particelle cariche elettricamente (nella fattispecie oligoelementi, amminoacidi e proteine).



**Figura 2.8** – Cellfood® esibisce un valore significativamente più elevato di potenziale zeta rispetto all'acqua distillata.

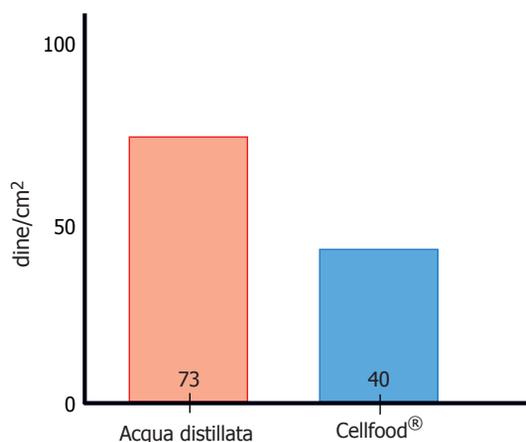
Inoltre, sempre rispetto a un campione di acqua distillata, Cellfood® esibisce un valore significativamente più elevato di potenziale "zeta", calcolato in 22,66 mV vs 3,65 mV (figura 2.8).

Il potenziale zeta (che si misura in volt, V) ovvero il potenziale generato in seguito alla formazione di un doppio strato elettrico, è responsabile dei fenomeni elettrocinetici tipici dei colloidi. Se elevato, garantisce una maggiore stabilità del sistema, in quanto si associa a intensi fenomeni di repulsione elettrostatica che impediscono l'aggregazione delle particelle disperse. Viceversa, quando è basso, si correla con la prevalenza delle forze attrattive su quelle repulsive, con aumento delle probabilità che si verifichino processi indesiderati, quali la coagulazione e la flocculazione.

Pertanto, gli alti valori di potenziale zeta consentono a Cellfood® di generare sistemi nei quali le particelle tendono a respingersi, ovvero a disporsi tra loro a distanza corrispondentemente elevata, più o meno ampiamente disperse e, dunque, nelle condizioni ottimali per sottostare a importanti fenomeni biologici, quali la digestione e l'assorbimento. Viceversa, una tendenza all'aggregazione renderebbe i principi attivi della formulazione – così come qualsiasi nutriente – più compatti e, quindi, difficilmente aggredibili dagli enzimi intestinali, in altri termini, meno assimilabili e meno biodisponibili.

Perfettamente in linea con queste considerazioni sono quelle che scaturiscono dall'analisi della tensione superficiale. Infatti, è stato dimostrato che Cellfood®, aggiunto ad acqua distillata, ne abbassa in maniera statisticamente significativa la tensione superficiale: da 73 dine/cm<sup>2</sup> a 40 dine/cm<sup>2</sup> (figura 2.9) (Storey, 1982; Dyer, 2010).

La tensione superficiale fornisce – in prima approssimazione – informazioni sulla forza che agisce all'interfacie tra due fluidi non miscibili tra loro. Quanto più essa è elevata tanto più le particelle di un fluido disperso in un altro fluido non miscibile tendono a conglomerare e a esporre la minima superficie possibile, tendendo idealmente ad assumere una forma sferoidale. Per questo motivo, per esempio, l'olio aggiunto all'acqua tende ad aggregarsi in goccioline più o meno sferiche. Le sostanze batotone, ovvero



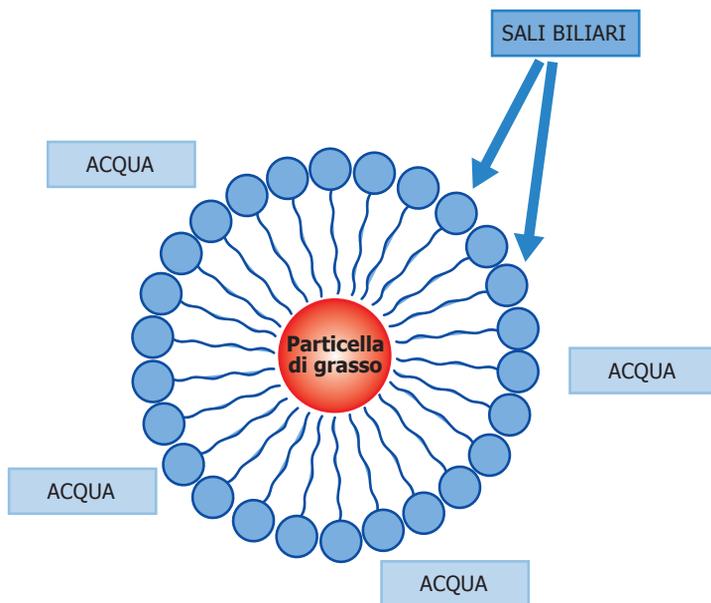
**Figura 2.9** – Cellfood® abbassa significativamente i valori della tensione superficiale dell'acqua in cui viene disciolto.

quegli agenti che, come i detersivi in genere e i sali biliari in particolare, abbassano la tensione superficiale di una soluzione e, dunque, schermano le forze che agiscono all'interfacie di due fluidi non miscibili, inducono una dispersione delle particelle. Ciò è particolarmente utile, per esempio, nei processi digestivi e di assorbimento che avvengono a livello dell'intestino tenue. Qui, infatti, i sali biliari interagiscono con le goccioline di grassi ingerite con i pasti e le trasformano in minuscole particelle (micelle), più facilmente aggredibili e digeribili dagli enzimi lipolitici e, quindi, più agevolmente assorbibili (Basiglio et al., 2010) (figura 2.10a p. sg.).

Cellfood®, dunque, concettualmente in armonia con gli elevati valori del potenziale zeta, abbassando anche la tensione superficiale, tende a disperdersi al massimo nella soluzione alla quale è aggiunto, consentendo ai suoi singoli principi attivi di non agglomerarsi e di non precipitare, due eventi assolutamente indesiderati ai fini dell'assorbimento e dell'assimilazione di qualsiasi nutriente (Iorio, 2003; Fairhurst, 1995).

Sulla base di queste misure fisiche si può dedurre che Cellfood®, grazie alla sua natura altamente liofila, può interagire favorevolmente con i fluidi corporei con cui, una volta assunto, entra in contatto, quali le secrezioni mucose, il sangue, la linfa e la matrice extracellulare, anch'essi tutti colloidali, con ciò creando i presupposti per un'ottimale biodisponibilità dei suoi principi attivi.

È da segnalare, per inciso, che rispetto ai comuni integratori assunti per bocca, Cellfood® è disponibile anche in alcune versioni ad assorbimento sublinguale (gocce) o introrale (spray) che ne ottimizzano le già favorevoli proprietà farmacocinetiche, garantendo (attraverso il passaggio diretto nella vena cava e, quindi, nella circolazione sistemica, senza transitare per il fegato) un pronto assorbimento e un rapido raggiungimento del picco plasmatico.



**Figura 2.10** – Il processo di solubilizzazione dei grassi mediante micellazione operata a livello intestinale dai sali biliari. Per la loro natura anfipatica (testa polare e coda apolare) i sali biliari si interpongono tra le particelle di grasso e i succhi intestinali, in fase acquosa, schermandone le interazioni. L'abbassamento della tensione superficiale consente alle goccioline di grasso di frammentarsi in minuscole micelle, facilmente digeribili.

### 2.3 Cellfood®. Meccanismo d'azione

Cellfood®, registrato in Italia come un integratore alimentare (Ministero della Salute n. 19595) non è soggetto, per definizione, all'obbligo di documentare il suo fine meccanismo d'azione o la sua efficacia biologica alla stregua di un farmaco. Tuttavia, i benefici effetti costantemente riportati dalle migliaia di persone che lo hanno usato, e continuano ancora a usarlo da anni, hanno acceso la curiosità di Giorgio Terziani – distributore in esclusiva del prodotto nel nostro paese – e, quindi, il desiderio di approfondirne alcuni aspetti molecolari attraverso la promozione e il sostegno di studi *ad hoc* presso prestigiose istituzioni accademiche.

Ne è nata un'ipotesi di lavoro che, dopo dieci anni di ricerca, è oggi in grado di fornire una chiave interpretativa abbastanza esauriente alla capacità della formulazione – unica rispetto a qualsiasi altro intervento "nutraceutico" – di aumentare la biodisponibilità di ossigeno senza far correre, a chi la assume, il rischio di stress ossidativo ("paradosso Cellfood®") (lorio, 2006a).

Le attuali conoscenze del meccanismo d'azione di Cellfood® derivano, dunque, da studi originali eseguiti in massima parte in Italia attraverso sperimentazioni *in vitro* e *in vivo* su colture cellulari, modelli animali e, in parte, sull'uomo.

Infatti, studi *in vitro* indicano che Cellfood® aumenta i livelli di ossigeno disciolto in acqua (Deutrel Industries/NuScience Corp., 1999) ma, nel contempo, esibisce elevate

capacità antiossidanti (Iorio, Bianchi et al., 2006; Benedetti et al., 2011); inoltre, in colture di cellule endoteliali umane, è in grado di aumentare il consumo di ossigeno e, quindi, la sintesi di ATP, senza incrementare né la produzione di lattato né i livelli di radicali liberi (Ferrero et al., 2011). D'altro canto, in vivo, trial clinici, quantunque preliminari, evidenziano che Cellfood® esibisce favorevoli effetti sulle performance cardiorespiratorie negli sportivi, in particolare nei maratoneti (Van Heerden et al., 2001) e nei ciclisti (Milic' e Djordjevic', 2008), nonché nei pazienti asmatici (Iorio, 2006b), tutti a elevato rischio di stress ossidativo, inducendo effetti che si spiegano con un aumento della biodisponibilità di ossigeno; in maniera apparentemente paradossale, tuttavia, in queste e altre condizioni legate a squilibri del bilancio redox, quali il tabagismo e l'obesità, la formulazione è in grado di abbassare la produzione di radicali liberi (Coyle, 2004); altrettanto interessanti, infine, i benefici effetti di Cellfood® nella fibromialgia (Nieddu et al., 2007), una patologia chiaramente correlata allo stress ossidativo.

Si rimanda ai capitoli 3 e 4 per i dettagli.

L'insieme di queste evidenze suggerisce che Cellfood® appare, in senso "farmacodinamico", il prototipo di una serie di "integratori" che, forse, in maniera più appropriata, andrebbero definiti "modulatori fisiologici" (Cornelli, 2009; Olson, 1996). Tra i maggiormente studiati, quelli attivi sul metabolismo ossido-riduttivo meritano una particolare attenzione, anche alla luce del ruolo cruciale che ha il corretto trasferimento di equivalenti all'interno e all'esterno della cellula per l'economia dell'intero organismo. Infatti, la rottura dell'equilibrio tra la produzione e l'eliminazione, da parte dei sistemi di difesa antiossidante, delle cosiddette specie reattive dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS) può favorire la comparsa dello stress ossidativo (SO), un fattore emergente di rischio per la salute associato non solo all'invecchiamento precoce, ma anche a una serie lunghissima di patologie, compresa quella neoplastica (Favier, 2006; Iorio, 2004b).

Al contrario degli altri modulatori fisiologici attivi sul metabolismo ossido-riduttivo, orientati primariamente a contrastare la generazione e la propagazione delle reazioni radicaliche nei sistemi viventi, Cellfood® si propone di controllare a monte i meccanismi che presiedono allo stress ossidativo modulando *on demand*, ossia in rapporto alle diverse esigenze cellulari, la biodisponibilità di ossigeno, dal quale originano le ROS, aumentandone i livelli in caso di ipossia e contrastando gli effetti indesiderati delle ROS in caso di iperossia, sì da concorrere efficacemente alla normalizzazione del bilancio ossidativo che è alla base di tutte le funzioni cellulari (Iorio, 2006a).

Trova, quindi, sul piano sperimentale, sostanziale conferma l'ipotesi sul meccanismo d'azione fin dall'inizio postulata per Cellfood® (Iorio, 2006a).

In tale contesto, non bisogna dimenticare, accanto alla favorevole azione esercitata nei confronti delle cellule endoteliali, degli eritrociti e dei linfociti, che Cellfood®, in virtù della sua natura colloidale, presenta una straordinaria affinità con i componenti strutturali della matrice extracellulare, la quale potrebbe in varia misura spiegare l'azione drenante e disintossicante attribuita alla formulazione.

Comunque, se questi ultimi dieci anni di ricerca hanno consentito di comprendere a livello biochimico e cellulare gli aspetti salienti del meccanismo d'azione di Cellfood®, non è ancora possibile, allo stato attuale delle conoscenze, stabilire a livello chimico in che modo agisce la formulazione. Ciò non deve stupire, dato il fatto che Cellfood® non è un preparato farmacologico e, come tale, non richiede tale tipo di evidenza.

Certamente, l'aumentato livello di ossigeno molecolare disciolto che si ottiene aggiungendo Cellfood® all'acqua distillata suggerisce che la formulazione è in grado di produrre ossigeno *ex novo*, probabilmente a partire dalle stesse molecole d'acqua, visto che nel sistema testato è questa l'unica sostanza presente. Se ciò è documentabile *in vitro*, non vi sono ragionevoli motivi per ritenere che un analogo fenomeno non possa verificarsi anche *in vivo*. Appare tuttavia difficile spiegare dal punto di vista chimico in che modo Cellfood® induca un aumento dell'ossigeno molecolare disponibile.

Secondo il produttore, grazie a Cellfood® le molecole d'acqua subirebbero una sorta di "scissione omolitica" con generazione di specie reattive tra cui ossigeno allo stato atomico che, infine, si trasformerebbe in ossigeno molecolare. Resta da spiegare, però, da quale fonte di energia la reazione radicalica sarebbe avviata e poi sostenuta. Alternativamente, si dovrebbe ipotizzare una qualche azione catalitica che, per definizione, abbasserebbe l'energia di attivazione consentendo comunque lo svolgimento del processo chimico. E siccome Cellfood® contiene diversi enzimi ad azione ossido-reduttasica, non si può escludere che questi possano dare origine a ossigeno nascente e poi molecolare. La generazione di specie ossidanti, comunque, potrebbe anche spiegare la documentata attività microbica che la formulazione esibisce, in soluzione, nei confronti di ceppi di *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* (figura 2.11) (NuScience Corp., 2001).

Infatti, Cellfood®, a 15 minuti, è in grado di inibire fino al 52,5%, all'83,5% e al 91,5%, rispettivamente, lo sviluppo di colonie di *Escherichia coli* (ceppo ATCC 8739), di *Pseudomonas aeruginosa* (ceppo ATCC 9027) e di *Staphylococcus aureus* (ceppo ATCC 6538), considerati tra i più patogeni per l'uomo, specialmente in condizioni debilitanti.

Una delle ipotesi più affascinanti, tuttavia, è che il solfato di deuterio – in virtù del cosiddetto *effetto isotopico o massa*, che lo rende completamente diverso dall'omologo acido solforico – venga incorporato in molecole organiche rendendole così resistenti all'attacco dei radicali liberi ossidanti. Infatti, è facilmente intuibile che una reazione di ossidazione per deidrogenazione avverrebbe con molta difficoltà se il substrato ossidabile presentasse al posto dell'idrogeno, che ha massa atomica 1, il deuterio che ha massa esattamente doppia. Infatti, studi condotti su vermi alimentati con proteine deuterate hanno mostrato, rispetto ai controlli, un aumento medio della sopravvivenza di circa

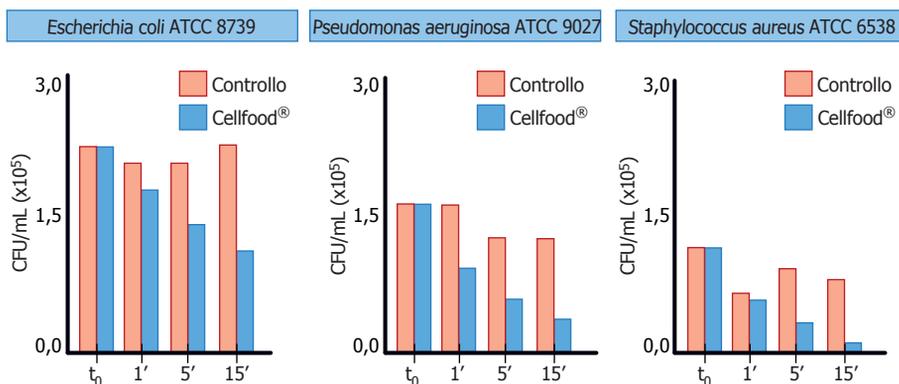


Figura 2.11 – Cellfood® esibisce *in vitro* potente attività microbica.

il 20%, a riprova della possibilità di controllare uno dei processi, quello radicalico, che è all'origine della senescenza cellulare. Per ottenere questo effetto sull'uomo, tuttavia, sarebbero necessarie quantità di deuterio molto superiori a quelle presenti, solo in tracce, nella formulazione di Cellfood®.

In attesa che ulteriori ricerche gettino luce sul fine meccanismo d'azione di Cellfood®, occorre ricordare che esso è costituito da una miscela complessa a base di differenti principi attivi, oltre al solfato di deuterio in tracce, quali amminoacidi, enzimi e oligoelementi, tratti da *Lithothamnium calcareum*, che già di per sé possiede peculiari attività biologiche di modulazione fisiologica. Infatti, si è visto che la somministrazione di un estratto di *Lithothamnium calcareum* a ratti esposti a tetracloruro di carbonio (CCl<sub>4</sub>) si è accompagnata a 5 settimane, rispetto ai controlli, a un significativo abbassamento della produzione di ROS, della perossidazione lipidica e dell'induzione del citocromo CYP2E1, con un sensibile aumento dell'attività antiossidante, in particolar modo catalasica, e dei livelli di glutazione (Hong et al., 2011).

In conclusione, Cellfood® è un modulatore fisiologico in grado di apportare preziosi micronutrienti (integrazione nutrizionale) e rendere disponibile ossigeno in funzione delle necessità metaboliche (*on demand*), contrastando, nel contempo, l'acidosi e un'eccessiva produzione di radicali liberi (azione antiossidante), come si osserva nelle sindromi ischemico-riperfusiva (figura 2.12 (lorio, 2006a)).

Migliorando la funzione endoteliale e purificando la matrice extracellulare (azione disintossicante), inoltre, favorisce gli scambi metabolici e la "comunicazione" tra le cellule, onde l'ottimizzazione della funzione endocrina e la stimolazione del sistema immunitario, con rapida percezione di una piacevole e duratura sensazione di benessere e di energia, di cui si avvantaggia specialmente chi svolge attività fisica.

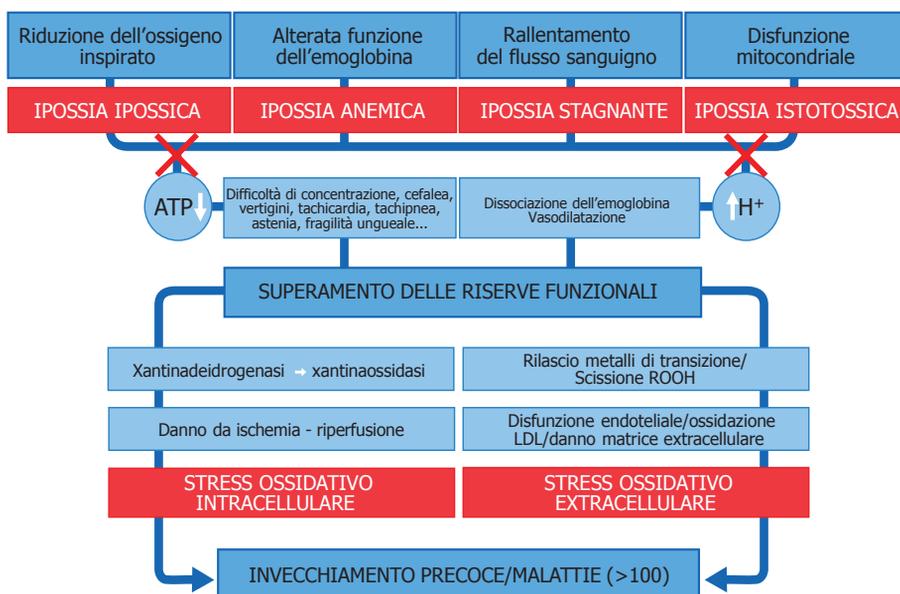


Figura 2.12 – Meccanismo d'azione attualmente proposto per Cellfood®.

## 2.4 Cellfood®. Impiego clinico

Cellfood® è un integratore alimentare naturale notificato e registrato presso il Ministero della Salute. Non essendo un farmaco, esso non possiede "indicazioni" nel senso stretto del termine né può sostituirsi ad alcun trattamento medico.

Cellfood® è suggerito come coadiuvante, nel contesto di uno stile di vita salutare, in tutte le situazioni di carenza nutrizionale (da stress psicofisico, diete squilibrate ecc.), nei disturbi legati a un'ossigenazione insufficiente dei tessuti (es. cefalea, difficoltà di concentrazione, astenia ecc.), nei casi di aumentata produzione di radicali liberi e/o carenza di antiossidanti (da malattie infiammatorie, degenerative, metaboliche o terapie mediche, es. pillola, associate a stress ossidativo), nelle sindromi ischemico-riperfusiva e nella disfunzione endoteliale (da patologie cardiovascolari), nei deficit immunitari, nelle intossicazioni croniche (es. da alcol o farmaci), nella sindrome da ipersensibilità chimica multipla, nella fibromialgia e nelle intolleranze/allergie alimentari (lorio, 2007; Di Fede e Terziani, 2009). Esso, infine, può essere utile nella prevenzione dell'invecchiamento precoce (specialmente nel contesto di protocolli di disintossicazione, drenaggio, depurazione), nella terapia chelante (Fulgenzi et al., 2012) e nel supporto nutrizionale dell'attività sportiva, amatoriale o agonistica (lorio, 2007; Di Fede e Terziani, 2009).

## 2.5 Cellfood®. Posologia e modalità d'uso

Cellfood® gocce è dispensato al pubblico in flacone da 30 mL, sufficiente per circa 30 dosi giornaliere alla posologia. Negli adulti Cellfood® va assunto seguendo un protocollo crescente scalare che parte da 1 goccia fino a raggiungere 8 gocce, 3 volte al giorno, per una dose quotidiana, quindi che varia da 3 fino al massimo di 24 gocce. Il passaggio al dosaggio immediatamente superiore deve avvenire gradualmente, a giorni alterni, senza soluzione di continuo (figura 2.13).

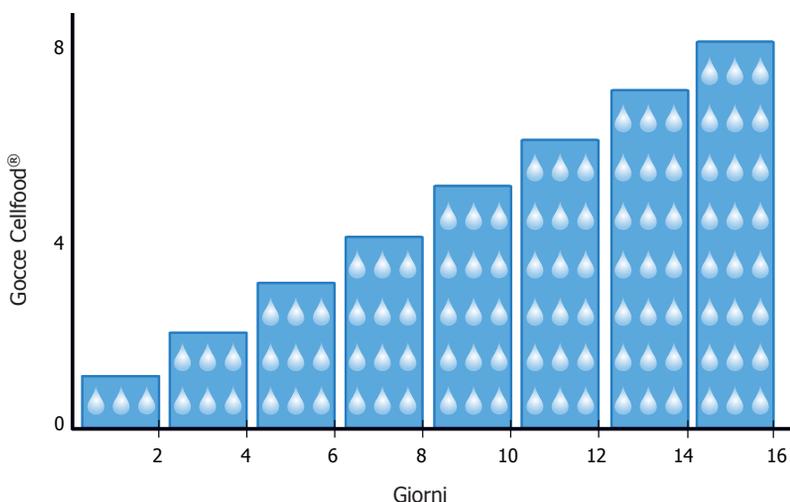


Figura 2.13 – Rappresentazione schematica del protocollo standard di assunzione di Cellfood®.

La stessa precauzione vale in caso di sospensione del trattamento, ma in senso opposto. Infatti, non è consigliabile procedere a una brusca interruzione del protocollo scalare indicato.

Nei bambini si suggerisce di somministrare Cellfood® alla dose di 1 goccia/anno d'età, fino a un massimo di 12 gocce al giorno.

Si suggerisce di assumere Cellfood® almeno 10-20 minuti prima dei tre pasti principali. Il prodotto, tuttavia, può essere assunto anche lontano da questi, ogniqualvolta ci si sente astenici o stressati. Immediatamente dopo un pasto copioso, Cellfood®, invece, se assunto al dosaggio di 20 gocce, per la sua ricca componente enzimatica favorisce i processi digestivi.

Dopo aver agitato il flacone immediatamente prima dell'uso, si suggerisce di depositare le gocce di Cellfood® sul fondo di un bicchiere di vetro e di riempirlo d'acqua, attendere qualche secondo e quindi bere, magari sorseggiando e trattenendo un po' il liquido nel cavo orale prima di deglutire.

La scelta dell'acqua è assolutamente determinante. Per potenziare gli effetti di Cellfood® occorre che l'acqua sia oligominerale ed esibisca un basso residuo fisso (<50-100 mg/L a 180 °C), un basso grado di durezza e un pH neutro o lievemente acido (superiore a 6,5). Diverse acque minerali in commercio possiedono queste caratteristiche.

L'uso dell'acqua di rubinetto va assolutamente evitato perché questa, essendo ricca in ossidanti, specialmente a base di cloro, determina un abbassamento drammatico delle proprietà biologiche della formulazione (in pratica tutto il potenziale antiossidante di Cellfood® viene impegnato per "purificare" l'acqua dagli ossidanti e non è più disponibile per chi l'assume).

Grazie alla sua formulazione in gocce che, rispetto a quella in polvere o in capsule o in compresse della stragrande maggioranza degli integratori, garantisce una migliore biodisponibilità dei principi attivi, Cellfood® può essere adattato posologicamente alle più diverse esigenze di chi l'assume, per un trattamento personalizzato. Specifici protocolli, poi, sono stati elaborati per coloro che soffrono di fibromialgia, o altre condizioni morbose. In queste e particolari altre situazioni, poi, come ad esempio nello sport, Cellfood® può essere associato a una o più formulazioni della sua linea, sia sistemiche (MSM spray, SAME gocce, Silica gocce, Multivitamine spray, Vitamina C spray, Diet Switch gocce) che topica (Oxygen gel), che soddisfano pienamente le linee guida dell'Osservatorio Internazionale dello Stress Ossidativo per la gestione dello stress ossidativo nella pratica clinica (Iorio, Cinquanta et al., 2006). Esse, sia per l'apporto delle innumerevoli e preziose sostanze – ormai difficili da ritrovare nell'alimentazione di tutti i giorni – sia per la qualità ampiamente garantita dei suoi singoli componenti, forniscono una soluzione altamente innovativa per una corretta e sana integrazione alimentare quotidiana.

Occorre precisare, tuttavia, che le formulazioni specialistiche della linea Cellfood® contengono la quantità di prodotto necessaria ad aumentarne la biodisponibilità e a integrarle con nutrienti essenziali in traccia. Esse, pertanto, non rappresentano un'alternativa all'assunzione quotidiana del concentrato Cellfood® gocce originale.

## 2.6 Cellfood®. Precauzioni per l'uso, effetti collaterali e indesiderati e controindicazioni

Tenere il prodotto lontano dalla portata dei bambini. È buona norma richiudere adeguatamente il flacone dopo l'uso onde ridurre il rischio di evaporazione e, quindi, di concentrazione del prodotto. In caso di contatto accidentale con gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua. Poiché Cellfood® contiene enzimi idrolitici, si suggerisce di evitare il contatto diretto del prodotto con materiali organici, naturali (es. lana, seta) o di sintesi (es. similpelle, formica). Non disperdere nell'ambiente il flacone dopo l'uso.

Il produttore garantisce che tutti i componenti di Deutrosulfazyme® sono ottenuti mediante estrazione non chimica di principi attivi contenuti esclusivamente in fonti naturali non contaminate.

Cellfood® non presenta alcuna controindicazione, né relativa né assoluta. In particolare, non contiene né glutine né lieviti né sostanze dopanti, e può essere assunto, come integratore, anche in corso di trattamenti farmacologici specifici.

Inoltre, come si è ampiamente discusso nelle pagine precedenti, la natura colloidale e le singolari proprietà chimico-fisiche rendono Cellfood® un prodotto ideale nella detossificazione. Tale processo, nei soggetti più sensibili che assumono il prodotto per la prima volta, può accompagnarsi a cefalea, meteorismo addominale o stipsi. Tali disturbi, peraltro lievi e transitori, non devono allarmare poiché sono la manifestazione evidente della risposta positiva dell'organismo al trattamento e vanno gestiti aumentando l'assunzione giornaliera di acqua. In caso di persistenza o accentuazione di tale sintomatologia, si suggerisce di ridurre il dosaggio, "calibrandolo" alle esigenze del proprio organismo.

## 2.7 Cellfood®. Aspetti tossicologici

Pur non essendo un farmaco, Cellfood® è stato sottoposto a rigorosi studi di tossicità. Studi *in vivo* sono stati intrapresi allo scopo di valutare la tossicità acuta di Cellfood® per os in termini di DL<sub>50</sub> (dose minima di prodotto in grado di indurre la morte del 50% della popolazione animale studiata). A tal fine, Cellfood® è stato somministrato a 10 ratti albinici (5 maschi e 5 femmine) Sprague-Dawley, in uno studio della durata di 14 giorni. Al termine della valutazione, incrementando le dosi fino a 5000 mg/kg di peso corporeo, tutti gli animali sono sopravvissuti, presentandosi all'osservazione in buone condizioni di salute, anzi aumentati di peso (NuScience Corp., 2002). Non è stato, quindi, possibile determinare la DL<sub>50</sub> che, comunque, è da considerarsi superiore alla massima utilizzata nella sperimentazione. In altri termini, dosi fino a 5 g della formulazione per kg di peso corporeo (in pratica 400 grammi di prodotto per un uomo di 80 kg!) non sono risultate letali, indicando che Cellfood® è praticamente privo di tossicità acuta.

È da sottolineare che quasi nessuno degli integratori attualmente disponibili sul mercato è stato sottoposto a questo tipo di valutazione, che riteniamo, invece, indispensabile per una corretta informazione di coloro i quali decidono di assumere formulazioni che vantano sulla carta di essere assolutamente innocue.

## Bibliografia

- Aslam MN, Bhagavathula N, Paruchuri T, et al. (2009). Growth-inhibitory effects of a mineralized extract from the red marine algae, *Lithothamnion calcareum*, on Ca(2+)-sensitive and Ca(2+)-resistant human colon carcinoma cells, *Cancer Lett* 283 (2), 186-192.
- Aslam MN, Kreider JM, Paruchuri T, et al. (2010). A mineral-rich extract from the red marine algae *Lithothamnion calcareum* preserves bone structure and function in female mice on a Western-style diet, *Calcif Tissue Int* 86 (4), 313-324.
- Aslam MN, Paruchuri T, Bhagavathula N, et al. (2010). A mineral-rich red algae extract inhibits polyp formation and inflammation in the gastrointestinal tract of mice on a high-fat diet, *Integr Cancer Ther* 9 (1), 93-99.
- Balestrieri C (1991). Progetto Chimica, Ferraro, Napoli, pp. 156-158.
- Basiglio CL, Mottino AD, Roma MG (2010). Tauroursodeoxycholate counteracts hepatocellular lysis induced by tensioactive bile salts by preventing plasma membrane-micelle transition, *Chem Biol Interact* 188 (3), 386-392.
- Benedetti S, Catalani S, Palma F, et al. (2011). The antioxidant protection of Cellfood™ against oxidative damage in vitro, *Food and Chemical Toxicology* 49, 2292-2298.
- Bianchi I (2010). Il Deutrosulfazyme®. In: *La medicina mitocondriale*, Verona, Mos Maiorum, pp. 377-378.
- Cornelli U (2009). Antioxidant use in nutraceuticals, *Clin Dermatol* 27 (2), 175-194.
- Coyle M (2004). *Free radical clinical study by laboratory tests*, NuLife Science Corporation, Health products update, Massachusetts, USA.
- Deutrel Industries/NuScience Corp. (1999). *Analytical report 677-074,077: dissolved oxygen*.
- Di Fede G, Terziani G (2009). *Nutraceutica e nutrigenomica*, Milano, Tecniche Nuove.
- Dyer DS (2010). *Cellfood™. Vital cellular nutrition for the new millennium*, Feedback Books.
- Everett DH (1988). *Basic principles of colloid science*, London, Royal Society of Chemistry Publications.
- Fairhurst D (1995). Cellfood™ – A beneficial colloid? Report of an investigation into the colloidal nature of Cellfood™, *NuScience Corporation Report*.
- Favier A (2006). Oxidative stress in human diseases, *Ann Pharm Fr* 64 (6), 390-396.
- Ferrero E, Fulgenzi A, Belloni D, et al. (2011). Cellfood™ improves respiratory metabolism of endothelial cells and inhibits hypoxia-induced ROS generation, *J Physiol Pharmacol*, 62 (3), 287-293.
- Fulgenzi A, Zanella SG, Mariani MM, et al. (2012). A case of multiple sclerosis improvement following removal of heavy metal intoxication. Lessons learnt from Matteo's case, *Biometals*, doi: 10.1007/s10534-012-9537-7.
- Hong IH, Ji H, Hwa SY, et al. (2011). The protective effect of ENA Actimineral resource A on CCl4-induced liver injury in rats, *Mar Biotechnol (NY)* 13 (3), 462-473.
- Hunter RJ (1993). *Introduction to modern colloid science*, Oxford University Press.
- lorio EL (2003). Deutrosulfazyme® (Cellfood®). Overview clinico-farmacologica, *Proceedings International Conference Safety Evaluation of Complementary and Alternative Medicine*, Empoli, Oct 24-25, 2003.
- lorio EL (2004a). L'importanza dell'ossido nitrico. Una molecola strategica per i sistemi antiossidanti dell'organismo, Atti del Convegno "Energia dal cibo, dalla luce, dalla natura", Bologna, 11 settembre 2004.
- lorio EL (2004b). Oxidative stress and nutrition, *Proceedings VI Macedonian Nutrition Congress*, November 19-21, 2004, Thessaloniki (Greece) pp. 143-144.
- lorio EL (2006a). Hypoxia, free radicals and antioxidants. The "Deutrosulfazyme® paradox", *Hypoxia Medical J* 1-2, 32.

- lorio EL (2006b). *Potenziale utilità di Deutrosulfazyme® nel trattamento dell'asma*, data in file, La Spezia, Eurodream.
- lorio EL (2007). Bilancio ossidativo ed integrazione nutrizionale nelle patologie cronicodegenerative, *Atti del Terzo Congresso Internazionale Nutrizione e malattie cronicodegenerative*, 2-3 giugno 2007, Ponzano Veneto (TV), pp. 34-39.
- lorio EL, Bianchi L, Storti A (2006). Deutrosulfazyme®: un potente antiossidante, *La Medicina Estetica* 30 (1), 115-116.
- lorio EL, Cinquanta L, Pisano R (2006). A diagnostic algorithm to manage oxidative stress, *Australasian J Cosmet Surg* 2 (1), 26-30.
- Krajewski A, Piancastelli A, Malavolti R (1998). Albumin adhesion on ceramics and correlation with their Z-potential, *Biomaterials* 19 (7-9), 637-644.
- Mariani MM (2004). Deutrosulfazyme (Cellfood®): overview clinico-farmacologica ed effetti sul sistema muscolare, *Proceedings XIII International Congress on Sports Rehabilitation and Traumatology*, Milano, Isokinetic, 24 aprile 2004.
- Maughan BC (2001). The effects of sedimentation and light on recruitment and development of a temperate, subtidal, epifaunal community, *J Exp Mar Bio Ecol* 256 (1), 59-71.
- Milic' R, Djordjevic' S (2008). Cycling performance and Cellfood, *Proceedings 4th Annual Congress ECSS*, Oslo, June 24-37 (2008). 1270/PP-TT02.
- Nakanishi H, Walker DA, Bishop KJ, et al. (2011). Dynamic internal gradients control and direct electric currents within nanostructured materials, *Nat Nanotechnol* 6 (11), 740-746.
- Nieddu ME, Menza L, Baldi F, et al. (2007). Efficacy of Cellfood's therapy (Deutrosulfazyme) in fibromyalgia, *Reumatismo* 59 (4), 316-321.
- NuScience Corp. (2001). *Cellfood – a powerful destroyer of pathogens in drinking water*, reference n. 667-025.
- NuScience Corp. (2002). Acute oral toxicity of Cellfood™ in rats – limit test n. 12797.
- Olson JA. (1996). Benefits and liabilities of vitamin A and carotenoids, *J Nutr* 126, 1208S-1221S.
- Stefanescu D, Tuchel N, Avram L (1958). Superficial tension of electrolyte solutions and their specific conductivity, *Rum Med Rev* 2 (2), 93.
- Storey EL (1982). *Beyond Belief*, Feedback Books.
- Tan KY, Gautrot JE, Huck WT (2011). Formation of pickering emulsions using ion-specific responsive colloids, *Langmuir* 27 (4), 1251-1259.
- Thomson JF (1963). *Biological effects of deuterium*, New York, Pergamon Press, The Macmillan Company.
- Van Heerden J, De 'Ath K, Nolte H (2001). *Product Efficacy Report. The study on the effects of Cellfood™ on elite athletes*, Sport Institute, University of Pretoria (South Africa).
- Wen YH, Lin PC, Lee CY, et al. (2010). Reduced colloidal repulsion imparted by adsorbed polymer of particle dimensions, *J Colloid Interface Sci* 349 (1), 134-141.

# Cellfood®

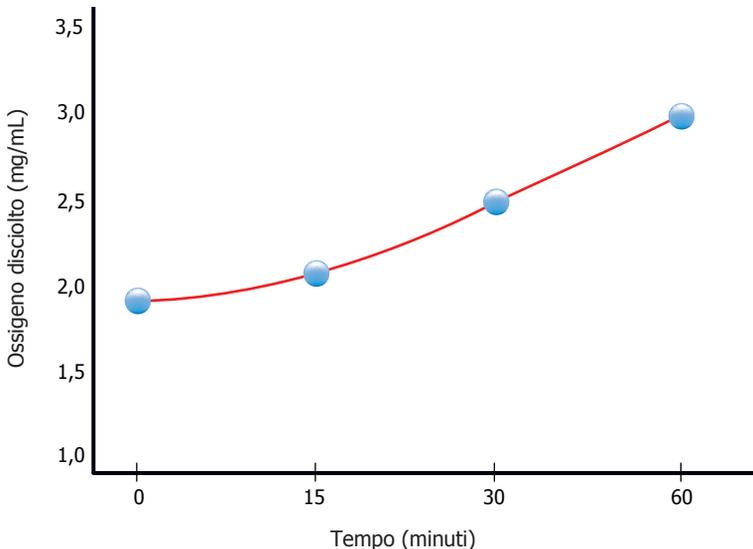
## La ricerca scientifica.

### I. Studi in vitro

*Serena Benedetti, Simona Catalani, Franco Canestrari,  
Eugenio Luigi Iorio, Francesco Palma*

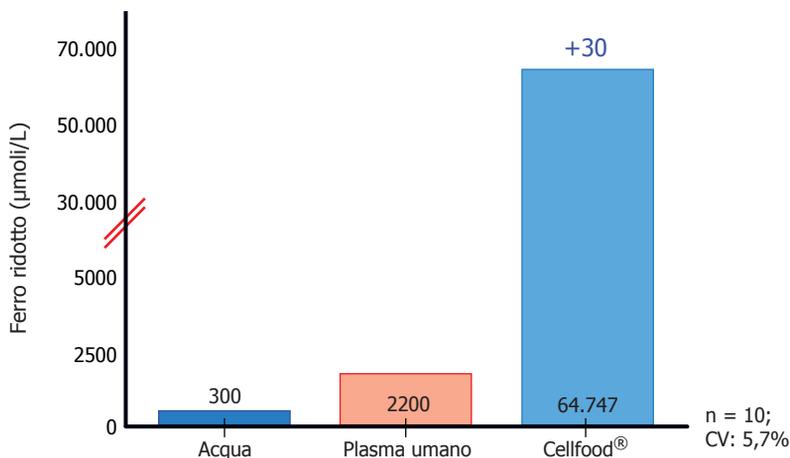
#### 3.1 Ricerche di base

Anzitutto, l'aggiunta di Cellfood® (8 gocce, pari al massimo suggerito della dose da assumere 3 volte al giorno) ad acqua distillata (200 mL) si accompagna, nel tempo, a un progressivo aumento della concentrazione di ossigeno molecolare (O<sub>2</sub>) (Deutrel Industries/NuScience Corp., 1999). Dopo un'ora dall'inizio dell'esperimento, la quantità di ossigeno disciolto in soluzione risulta aumentata, rispetto ai valori pre-test, del 58% (Deutrel Industries/NuScience Corp., 1999). Il fenomeno non si esaurisce, ma segue un regolare trend di crescita che raggiunge il suo picco massimo (80%) a 12 ore (figura 3.1).



**Figura 3.1** – Disciolto in acqua, Cellfood® aumenta progressivamente e significativamente i livelli di ossigeno in soluzione.

D'altro canto, in forma pura, Cellfood<sup>®</sup>, sottoposto al BAP test (*Biological Antioxidant Potential*, test del potenziale biologico antiossidante, Diacron International, Grosseto), esibisce una capacità di ridurre il ferro dalla sua forma ferrica a quella ferrosa – considerata un indicatore affidabile, appunto, della capacità antiossidante di una qualsiasi soluzione – oltre 30 volte più elevata rispetto quella considerata ottimale per il plasma umano (64.747 vs 2200  $\mu\text{mol/L}$  di ferro ridotto) (Iorio et al., 2006) (figura 3.2).



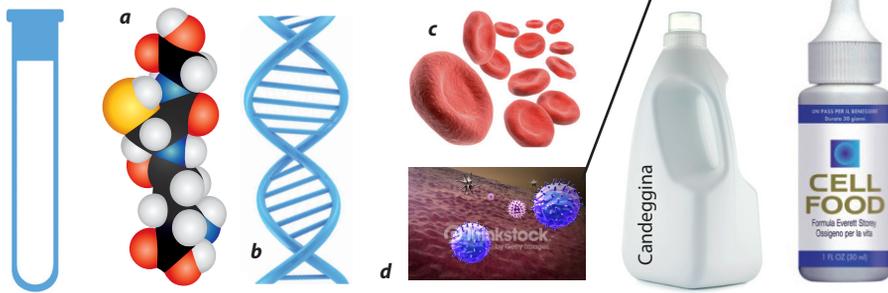
**Figura 3.2** – Cellfood<sup>®</sup> esibisce un potenziale biologico (misurato attraverso il BAP test) significativamente più elevato di quello considerato ottimale per il plasma umano.

Su queste basi è stato realizzato uno studio (Benedetti et al., 2011) con lo scopo preciso di verificare le proprietà antiossidanti di Cellfood<sup>®</sup>, in termini di capacità di inibire o prevenire l'ossidazione indotta su un sistema biologico – individuato in due molecole chiave, quali il glutatione e il DNA, e due tipi di cellule, quali eritrociti e linfociti – da parte di tre ossidanti "fisiologici" di varia potenza, quali: 1) i perossi radicali (responsabili in vivo dell'ossidazione dei lipidi di membrana o lipoperossidazione), generati chimicamente in vitro a partire dal 2,20-azobis(2-amidinopropano) (AAPH), 2) l'acido ipocloroso (prodotto in vivo nel corso del processo infiammatorio per azione della mieloperossidasi sul perossido di idrogeno, in presenza di cloruri) e 3) il perossido di idrogeno (generato in vivo dalla superossidodismutasi e responsabile della generazione del radicale idrossile in presenza di metalli di transizione) (figura 3.3).

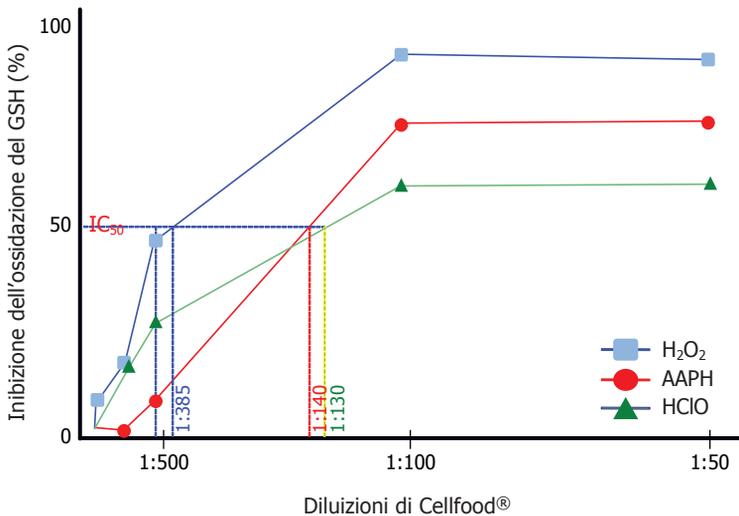
Nel primo set di esperimenti, su molecole target, Cellfood<sup>®</sup>, testato a differenti diluizioni (nel range deducibile dalla posologia normalmente impiegata), è risultato in grado di inibire in maniera dose-dipendente l'ossidazione del glutatione (GSH, 250  $\mu\text{mol/L}$ ), indotta da perossido di idrogeno (100  $\mu\text{mol/L}$ ), acido ipocloroso (125  $\mu\text{mol/L}$ ) e AAPH (10 mmol/L) (figura 3.4).

Sulla base del calcolo della concentrazione inibente al 50% ( $IC_{50}$ ), l'effetto protettivo di Cellfood<sup>®</sup> sul glutatione è massimo nei confronti del perossido di idrogeno ( $IC_{50}$  a diluizione 1:385) e, a seguire, dell'AAPH ( $IC_{50}$  a diluizione 1:140) e dell'acido ipocloroso ( $IC_{50}$  a diluizione 1:130).

dr Iorio, prego verificare la nuova immagine come da sue indicazioni, grazie



**Figura 3.3** – Il sistema sperimentale usato per verificare *in vitro* ed *ex vivo* la capacità antiossidante di Cellfood®. Molecole di vitale importanza, quali il glutatione (a) e il DNA (b), e cellule ematiche, quali eritrociti (c) e linfociti (d), bersagli *in vivo* dell'insulto radicalico, sono state sottoposte a ossidazione da parte di vari agenti, quali l'acido ipocloroso (derivante dall'ipoclorito di sodio). L'attività antiossidante di Cellfood® è stata valutata misurando la capacità della formulazione, a varie diluizioni, di inibire/prevenire l'ossidazione sperimentalmente indotta sui substrati target.

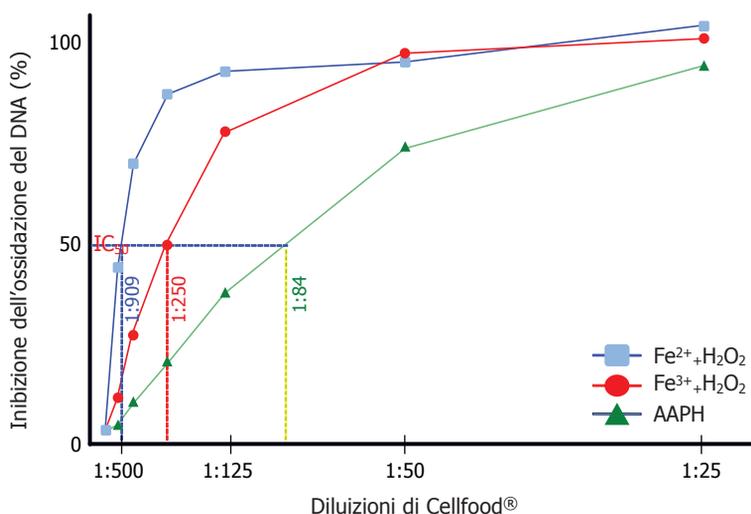


**Figura 3.4** – Cellfood®, testato a differenti diluizioni, è in grado di inibire in maniera dose-dipendente l'ossidazione del glutatione (GSH) indotta da perossido di idrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), acido ipocloroso (HClO) e 2,20-azobis(2-amidinopropano) (AAPH). (Modificata da: Benedetti et al., 2011)

Considerando che il glutatione, in quanto cofattore della glutationeperossidasi, è il più importante e rappresentato antiossidante intracellulare (la sua deplezione provoca stress ossidativo) e, in quanto cofattore della glutationetransferasi, gioca un ruolo rilevante nelle reazioni di detossificazione, la possibilità di preservarne l'integrità attraverso Cellfood® apre una strada finora inesplorata dalla nutraceutica. Infatti, le strategie finora impiegate, basate sulla somministrazione orale del tripeptide, non hanno conseguito alcun significativo successo, perché la natura stessa della sua molecola lo rende suscettibile all'idrolisi

gastrointestinale. Cellfood<sup>®</sup>, quindi, potrebbe rappresentare un'alternativa interessante alla somministrazione di GSH dall'esterno, in quanto potenzialmente in grado di mantenere integre le riserve naturali dell'antiossidante in questione.

Cellfood<sup>®</sup> inoltre, si è dimostrato in grado di prevenire in maniera dose-dipendente l'ossidazione di DNA plasmidico (0,025 mg/mL), che meglio mima dal punto di vista strutturale il DNA mitocondriale, indotta dal sistema perossido di idrogeno/ferro (generatore di radicali idrossili) e da AAPH (generatore di perossi radicali) (figura 3.5).

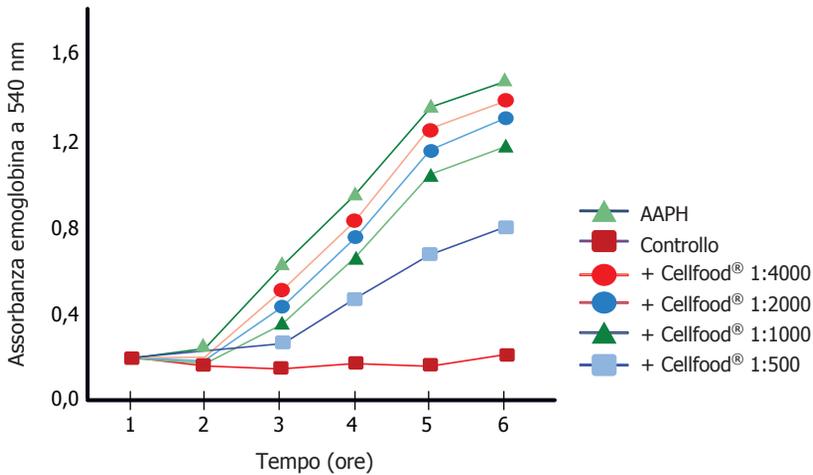


**Figura 3.5** – Cellfood<sup>®</sup>, testato a differenti diluizioni, è in grado di inibire in maniera dose-dipendente l'ossidazione del DNA plasmidico indotta dal radicale idrossile e dai perossi radicali. (Modificata da: Benedetti et al., 2011)

L'effetto protettivo di Cellfood<sup>®</sup> sul DNA è risultato massimo nei confronti del potentissimo e "fisiologico" ossidante acido ipocloroso: alla diluizione più elevata testata (IC<sub>50</sub> a diluizione 1:1250) il 100% del DNA risultava ancora integro. Risultati interessanti sono stati rilevati, comunque, sebbene a diluizioni più basse, anche nei confronti del sistema Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (IC<sub>50</sub> a diluizione 1:909), del sistema Fe<sup>3+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (IC<sub>50</sub> a diluizione 1:250) e dal 2,20-azobis(2-amidinopropano) (AAPH) (IC<sub>50</sub> a diluizione 1:84).

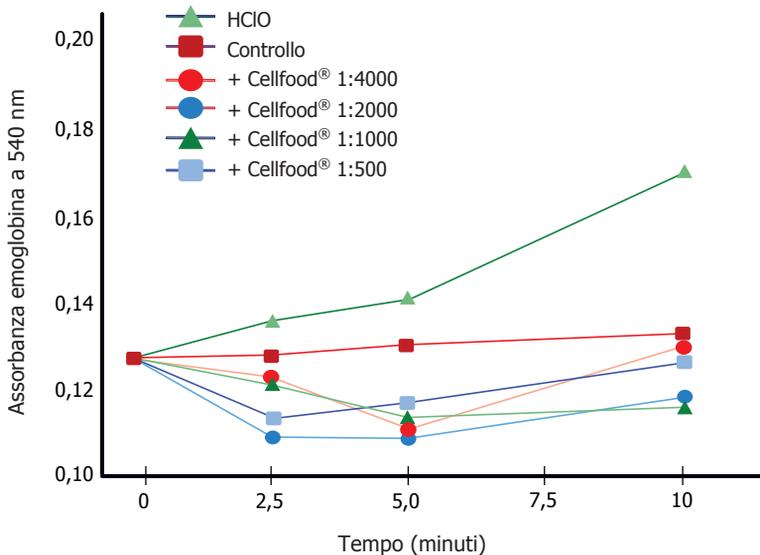
Se si considera che il DNA plasmidico è, come si è detto, strutturalmente simile al DNA mitocondriale, uno dei bersagli primari dello stress ossidativo, al quale si riconducono numerose patologie neuromuscolari a carattere degenerativo, questi dati aprono nuove prospettive nell'integrazione nutrizionale in un campo ove la farmacologia convenzionale è praticamente impotente.

Nel secondo set di esperimenti, su sistemi cellulari target, Cellfood<sup>®</sup> è risultato in grado di inibire a differenti diluizioni (1:4000-1:500) e in maniera dose-dipendente l'emolisi su base ossidativa indotta dal 2,20-azobis(2-amidinopropano) (AAPH) (figura 3.6).

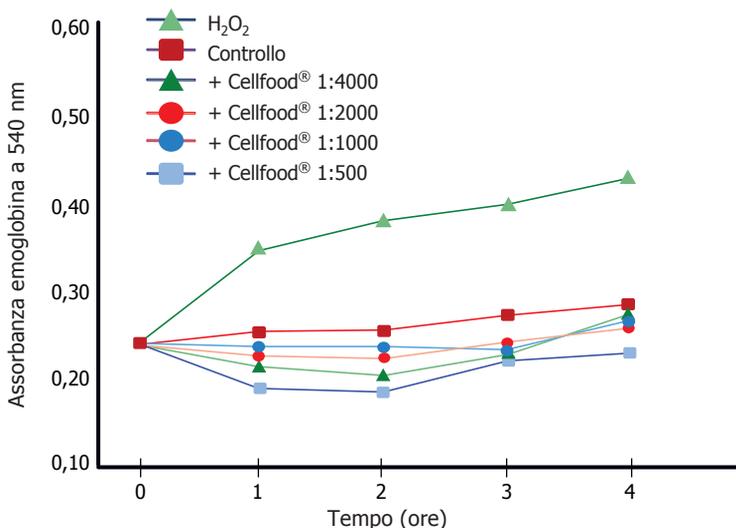


**Figura 3.6** – Cellfood® testato a differenti diluizioni, è in grado di inibire in maniera dose-dipendente l'emolisi su base ossidativa indotta dal 2,20-azobis(2-amidinopropano) (AAPH). (Modificata da: Benedetti et al., 2011)

Il massimo effetto protettivo, comunque, lo si è osservato con l'acido ipocloroso (*figura 3.7*) e il perossido di idrogeno (*figura 3.8*), la cui azione ossidante è stata completamente bloccata, a livelli addirittura superiori rispetto al controllo, al quale è apparsa associata un'emolisi più intensa.

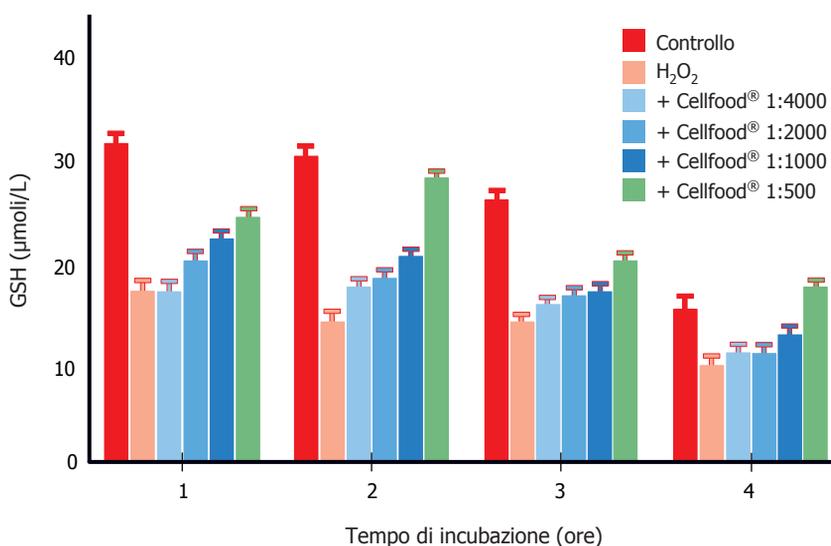


**Figura 3.7** – Cellfood® testato a differenti diluizioni, è in grado di inibire l'emolisi su base ossidativa indotta dall'acido ipocloroso. (Modificata da: Benedetti et al., 2011)

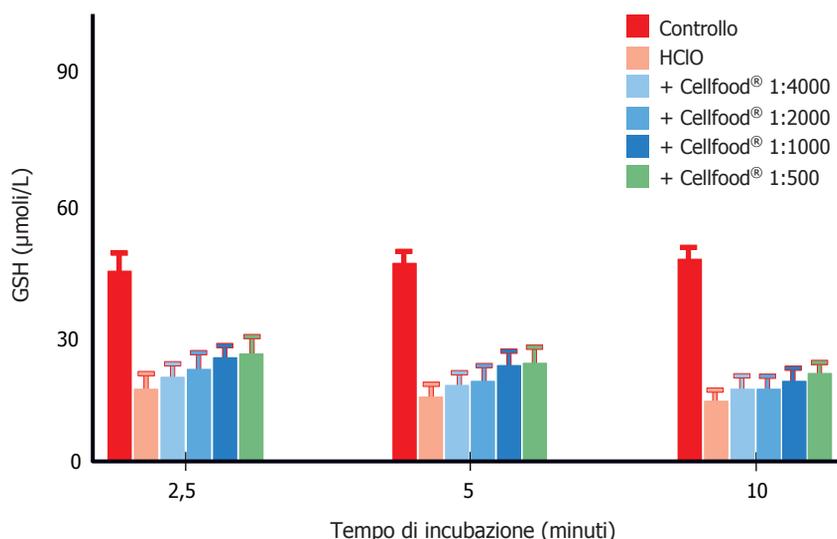


**Figura 3.8** – Cellfood<sup>®</sup>, testato a differenti diluizioni, è in grado di inibire l'emolisi su base ossidativa indotta dal perossido di idrogeno. (Modificata da: Benedetti et al., 2011)

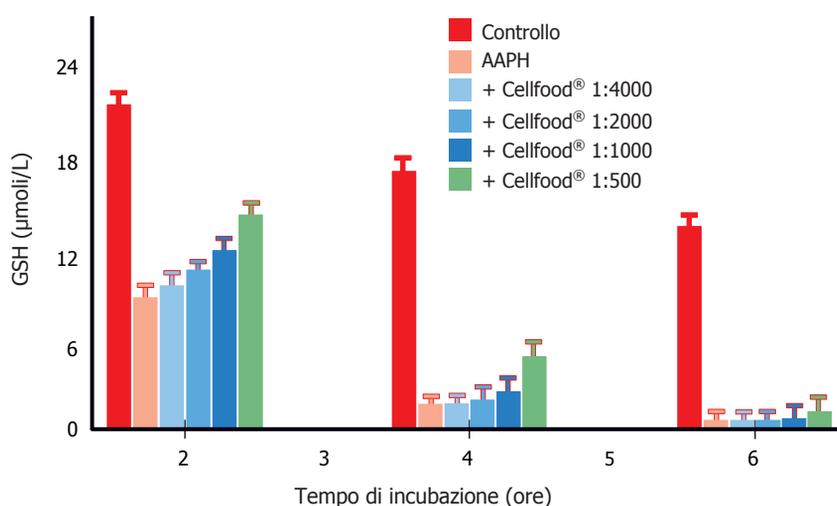
Degno di rilievo il fatto che Cellfood<sup>®</sup> è apparso in grado non solo di proteggere gli eritrociti dall'emolisi ossidativa, ma anche di prevenire, nelle stesse cellule, e in maniera dose-dipendente, la deplezione di glutatione indotta da perossido di idrogeno (figura 3.9), da acido ipocloroso (figura 3.10) e dal 2,20-azobis(2-amidinopropano) (AAPH) (figura 3.11), in un ampio range di diluizioni (1:4000-1:500).



**Figura 3.9** – Cellfood<sup>®</sup>, testato a differenti diluizioni, è in grado di prevenire la deplezione intraeritrocitaria di glutatione indotta dal perossido di idrogeno. (Modificata da: Benedetti et al., 2011)



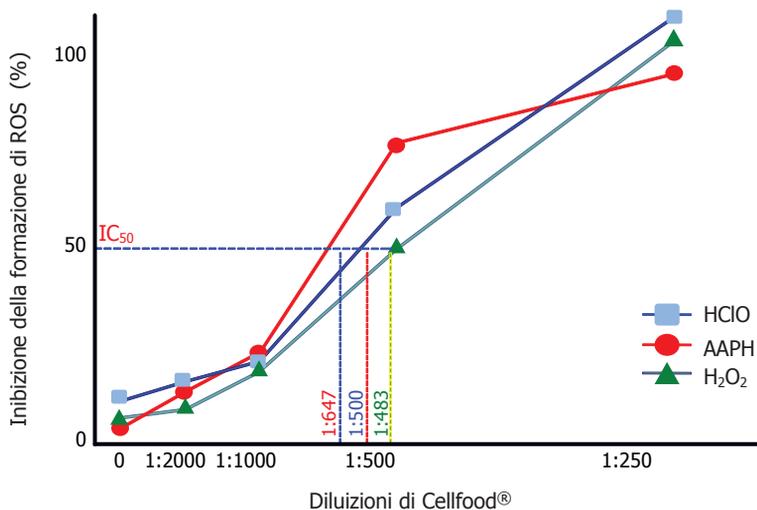
**Figura 3.10** – Cellfood®, testato a differenti diluizioni, è in grado di prevenire la deplezione intraeritrocitaria di glutazione indotta dall'acido ipocloroso. (Modificata da: Benedetti et al., 2011)



**Figura 3.11** – Cellfood®, testato a differenti diluizioni, è in grado di prevenire la deplezione intraeritrocitaria di glutazione indotta dal 2,20-azobis(2-amidinopropano) (AAPH). (Modificata da: Benedetti et al., 2011)

Questi ultimi dati rinforzano il potenziale ruolo di modulatore fisiologico che può svolgere Cellfood® a protezione del glutatione in un tipo di cellula, quale l'eritrocita, ove sono necessari elevati livelli di questo antiossidante, anche a tutela dell'integrità strutturale dell'emoglobina, più direttamente esposta all'insulto ossidativo, in quanto carrier dell'ossigeno. Ciò vale soprattutto negli atleti, sottoposti, a causa delle elevate performance richieste, a consumi molto elevati di ossigeno.

Infine, in questo studio, con la tecnica dell'emissione della fluorescenza, usata per rilevare la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), Cellfood<sup>®</sup>, testato in un ampio range di diluizioni (1:2000-1:250), ha inibito in maniera dose-dipendente e fino al 100% l'ossidazione indotta dal 2,20-azobis(2-amidinopropano) (IC<sub>50</sub> alla diluizione di 1:647) e, a seguire, dall'acido ipocloroso (IC<sub>50</sub> alla diluizione di 1:500) e dal perossido di idrogeno (IC<sub>50</sub> alla diluizione di 1:483) nei linfociti (figura 3.12).



**Figura 3.12** – Cellfood<sup>®</sup>, testato a differenti diluizioni, è in grado di prevenire la generazione di ROS indotta dal perossido di idrogeno, dall'acido ipocloroso e dal 2,20-azobis(2-amidinopropano) (AAPH) nei linfociti. (Modificata da: Benedetti et al., 2011)

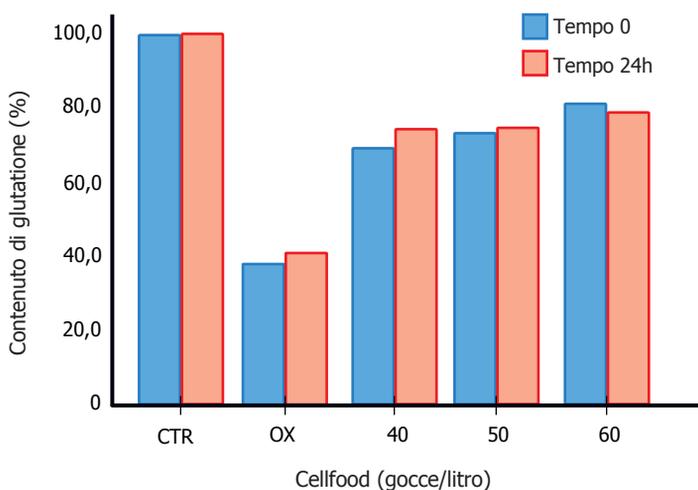
Poiché i linfociti sono esposti a variazioni del livello di antiossidanti del sangue, a loro volta dipendenti dalle abitudini alimentari, il riscontro di un effetto protettivo da parte di Cellfood<sup>®</sup> nei confronti di comuni ossidanti costituisce una conferma indiretta dell'azione immunostimolante ipotizzata per questa formulazione sulla base di diverse esperienze cliniche.

L'insieme dei dati fin qui discussi, ottenuti da studi *in vitro* ed *ex vivo*, suggeriscono che Cellfood<sup>®</sup> è dotato dell'intrinseca e ambivalente capacità, finora non osservata in nessun altro "integratore", di rendere maggiormente disponibile ossigeno in soluzione e, contemporaneamente, prevenirne la potenziale tossicità, grazie alla sua elevata capacità antiossidante e protettiva su target caratteristici dei ROS (glutazione, DNA, eritrociti, linfociti) (Iorio, 2006a).

## Appendice

### Stabilità della capacità antiossidante di Cellfood®

La prova sperimentale è nata dalla necessità di verificare se la capacità antiossidante di una soluzione acquosa contenente Cellfood® è stabile nel tempo dopo 24 ore dalla sua preparazione, mimando così l'aggiunta di Cellfood® direttamente in bottiglia per un uso e consumo giornaliero nell'ambito delle 24 ore. A tal fine, sono state preparate tre soluzioni acquose contenenti Cellfood® a tre diverse concentrazioni: 40 gocce/litro, 50 gocce/litro e 60 gocce/litro. La capacità antiossidante delle tre soluzioni è stata valutata subito dopo la preparazione (tempo 0) e dopo 24 ore dalla preparazione. Come bersaglio dell'ossidazione è stato scelto il glutatone (GSH), come agente ossidante è stato utilizzato il perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ). L'ossidazione del GSH da parte dell' $H_2O_2$  è stata valutata spettrofotometricamente sia in assenza che in presenza di Cellfood® alle tre diverse concentrazioni. Come mostrato in figura 3.13, sia al tempo 0 che dopo 24 ore dalla preparazione, le tre soluzioni contenenti Cellfood® (40-50-60 gocce/litro) sono in grado di proteggere il GSH dall'ossidazione da parte dell' $H_2O_2$ . In conclusione, la capacità antiossidante di una soluzione acquosa contenente Cellfood® resta inalterata dopo 24 ore dalla sua preparazione. È dunque ipotizzabile che la preparazione giornaliera di Cellfood® direttamente in bottiglia non ne alteri la propria attività antiossidante.



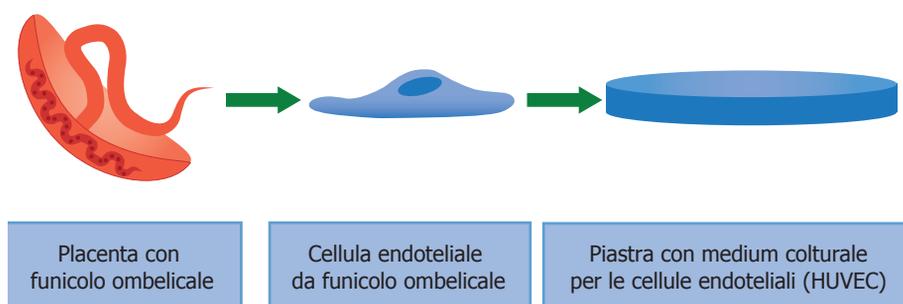
**Figura 3.13** – Aumento del contenuto di glutatone in presenza di dosi crescenti di Cellfood® (40-50-60 gocce/litro). CTR: controllo non ossidato. OX: ossidazione massima da parte dell'agente ossidante  $H_2O_2$  in assenza di Cellfood®. La protezione di Cellfood® nei confronti dell'ossidazione del GSH è stata valutata spettrofotometricamente a 412 nm utilizzando il reagente DTNB.

## 3.2 Studi su colture cellulari: il modello HUVEC

La conferma di quanto appena postulato sul meccanismo d'azione di Cellfood® è emersa chiaramente dai risultati di un recente studio eseguito presso l'Università Vita e Salute San Raffaele di Milano (Ferrero et al., 2011).

Tale studio ha avuto lo scopo di analizzare gli effetti di Cellfood® sulla respirazione cellulare e, in particolare, sul metabolismo ossidativo mitocondriale che, sulla base delle ricerche fin qui analizzate e commentate, è dal primo momento apparso come il target primario della formulazione.

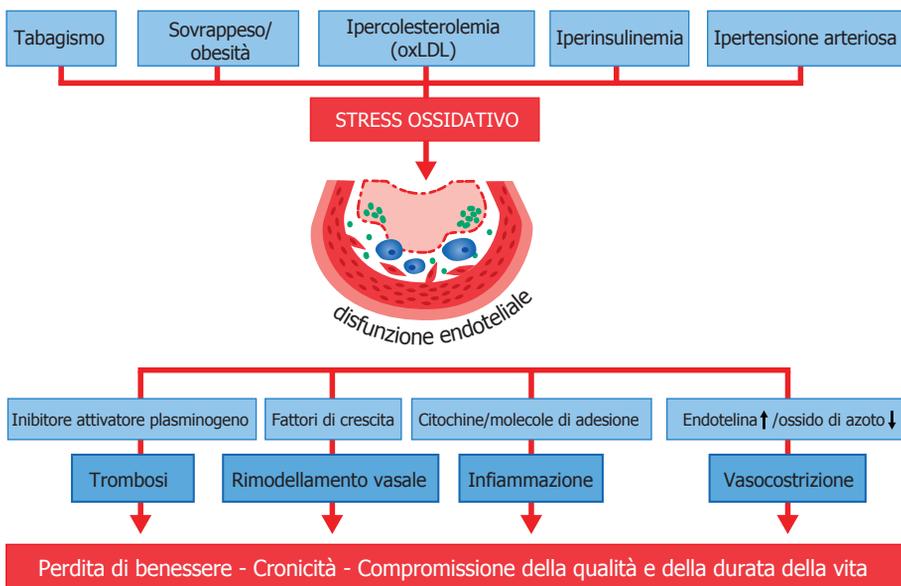
Come sistema sperimentale, gli autori hanno deciso di scegliere le cellule endoteliali da cordone ombelicale umano (*Human Umbilical Vein Endothelial Cell*, HUVEC) che, in opportune condizioni, generano colture primarie i cui singoli elementi esprimono esattamente il corredo biochimico ed esibiscono le medesime funzioni degli endotelioцитi che tappezzano l'apparato cardiovascolare dell'uomo (figura 3.14).



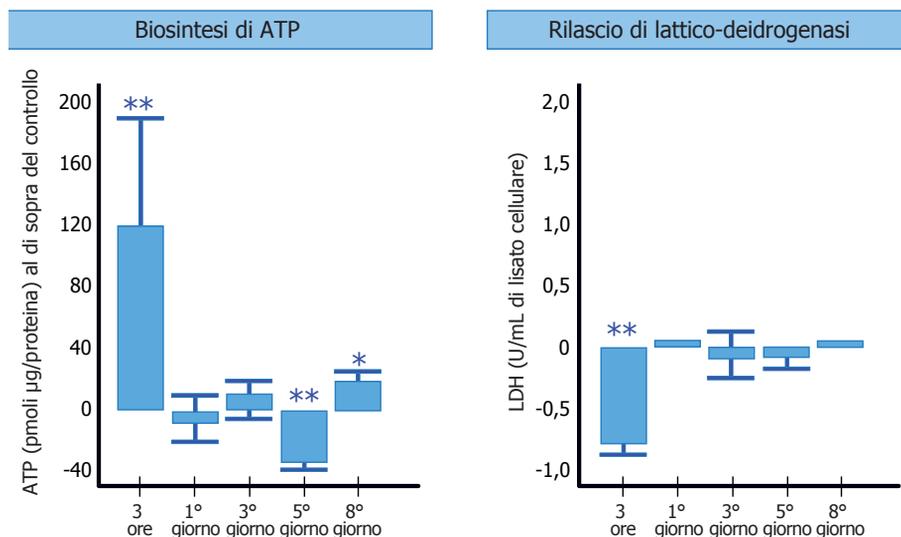
**Figura 3.14** – Il sistema sperimentale usato per valutare il ruolo e, quindi, il meccanismo d'azione di Cellfood® nel metabolismo ossidativo cellulare. Dal cordone ombelicale, opportunamente separato dalla placenta subito dopo il secondamento, si isolano e si mettono in coltura le cellule endoteliali, nel cui medium viene disciolta a varie diluizioni la formulazione allo scopo di testarne gli effetti.

D'altro canto, le cellule endoteliali rappresentano elementi chiave coinvolti non solo nella mediazione degli scambi di ossigeno e anidride carbonica, di nutrienti e dei loro cataboliti tra il sangue e la matrice extracellulare e tra questa e le cellule dei vari tessuti, ma anche in tutti i processi reattivi. È evidente che il mantenimento della loro perfetta integrità, che dipende a sua volta dal metabolismo ossidativo, è assolutamente indispensabile per prevenire la comparsa della cosiddetta disfunzione endoteliale, che è all'origine delle numerose patologie associate allo stress ossidativo (figura 3.15).

Su queste basi, dopo aver verificato che, a diluizioni compatibili con la posologia suggerita, Cellfood® non altera né la morfologia né la vitalità delle cellule, anzi, ne stimola il metabolismo mitocondriale, i ricercatori hanno osservato che l'aggiunta della formulazione al medium di coltura si accompagna a un innalzamento significativo dei livelli intracellulari di ATP e a una riduzione dei livelli di latticodeidrogenasi (figura 3.16), particolarmente evidente a 3 ore, con un aumento sostenuto del consumo di ossigeno, a funzione mitocondriale praticamente integra.



**Figura 3.15** – Lo stress ossidativo, associato a vari fattori di rischio (fumo di sigaretta, iperinsulinemia, elevati livelli di colesterolo ossidato ecc.), è uno dei principali determinanti della disfunzione endoteliale, la quale, attraverso diversi meccanismi mediati da una serie di sostanze biologicamente attive, porta alla perdita dello stato di benessere.



**Figura 3.16** – L'aggiunta di Cellfood® al medium culturale si associa a un significativo aumento dei livelli di ATP (a sinistra) e a un abbassamento di quelli della latticodeidrogenasi (a destra) in cellule endoteliali ottenute da cordone ombelicale umano (HUVEC). Le variazioni statisticamente significative sono indicate con un asterisco. (Modificata da: Ferrero et al., 2011)

In esperimenti eseguiti *ad hoc*, inoltre, si osserva che la generazione di ROS subisce una significativa riduzione, associandosi a un'inibizione dell'attivazione del fattore induttore inducibile dall'ipossia (HIF-1 $\alpha$ ), attraverso un aumento dell'espressione della SOD manganese-dipendente.

Nel loro complesso, i risultati di questo studio indicano che, almeno nel sistema cellulare investigato, Cellfood® effettivamente stimola il metabolismo ossidativo mitocondriale con viraggio della glicolisi in senso aerobio, di cui sono diretta espressione l'aumentato consumo di ossigeno, l'incremento della sintesi di ATP e la riduzione dei livelli di latticodeidrogenasi, senza ripercussioni sulla morfologia e sulla vitalità cellulare. Nel contempo, gli effetti indesiderati dell'ipossia, come la produzione di ROS, sono efficacemente contrastati attraverso l'espressione di uno dei più potenti enzimi antiossidanti mitocondriali, la SOD, e ciò avviene in concomitanza con l'inibizione dell'HIF $\alpha$ , un effetto che apre scenari molto interessanti anche in campo oncologico, se si considera che la neovascolarizzazione dei tumori, che è alla base della loro crescita, è promossa dall'ipossia proprio attraverso questo fattore.

## Bibliografia

- Benedetti S, Catalani S, Palma F, et al. (2011). The antioxidant protection of Cellfood™ against oxidative damage in vitro, *Food and Chemical Toxicology* 49, 2292-2298.
- Deutrel Industries/NuScience Corp. (1999). *Analytical report 677-074,077*: dissolved oxygen.
- Ferrero E, Fulgenzi A, Belloni D, et al. (2011). Cellfood™ improves respiratory metabolism of endothelial cells and inhibits hypoxia-induced ROS generation, *J Physiol Pharmacol*, 62 (3), 287-293.
- Iorio EL (2006). Hypoxia, free radicals and antioxidants. The "Deutrosulfazyme® paradox", *Hypoxia Medical J* 1-2, 32.
- Iorio EL, Bianchi L, Storti A (2006). Deutrosulfazyme®: un potente antiossidante, *La Medicina Estetica*. 30 (1), 115-116.

le bibliografie  
sono ancora in  
fase di editing

## Capitolo 4

# Cellfood®

## La ricerca scientifica.

### II. Studi clinici

Eugenio Luigi Iorio

#### 4.1 Studio sui maratoneti

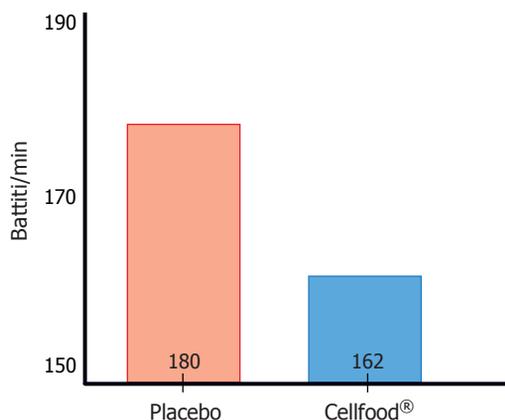
Un ulteriore contributo ai fini della comprensione del meccanismo d'azione di Cellfood® è stato fornito da una serie di studi *in vivo*. Il primo, in ordine cronologico, è un trial clinico in doppio cieco, controllato mediante placebo, a bracci incrociati, eseguito presso l'Istituto dello Sport dell'Università di Pretoria (Sudafrica) su un gruppo di 45 maratoneti (Van Heerden et al., 2001) (figura 4.1).

Sulla base dei risultati ottenuti, assunto ai dosaggi previsti (25, 35 o 40 gocce al giorno), Cellfood® ha comportato una riduzione statisticamente significativa della frequenza cardiaca media, rispetto al placebo, misurata alla velocità di 17 km/ora (162 vs 180 battiti/min) (figura 4.2).

DISEGNO DELLO STUDIO	Doppio cieco, controllato con placebo, a bracci incrociati.
SCOPO DELLO STUDIO	Valutare, a 18 settimane, l'efficacia di Cellfood®, come integratore, nel migliorare le performance fisiche di atleti impegnati in gare di resistenza, a differenti dosi quotidiane (25, 35 e 45 gocce).
SOGGETTI	45 maratoneti, 28 uomini e 17 donne, di età compresa tra 20 e 51 anni.
ANALISI STATISTICA	Metodo di Kruskal Wallis (significatività per $p < 0,05$ )

GRUPPO	PRIMO CICLO		SECONDO CICLO		TERZO CICLO	
	Trattamento	Dose	Trattamento	Dose	Trattamento	Dose
A	Cellfood®	25 gocce/die	Placebo	35 gocce/die	Cellfood®	40 gocce/die
B	Placebo	25 gocce/die	Cellfood®	35 gocce/die	Placebo	40 gocce/die

**Figura 4.1** – Disegno dello studio controllato mediante placebo sull'efficacia di Cellfood® nei maratoneti, eseguito presso l'Istituto di Scienza dello Sport dell'Università di Pretoria. (Modificato da: Van Heerden et al., 2011)



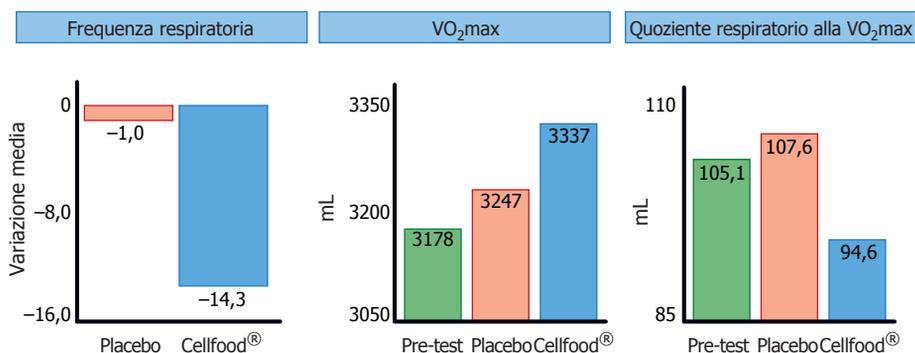
**Figura 4.2** – L’assunzione regolare di Cellfood® si accompagna, in maratoneti, a una riduzione statisticamente significativa della frequenza cardiaca. (Modificato da: Van Heerden et al., 2011)

Questo effetto si traduce, in pratica, in un prolungamento dei tempi di riempimento delle camere cardiache e, quindi, in una migliore prestazione del miocardio, così come richiesto da uno sforzo fisico.

Significativamente migliorate, dal punto di vista statistico, sono apparse le performance respiratorie, con un abbassamento della frequenza degli atti respiratori, un incremento del volume massimo di ossigeno ( $VO_2\max$ ) assoluto e una riduzione del quoziente respiratorio (QR) misurato al  $VO_2\max$  (figura 4.3).

L’abbassamento della frequenza respiratoria, particolarmente evidente al più basso dei dosaggi testati (-14% vs -1%), sta a indicare un miglioramento della ventilazione polmonare.

Quanto al  $VO_2\max$ , occorre ricordare che il volume di ossigeno utilizzato per la contrazione muscolare dipende direttamente dalle richieste energetiche; quando l’incremento della quantità di ossigeno si stabilizza e non subisce più variazioni, nonostante

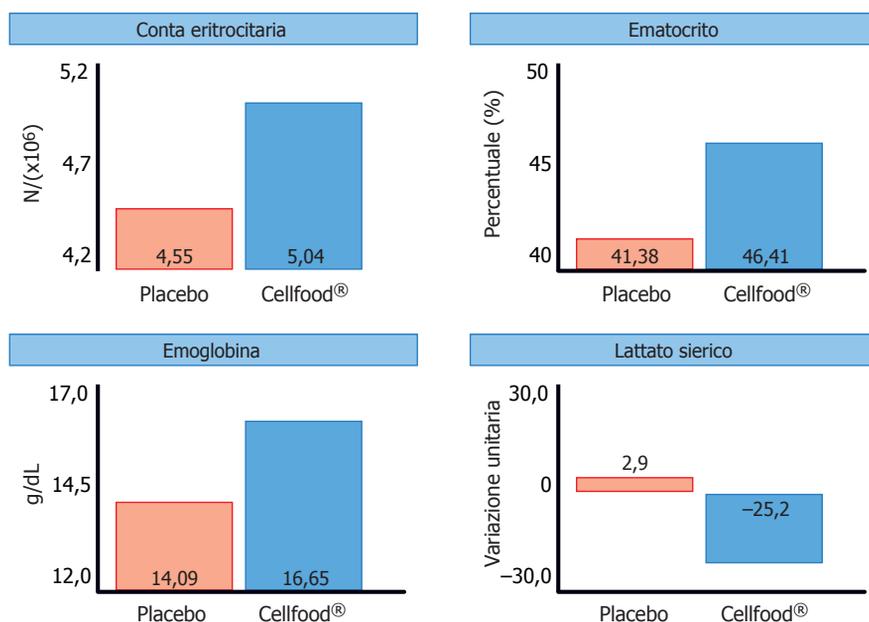


**Figura 4.3** – L’assunzione regolare di Cellfood® si accompagna, in maratoneti, a un miglioramento statisticamente significativo delle performance respiratorie, in termini di frequenza degli atti respiratori e  $VO_2\max$ . (Modificato da: Van Heerden et al., 2011)

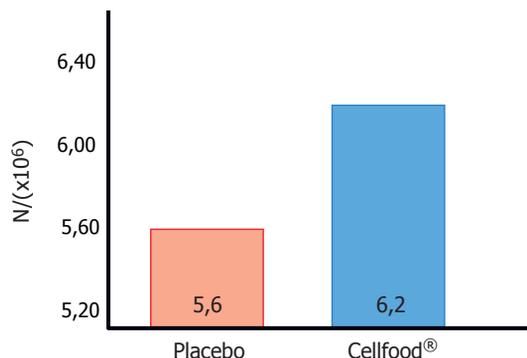
un ulteriore incremento dello sforzo, significa che si è raggiunto il  $VO_2\text{max}$ , definibile, appunto come il volume massimo di ossigeno che un essere umano può consumare nell'unità di tempo per la contrazione muscolare. Il  $VO_2\text{max}$  può essere aumentato con gli allenamenti. Mentre un individuo sedentario ha un  $VO_2\text{max}$  medio di 40 mL/kg/min, un soggetto allenato può incrementare tale valore anche del 100%. Il  $VO_2\text{max}$  è strettamente correlato all'efficienza dell'apparato cardiaco – attraverso la frequenza cardiaca, il sistema respiratorio, la presenza di ossigeno nel sangue – e alla funzionalità circolatoria periferica e metabolica cellulare. Il fatto che Cellfood® sia in grado di aumentare la  $VO_2\text{max}$  significa che esso mette l'atleta nelle condizioni ottimali per poter aumentare la capacità di produrre energia e, quindi, l'efficienza dello sforzo muscolare. Infatti, l'incremento del parametro  $VO_2\text{max}$  significa incremento del potenziale energetico.

È interessante osservare che alla  $VO_2\text{max}$  Cellfood® determina anche un abbassamento significativo del QR, ossia del rapporto tra il volume di anidride carbonica espirata e il volume di ossigeno inspirato, che riflette lo scambio metabolico dei gas nell'organismo e che è dettato dall'utilizzazione di substrati; in pratica, più basso è il QR, migliore è la prestazione.

In parallelo, le analisi di laboratorio hanno rilevato, dopo assunzione di Cellfood®, un incremento significativo, rispetto al placebo, dell'ematocrito (46,41 vs 41,38), del numero degli eritrociti ( $5,04 \times 10^6$  vs  $4,55 \times 10^6$ ) e del livello di emoglobina (16,65 vs 14,09 g/dL), con una riduzione, anch'essa statisticamente significativa, del lattato sierico, specialmente al dosaggio medio (35 gocce al giorno), massima a 12 km/h (-26,2% vs +3,7%, intervallo -10 -26,2 vs +0,1 +30,4%) (figura 4.4).



**Figura 4.4** – L'assunzione regolare di Cellfood® si accompagna, in maratoneti, a un incremento statisticamente significativo dell'ematocrito, del numero dei globuli rossi e dei livelli di emoglobina, senza incremento della produzione di lattato. (Modificato da: Van Heerden et al., 2011)

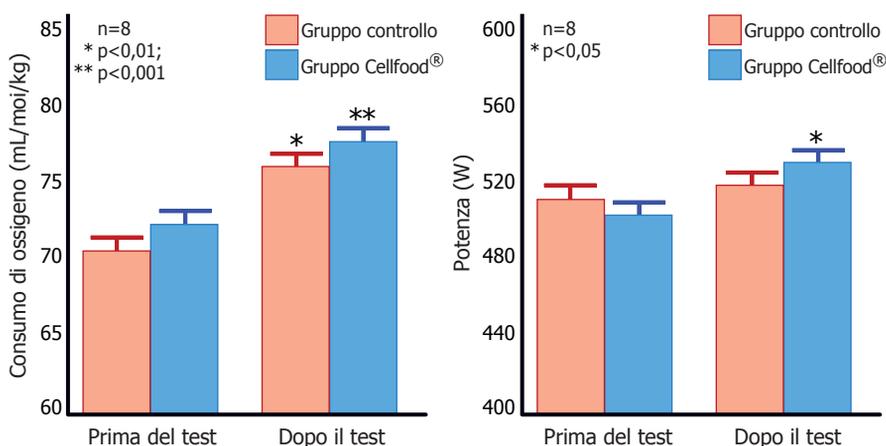


**Figura 4.5** – L'assunzione regolare di Cellfood® si accompagna, in maratoneti, a un incremento statisticamente significativo del numero assoluto dei globuli bianchi. (Modificato da: Van Heerden et al., 2011)

Questi dati indicano che Cellfood® induce una serie di variazioni funzionali che concorrono tutte a predisporre l'organismo a un utilizzo ottimale di ossigeno, con un viraggio in senso aerobico del metabolismo e un abbassamento drammatico della produzione di lattato, con esito in un miglioramento delle performance muscolari. Infatti, in condizioni di aerobiosi il rendimento della combustione del glucosio è 17-18 volte quello ottenuto in aerobiosi, in termini di produzione di ATP. Da segnalare, in tale contesto, il concomitante aumento della conta assoluta dei leucociti ( $6,02 \times 10^3$  vs  $5,6 \times 10^3 \times \text{mm}^3$ ) a suggerire una favorevole stimolazione del sistema immunitario (Van Heerden et al., 2001) (figura 4.5).

## 4.2 Studio sui ciclisti

Degno di rilievo, a circa dieci anni dalle ricerche eseguite a Pretoria, un altro studio, controllato con placebo, eseguito presso le università slovene di Lubiana e di Primorska



**Figura 4.6** – L'assunzione regolare di Cellfood® si accompagna, in ciclisti, a un incremento statisticamente significativo della  $\text{VO}_2\text{max}$  e della potenza massimale. (Modificata da: Milić e Djordjević, 2008)

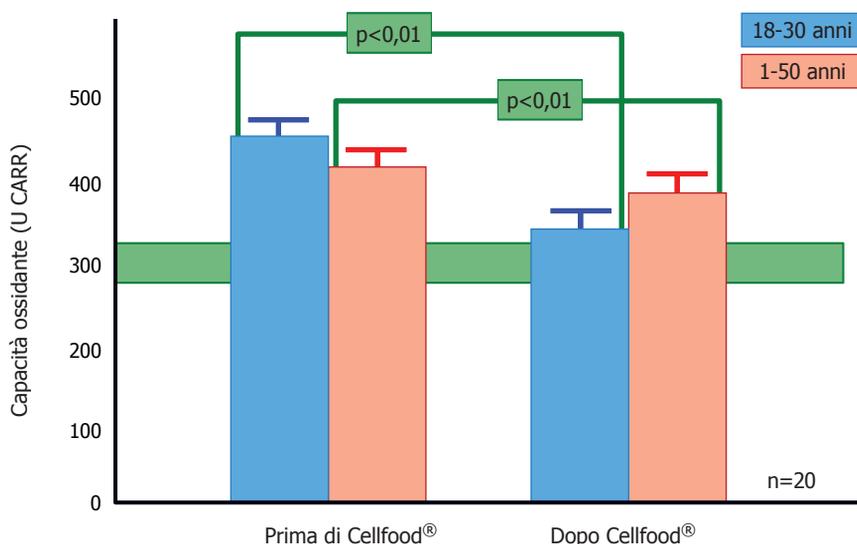
su ciclisti professionisti allenati a un regime di 8 sedute/settimana, che ha confermato, sostanzialmente, le precedenti osservazioni dimostrando che, anche in questa categoria di atleti l'assunzione di Cellfood® al dosaggio di 12 gocce 3 volte al giorno si accompagna a un incremento statisticamente significativo della  $VO_2\max$  e della potenza massima a 5 settimane, senza variazioni significative né della frequenza cardiaca massima né dei livelli di lattato sierico (Milic' e Djordjevic', 2008) (figura 4.6).

Nella conclusione degli autori, Cellfood® può essere di beneficio nel processo di adattamento per il periodo di 5 settimane in ciclisti a elevato regime di allenamento e di livello internazionale (Milic' e Djordjevic', 2008).

### 4.3 Studio sugli atleti

Nell'analisi di questi effetti, ovviamente, occorre tener conto anche di altri aspetti. Infatti, l'attività fisica intensa e, in particolare, gli sport di tipo aerobico, specialmente se eseguiti a livelli altamente competitivi, espongono al rischio di stress ossidativo, sia intracellulare sia extracellulare, a causa del possibile sovrapporsi dell'aumento dell'attività mitocondriale e di eventuali squilibri tra domanda e offerta di ossigeno (ischemia-riperfusione), spesso aggravati da processi infiammatori (es. nelle condizioni di overuse) (vedi anche figura 1.22) (Karlsson, 1997; Iorio et al., 2001; Iorio, 2004, 2007).

A questo proposito, uno studio preliminare eseguito su un gruppo di 20 atleti ha dimostrato che l'assunzione di Cellfood® alla dose normalmente suggerita di 8 gocce 3 volte al giorno per 6 settimane si è accompagnata, rispetto al basale, a un abbassamento significativo della capacità ossidante plasmatica misurata attraverso il d-ROMs test, con effetti più marcati nella fascia di età compresa fra 18 e 30 anni ( $303 \pm 23$  vs  $418 \pm 35$  U CARR) (figura 4.7) (Coyle, 2004).



**Figura 4.7** – L'assunzione regolare di Cellfood® si accompagna, in atleti, a un abbassamento statisticamente significativo della capacità ossidante totale del plasma, misurata attraverso il d-ROMs test.

Questo primo set di ricerche, eseguite su soggetti impegnati in attività sportive, prevalentemente di tipo aerobico, ove un uso ottimale dell'ossigeno è assolutamente determinante ai fini del rapporto costi/benefici, indica che il peculiare meccanismo d'azione di Cellfood<sup>®</sup>, assunto regolarmente a dosi quotidiane variabili da 24 a 36 gocce al giorno, è quello di mettere l'organismo e, in particolare, la sua macchina muscolare, nelle condizioni metaboliche ottimali per sviluppare le massime performance, senza i rischi legati all'acidosi e, quindi, allo stress ossidativo (Mariani, 2004a, 2004b; Iorio, 2005). Una proprietà, questa, che al momento nessuna forma di integrazione, neanche mirata agli sportivi, è in grado di assicurare.

## 4.4 Studio sugli asmatici

I benefici effetti di Cellfood<sup>®</sup> sulla modulazione del consumo di ossigeno non si limitano agli atleti, ma possono ritenersi appannaggio anche di altri soggetti a rischio per condizioni fisiopatologiche respiratorie, quali l'asma e il tabagismo.

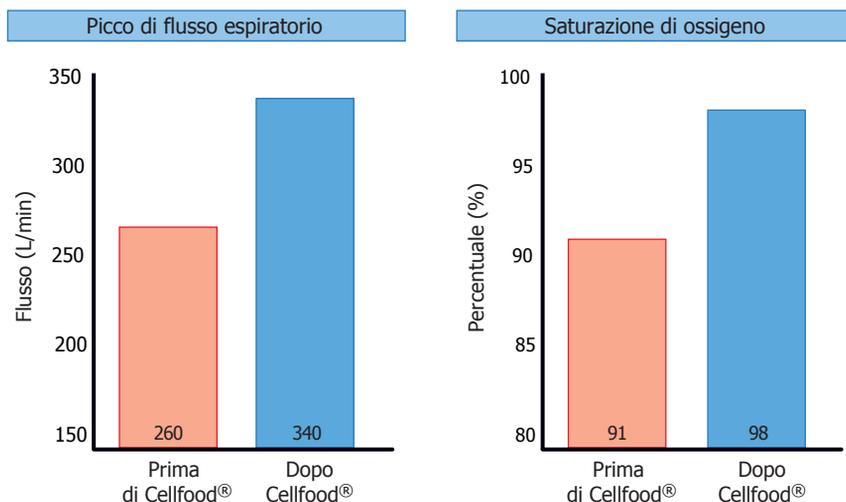
L'asma bronchiale, come è noto, è una sindrome caratterizzata dalla brusca insorgenza di accessi di grave difficoltà respiratoria (dispnea), dovuti alla combinazione di almeno tre meccanismi: una transitoria contrazione (spasmo) dei piccoli bronchi, un rigonfiamento (edema) della mucosa e un aumento delle secrezioni mucose. L'esposizione ad agenti naturali (pollini) o sintetici (inquinanti) presenti nell'ambiente ne costituisce generalmente il fattore scatenante (Pinnock e Shah, 2007). La fame d'aria, la tosse, il senso di costrizione toracica e il tipico sibilo ne rappresentano i classici sintomi.

A causa della sua natura cronica, l'asma richiede lunghe terapie, non sempre risolutive, e costituisce, oltre che un grave fattore di invalidità, una causa di gravi oneri economici: il costo complessivo del suo trattamento, in Europa, si aggira intorno ai 18 miliardi di euro (Moore e Peters, 2007; Braman, 2006; Willems et al., 2006). Di qui la ricerca continua, spesso spasmodica, di strategie sempre più efficaci e con più favorevoli rapporti costi/benefici.

Sulla base di queste premesse fisiopatologiche, un gruppo di studiosi, coordinati da Paul et al., ha realizzato su progetto dell'associazione irlandese senza scopo di lucro *Friends of Asthma* (codice di registrazione CHY13069), uno studio preliminare di valutazione di efficacia di Cellfood<sup>®</sup> nell'ipossia indotta da asma (Iorio, 2006b).

I ricercatori hanno reclutato 20 pazienti sofferenti di asma da diversi anni e li hanno invitati ad assumere Cellfood<sup>®</sup>, secondo il protocollo incrementale suggerito dal produttore (da 1 goccia 3 volte al giorno fino a un massimo di 8 gocce 3 volte al giorno). All'inizio e al termine del periodo di studio, tutti i soggetti sono stati sottoposti a una valutazione funzionale della capacità respiratoria mediante spirometria (picco di flusso espiratorio, PEF) e alla determinazione della saturazione di ossigeno (SpO<sub>2</sub>) nel sangue mediante pulsossimetro, con l'invito esplicito a riferire la frequenza degli attacchi di asma e qualunque altro elemento di interesse emerso durante il periodo di trattamento.

In tutti i pazienti, al termine dello studio, sono stati osservati, rispetto all'inizio del trattamento, incrementi statisticamente significativi sia del picco di flusso espiratorio – il più alto flusso sostenuto per almeno 10 ms con un'espirazione forzata partendo da una inspirazione completa – sia della saturazione di ossigeno. In particolare, il picco di flusso è aumentato mediamente del 30% (range: da +11% a +66%), mentre la saturazione è aumentata del 7% (range: da +5.0% a +8.8%) (figura 4.8).



**Figura 4.8** – Miglioramento statisticamente significativo delle performance respiratorie, in termini di picco di flusso espiratorio e della saturazione di ossigeno, in soggetti asmatici dopo assunzione di Cellfood®.

Inoltre, alcuni pazienti hanno riferito un miglioramento della funzione respiratoria e un ridotto ricorso a formulazioni spray, associati ad aumento dei livelli di “energia” e riduzione del senso di fatica. Altri, invece, hanno dichiarato, nei primi giorni di trattamento, un aumento della diuresi, talvolta associato a lieve sensazione di nausea. I dati, quantunque preliminari, appaiono di notevole interesse sia pratico che speculativo.

Dal punto di vista clinico, infatti, il picco di flusso espiratorio – che rappresenta la velocità massima con cui l’aria può essere espulsa dai polmoni dopo una inspirazione completa – è un sensibilissimo indicatore di gravità della malattia asmatica; pertanto, il suo aumento suggerisce che l’assunzione di Cellfood® si associa a una riduzione delle “resistenze” opposte dai piccoli bronchi all’aria scambiata a livello alveolare e, dunque, a un miglioramento globale della funzionalità respiratoria. D’altro canto, l’incremento percentuale della saturazione di ossigeno del sangue suggerisce che al miglioramento delle performance polmonari fa puntualmente riscontro un aumento della biodisponibilità di ossigeno a livello dei globuli rossi. Di qui la riduzione della frequenza degli accessi e del ricorso a nebulizzatori e, in definitiva, la sensazione percepita di aumentato benessere (aumento dei livelli di “energia”), da attribuirsi anche all’elevato potere antiossidante intrinseco della formulazione, dopo una fase iniziale di disintossicazione (di cui sarebbero, appunto, espressione la poliuria e la nausea).

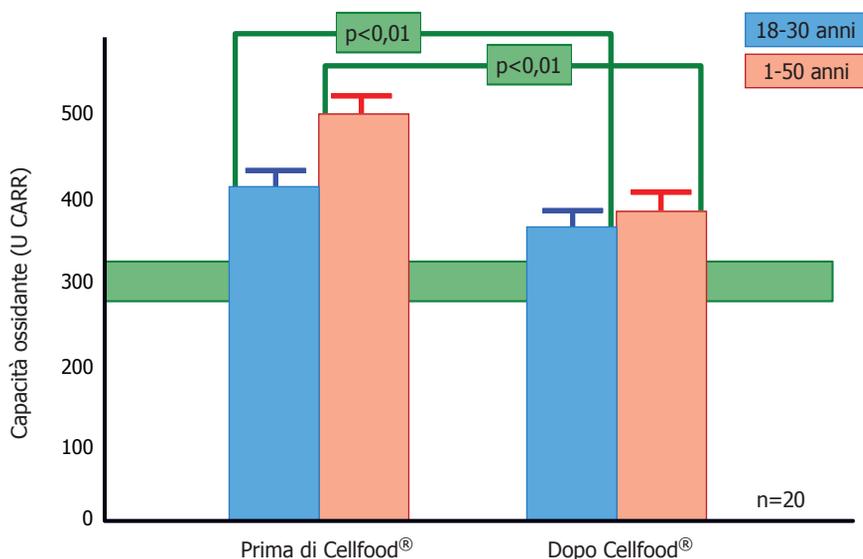
Dal punto di vista speculativo, poi, i risultati dello studio *Friends of Asthma* sembrano confermare quanto dimostrato sugli atleti riguardo alla capacità di Cellfood® di aumentare la biodisponibilità di ossigeno attraverso un meccanismo diverso da quelli finora descritti per le comuni modalità di ossigeno-terapia (Iorio, 2006b). Questo dato, se confermato, potrebbe portare a un cambiamento di rotta nelle strategie preventive e terapeutiche attualmente disponibili per combattere l’asma, ove, tra l’altro, l’integrazione nutrizionale e antiossidante sembra giocare un ruolo rilevante.

## 4.5 Studio sui fumatori

Rimanendo nell'ambito delle patologie respiratorie, non si può non fare un riferimento al tabagismo, una delle cause più frequenti di alterata biodisponibilità di ossigeno e, in particolare, di stress ossidativo.

A questo proposito, l'assunzione di Cellfood® al dosaggio di 8 gocce 3 volte al giorno si è accompagnata in un gruppo di fumatori ( $n = 20$ ) a una riduzione significativa della capacità ossidante del plasma, misurata attraverso il d-ROMs test (da  $474 \pm 30$  a  $355 \pm 28$  U CARR nel gruppo di età 31-50 anni) (Coyle, 2004) (figura 4.9).

Rendere biodisponibile l'ossigeno senza aumentare il rischio di produrre radicali liberi può essere di enorme rilevanza in alcune patologie la cui incidenza sembra essere in aumento – quali la fibromialgia e l'obesità, la cui patogenesi, secondo studi recentissimi, è correlata allo stress ossidativo – e il cui trattamento tradizionale, quindi, potrebbe avvalersi di un'integrazione mirata a base di Cellfood®.



**Figura 4.9** – L'assunzione regolare di Cellfood® si accompagna, in soggetti fumatori, a un abbassamento statisticamente significativo della capacità ossidante totale del plasma, misurata attraverso il d-ROMs test.

## 4.6 Studio sulla fibromialgia

La fibromialgia (Podolecki et al., 2009) è una sindrome algica muscoloscheletrica diffusa, ad andamento cronico, caratterizzata da dolore e rigidità assiale (con rettilineizzazione delle lordosi cervicale e lombare) e periferica, influenzata da diversi fattori come le condizioni climatiche, l'attività fisica, gli stress psicofisici e associata alla presenza di punti di dolorabilità elettiva (tender points), in assenza di alte ragioni bioumorali e radiografiche.

Oltre ai sintomi di tipo muscolo-scheletrico, ne possono essere presenti molti altri come astenia, disturbi del sonno, parestesie agli arti superiori e inferiori, senza una precisa distribuzione dermatomica, senso di tumefazione articolare, cefalea muscolotensiva, labilità del tono dell'umore (ansia/depressione), vasospasmo acrale, dismenorrea e sindrome del colon irritabile.

Secondo i criteri ACR si parla di fibromialgia in presenza di:

1. dolore diffuso da almeno tre mesi: il dolore è considerato diffuso quando è riferito al lato destro e sinistro del corpo, al di sopra e al di sotto della vita; inoltre, deve essere presente dolore scheletrico assiale in almeno una delle seguenti sedi: rachide cervicale, dorsale o lombo-sacrale, torace anteriore;
2. almeno 11 su 18 tender point evocabili alla digitopressione da parte dell'esaminatore (circa 4 kg/cm<sup>2</sup>) o mediante algometro.

La fibromialgia è caratteristica dell'età media con una prevalenza maggiore tra i 20 e i 55 anni, è più comune nel sesso femminile e l'incidenza della malattia è del 1-4%.

L'eziopatogenesi è ancora sconosciuta, ma si ritiene abbia un'origine multifattoriale in cui fattori biologici, psicologici, genetici, neuroendocrini e sociali interagiscono tra loro nel determinare la genesi e la prognosi della malattia.

Studi in microscopia elettronica hanno dimostrato l'esistenza di alterazioni morfologiche della fibrocellula muscolare, e anomalie del bilancio ossidativo di tale tessuto sono oggi considerate come possibili fattori di sviluppo delle lesioni probabilmente responsabili dei tender point. Al riguardo, uno studio eseguito in Giappone ha dimostrato l'efficacia di un fitoterapico tradizionale orientale ad azione antiossidante nella fibromialgia, ove lo stress ossidativo veniva misurato usando proprio il d-ROMs test e il BAP test che hanno consentito di dimostrare *in vivo* e *in vitro* l'efficacia di Cellfood®.

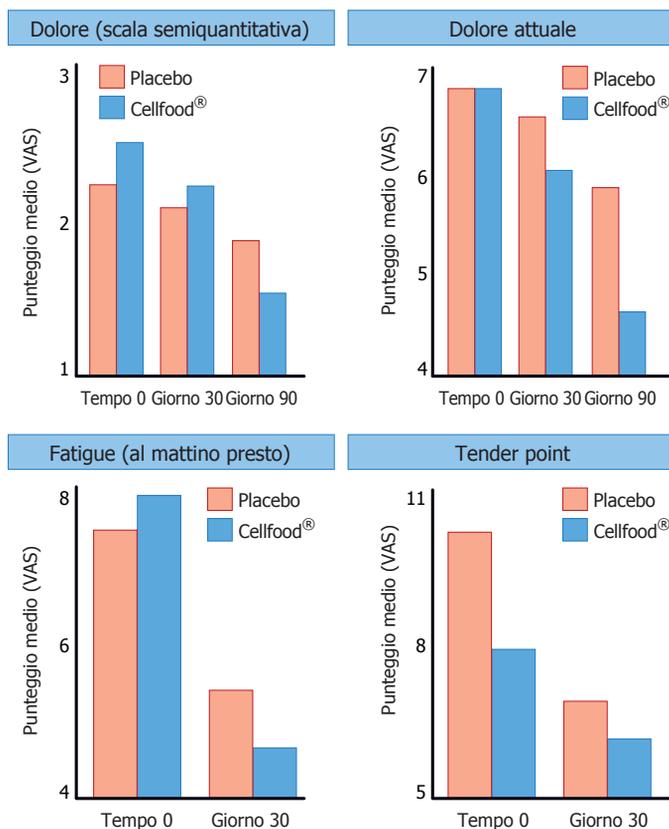
Su queste basi, presso l'Università degli Studi di Siena, è stato eseguito uno studio clinico controllato con placebo su un gruppo di 40 pazienti affette da fibromialgia, opportunamente suddivise in due gruppi disomogenei, rispettivamente di 31 e 9 (Nieddu et al., 2007). Il gruppo A è stato trattato con Cellfood® per 6 mesi iniziando con 1 gtt × 3/die fino a un massimo di 12 gtt × 3/die (secondo lo schema terapeutico standard). Il gruppo B è stato trattato con placebo per 3 mesi e con Cellfood® per altri 3 mesi seguendo lo stesso schema terapeutico. I tender point sono stati valutati con la dolorimetria meccanica, e lo stato di malattia è stato valutato al basale (T<sub>0</sub>), a 3 mesi (T<sub>1</sub>) e a 6 mesi (T<sub>2</sub>) con il Fibromialgia Impact Questionnaire (FIQ), una scala di valutazione validata che viene raccomandata come "endpoint" primario nei trials clinici sulla fibromialgia e fornisce una valutazione funzionale e soggettiva del dolore.

Rispetto al placebo le pazienti hanno riferito un miglioramento statisticamente significativo del dolore misurato con scala semiquantitativa, del dolore attuale, della fatigue al primo mattino e della risposta algica alla pressione dei tender point (figura 4.10).

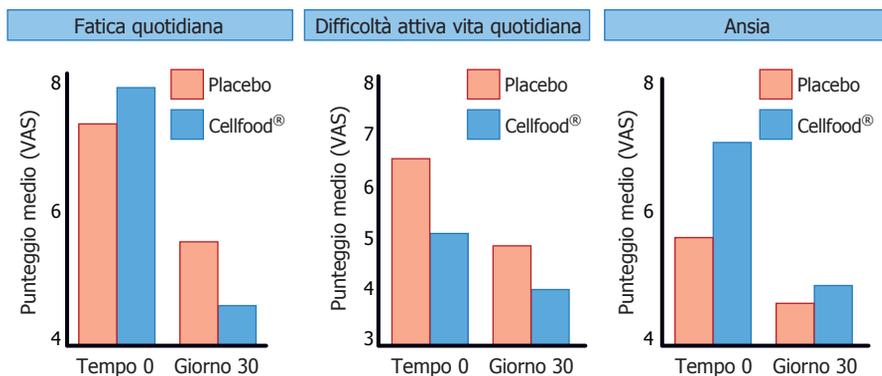
Per i rimanenti parametri (fatigue quotidiana, difficoltà delle attività quotidiane e ansia) si è osservata una tendenza al miglioramento della sintomatologia (figura 4.11).

La tollerabilità da parte dei pazienti si è dimostrata ottimale e di conseguenza anche la compliance. Infatti, nessuna paziente si è ritirata dallo studio.

Cellfood®, quindi, può effettivamente fornire un contributo nella gestione sintomatologica del paziente fibromialgico, per quanto riguarda sia il dolore muscolo-scheletrico



**Figura 4.10** – L’assunzione di Cellfood® si accompagna, a 3 mesi, a un miglioramento statisticamente significativo della sintomatologia dolorosa, della fatigue precoce e della dolorabilità ai tender point in pazienti fibromialgiche. (Modificata da: Nieddu et al., 2007)



**Figura 4.11** – L’assunzione di Cellfood® si accompagna, a 3 mesi, a una tendenza al miglioramento della fatigue e della difficoltà a svolgere le abituali attività quotidiane e dell’ansia in pazienti fibromialgiche. (Modificata da: Nieddu et al., 2007)

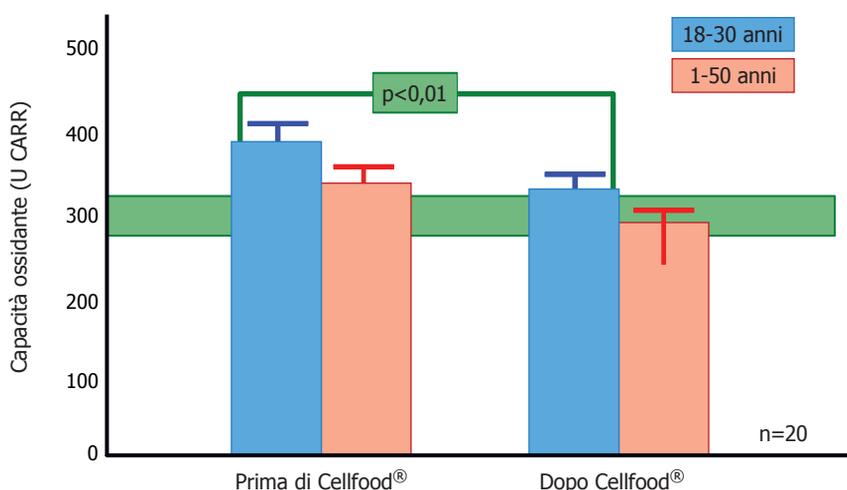
sia le performance neuropsichiche e motorie, attraverso una riduzione del senso di stanchezza e un aumento della resistenza agli sforzi muscolari; e, in prospettiva, un abbattimento degli oneri personali e sociali della malattia, ancora gravati dal massiccio ricorso ad associazioni farmacologiche complesse e costose ma spesso, purtroppo, inefficaci.

Nella conclusione degli autori, "finché non verrà trovata una terapia adeguata per tale patologia, le terapie alternative offrono un'altra possibilità efficace ed economica per alleviare la sintomatologia dolorosa e l'astenia, come Cellfood®" (Nieddu et al., 2007).

Dal punto di vista speculativo, questo studio fornisce un altro importante contributo alla conoscenza del meccanismo d'azione di Cellfood®. Infatti, numerose evidenze sottolineano quanto importante sia il ruolo dello stress ossidativo nella fibromialgia. Per esempio, uno studio condotto in Giappone ha dimostrato la possibilità di abbassare in questa malattia i livelli di stress ossidativo – misurato proprio attraverso il d-ROMs test e il BAP test impiegati per validare l'efficacia antiossidante di Cellfood® – attraverso la somministrazione di un particolare fitoterapico (Nagata et al., 2006). La possibilità di controllare la sintomatologia clinica della fibromialgia, quindi, è una prova indiretta che Cellfood® esibisce una spiccata capacità di modulare lo stress ossidativo anche *in vivo*, come dimostrato negli atleti.

## 4.7 Studio sugli obesi

Un'altra condizione patologica emergente è l'obesità, nella patogenesi delle cui complicanze, metaboliche e vascolari, assume rilevante importanza, insieme all'infiammazione, lo stress ossidativo. Così, in uno studio a 6 settimane eseguito su 20 soggetti obesi o, comunque, con dieta squilibrata, si è visto che l'assunzione regolare di Cellfood® al dosaggio di 8 gocce ripetute 3 volte al giorno si è accompagnata rispetto ai valori basali a un significativo abbattimento dei valori del d-ROMs test (da  $362 \pm 29$  a  $298 \pm 41$ , nella fascia di età compresa tra i 18 e i 30 anni) (Coyle, 2004) (figura 4.12).



**Figura 4.12** – L'assunzione regolare di Cellfood® si accompagna, in soggetti obesi, a un abbattimento statisticamente significativo della capacità ossidante totale del plasma, misurata con il d-ROMs test.

Sulla base dei risultati ottenuti *in vitro* (test dell'ossigeno disciolto e del potenziale biologico antiossidante) e *in vivo* (nei vari studi clinici sugli atleti, sugli asmatici, sui fumatori, sui fibromialgici e sugli obesi) e che sono la sommatoria di valutazioni di tipo clinico, strumentale e laboratoristico, è possibile dedurre che il meccanismo d'azione di Cellfood® può essere ricondotto a una sua intrinseca capacità di favorire un corretto uso dell'ossigeno e di contrastare lo stress ossidativo che ne rappresenta l'evento indesiderato più temibile (Iorio, 2006a).

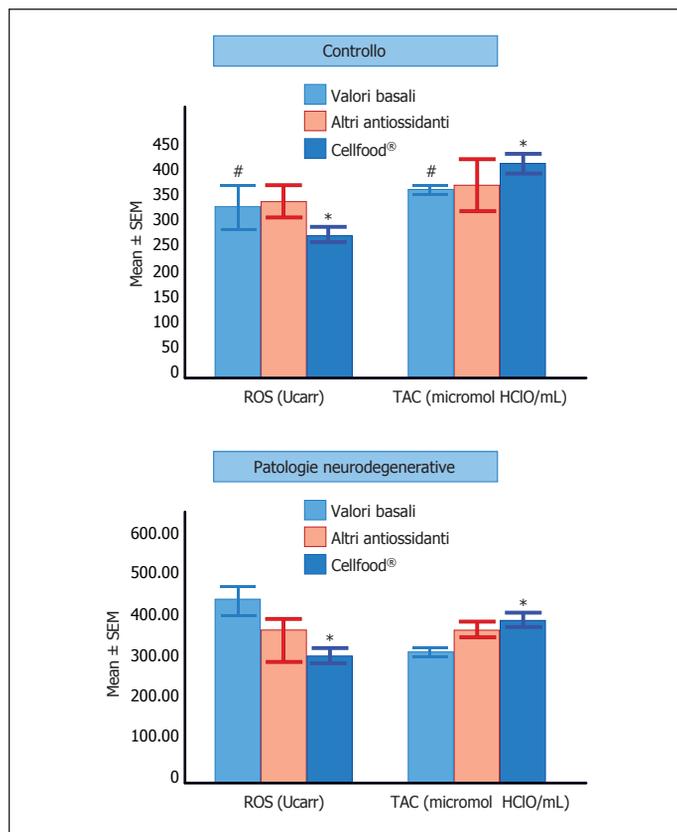
## 4.8 Studio sui pazienti affetti da patologie neurodegenerative

Le patologie neurodegenerative rappresentano un gruppo di condizioni morbose altamente invalidanti e onerose non solo per quelli che ne soffrono ma anche per i loro caregiver. Tra i diversi meccanismi chiamati in causa nell'eziopatogenesi, le alterazioni del bilancio ossidativo giocano un ruolo chiave (Phaniendra et al., 2015). Infatti, in generale, il sistema nervoso centrale è già fisiologicamente "predisposto" all'insulto radicalico perché:

- a) è un distretto a elevato consumo di ossigeno, da cui si formano le omonime specie reattive;
- b) ospita nei suoi neuroni quantità considerevoli di acidi grassi polinsaturi, bersaglio primario dell'insulto ossidativo, da cui si generano acidi grassi trans e perossidi lipidici;
- c) in certe condizioni può rilasciare ferro da alcune sue aree specifiche in cui il metallo è fissato, favorendo l'innescò della reazione di Fenton a partire dai lipoperossidi;
- d) può generare spontaneamente specie ossidanti dal metabolismo di alcuni neurotrasmettitori, quali le catecolammine;
- e) non dispone, a livello delle membrane cellulari, di efficaci sistemi di difesa antiossidante.

Ovviamente, in presenza di alcune noxae esterne, quali i metalli pesanti, il rischio di un danno ossidativo diventa più che concreto, al punto che sono disponibili oggi trattamenti chelanti la cui finalità primaria è proprio rimuovere queste sostanze dal sangue e dai tessuti nei quali esse si accumulano ed eliminarle attraverso le urine (Jellinger, 2013). In questo scenario, in uno studio preliminare caso-controllo, 39 pazienti affetti da patologie neurodegenerative (principalmente sclerosi multipla), Cellfood®, al dosaggio ottimale di 20 gocce 3 volte al giorno, per un periodo di 3 mesi, in combinazione con la terapia chelante, è risultato in grado, rispetto ad alcune comuni formulazioni antiossidanti, non solo di abbassare significativamente i livelli di stress ossidativo (come indicato dall'abbassamento dei valori della capacità ossidante e delle LDL ossidate e dall'incremento della capacità antiossidante e della concentrazione intracellulare di glutatione), ma anche di migliorare il metabolismo dell'unità monocarboniosa (come rilevato dalle variazioni positive dei livelli di omocisteina, folati e vitamina B<sub>12</sub>) (Fulgenzi et al., 2014). In attesa di ulteriori conferme, questo trial appare particolarmente promettente per i possibili futuri sviluppi della modulazione fisiologica in ambito neurologico.

nuovo paragrafo inserito e redazionato. prego il dr Iorio confermare il lavoro fatto.



**Figura 4.13** – Livelli sierici di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e capacità antiossidante totale (TAC) misurati in soggetti sani (controllo) e in pazienti affetti da patologie neurodegenerative. Le concentrazioni di tutti i soggetti sono state determinate prima dell'inizio del trattamento (valori basali) e dopo tre mesi di trattamento con Cellfood®, o altri antiossidanti. \* $P < 0,05$  contro tutti i valori basali; # $P < 0,05$  Controllo contro Patologie neurodegenerative (valori basali). (Modificata da: Fulgenzi et al., 2014)

prego autore confermare le TRADUZIONI della didascalia e della figura

## 4.9 Lo studio sulle pazienti osteopeniche

L'osteopenia, condizione frequentemente associata alla menopausa, può rappresentare un fattore di rischio per la più grave osteoporosi, da cui l'importanza di una diagnosi precoce e di un approccio preventivo basato, laddove indicato, anche sull'impiego di una nutraceutica mirata (Duquet, 2014). A tal proposito, tra le opzioni attualmente disponibili, la modulazione fisiologica antiossidante può trovare una sua giustificazione nel riconosciuto ruolo dello stress ossidativo nella patogenesi della rarefazione ossea tipica della condizione morbosa in oggetto (aumentata attività degli osteoclasti produttori di specie reattive?) (Almeida et al., 2013), specialmente se associata all'apporto di silicio, di cui è nota la funzione nel mantenimento del benessere osseo (Jugdaohsingh, 2007). In tale contesto, Cellfood®, arricchito con biossido di silicio colloidale (Cellfood Silica®), è

nuovo paragrafo inserito e redazionato. prego il dr. Iorio confermare il lavoro fatto.

■ **TABELLA 4.1 – PARAMETRI ANTROPOMETRICI E BIOCIMICI AL TEMPO BASELE (T<sub>0</sub>), DOPO 3 MESI (T<sub>1</sub>) E DOPO 5 MESI DI SUPPLEMENTAZIONE (T<sub>2</sub>). I DATI SONO RIPORTATI COME MEDIA ± DS.**

	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Età	65,6 (± 5,5)	–	–
Peso	74,67 (± 9,98)	72,5 (±9,73)	–
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,04 (± 2,71)	25,26 (±2,53)	–
T-score	–2,20 (± 1)	–2,06 (±0,97)	–
ANALITI (intervallo di riferimento o cut-off)			
oxLDL (<70 UI/L)	73,16 (± 24,7)	66,33 (± 20,15)	58,16 (± 26,8)*
ROS	411 (± 90,23)	428,16 (± 52,67)	431,5 (± 44,76)
TAC	387 (± 66,21)	443,16 (± 81,82)	439 (± 49,18)
Ca (8,4-10,2 mg/dl)	9,58 (± 0,16)	9,78 (± 0,21)	9,99 (± 0,34)*
P (3,30-5,10 mEg/l)	3,55 (± 0,37)	3,73 (± 0,42)	3,83 (± 0,44)
ALP (40-129 U/l)	74,0 (± 21)	78,16 (± 24,11)	87,16 (± 22,86)

\* p < 0,05 Wilcoxon test. (Modificata da: Vigna et al., 2013)

risultato in grado di migliorare, a 5 mesi, alcuni parametri relativi alla qualità dell'osso e di ridurre in modo significativo i livelli di LDL ossidate, biomarker di stress ossidativo, in 10 pazienti osteopeniche (tabella 4.1) (Vigna et al., 2013). Questa formulazione, pertanto, potrebbe essere un valido coadiuvante nella prevenzione e nel trattamento dello stress ossidativo e del riassorbimento osseo (Vigna et al., 2013). In ogni caso sono necessari ulteriori studi su una popolazione più estesa per confermare questi risultati e per suggerire interventi di prevenzione dell'osteopenia/osteoporosi da parte della sanità pubblica.

## Bibliografia

- Almeida M, O'Brien CA (2013). Basic biology of skeletal aging: role of stress response pathways. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 68 (10), 1197-1208.
- Braman SS (2006). The global burden of asthma, *Chest* 130 (1 Suppl.), 4S-12S.
- Coyle M (2004). *Free radical clinical study by laboratory tests*, NuLife Science Corporation, Health products update, Massachusetts, USA.
- Duquet N (2014). Osteoporosis: treatment and pharmaceutical care. *J Pharm Belg*, Jun (2): 14-24.
- Fulgenzi A, De Giuseppe R, Bamonti F, et al. (2014). Improvement of oxidative and metabolic parameters by Cellfood administration in patients affected by neurodegenerative diseases on chelation treatment. *BioMed Research International*, ID 281510. doi: 10.1155/2014/281510.
- lorio EL (2004). d-ROMs test in sport, *Cosmetic News* 157, 272-275.
- lorio EL (2005). Oxidative stress, sport trauma and rehabilitation. New proposals for an integrated approach, *Proceedings XIV International Congress on Sports Rehabilitation and Trau-*

in rosso le nuove bibliografie dei paragrafi 4.8 e 4.9

le bibliografie sono ancora in fase di editing

- matology, *Isokinetic. The accelerated rehabilitation of the injured athlete*, Bologna, Apr 9-10, 2005.
- lorio EL (2006a). Hypoxia, free radicals and antioxidants. The "Deutrosulfazyme® paradox", *Hypoxia Medical J* 1-2, 32.
- lorio EL (2006b). *Potenziale utilità di Deutrosulfazyme® nel trattamento dell'asma*, data in file, La Spezia, Eurodream.
- lorio EL (2007). Stress ossidativo e sport, *European Journal of Health, Sport and Nutrition* 1, 102-103.
- lorio EL, Carratelli M, Quagliuolo L, et al. (2001). Oxidative stress evaluation in athletes, *Proceedings 2nd International Conference on Oxidative Stress and Aging*, April 2-5, 2001, Maui (Hawaii, USA), p. 60.
- Jellinger KA (2013). **The relevance of metals in the pathophysiology of neurodegeneration, pathological considerations.** *Int Rev Neurobiol*, 110, 1-47.
- Jugdaohsingh R (2007). **Silicon and bone health.** *J Nutr Health Aging*, 11 (2), 99-110.
- Karlssoon J (1997). Antioxidants and exercise, *Human Kinetics*.
- Mariani MM (2004a). Deutrosulfazyme (Cellfood®): overview clinico-farmacologica ed effetti sul sistema muscolare, *Proceedings XIII International Congress on Sports Rehabilitation and Traumatology*, Milano, Isokinetic, 24 aprile 2004.
- Mariani MM (2004b). Effetti dell'impiego del Solfato di Deuterio in medicina dello sport, *Atti del Primo Congresso integrazione e complementarietà in medicina dello sport*, Roma, 28 novembre 2004.
- Milic' R, Djordjevic' S (2008). Cycling performance and Cellfood, *Proceedings 4th Annual Congress ECSS*, Oslo, June 24-37 (2008). 1270/PP-TT02.
- Moore WC, Peters SP (2007). Update in asthma 2006, *Am J Respir Crit Care Med* 175 (7), 649-654.
- Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L (2015). **Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases.** *Indian J Clin Biochem*, 30 (1), 11-26.
- Pinnock H, Shah R (2007). Asthma, *BMJ* 334 (7598), 847-850.
- Podolecki T, Podolecki A, Hrycek A (2009). Fibromyalgia: pathogenetic, diagnostic and therapeutic concerns, *Pol Arch Med Wewn* 119 (3), 157-161.
- Van Heerden J, De 'Ath K, Nolte H (2001). *Product Efficacy Report. The study on the effects of Cellfood™ on elite athletes*, Sport Institute, University of Pretoria (South Africa).
- Vigna L, De Lisio F, Novembrino C, et al. (2013). Valutazione degli effetti di una supplementazione naturale (Cellfoood Silica Plus gocce) sullo stato metabolico-nutrizionale-ossidativo di donne osteopeniche: studio pilota. *Progress in Nutrition*, 15 (3), 163-174. [www.mattioli1885.com/onlinejournals/index.php/progressinnutrition/article/view/3314](http://www.mattioli1885.com/onlinejournals/index.php/progressinnutrition/article/view/3314).
- Willems DC, Joore MA, Hendriks JJ, et al. (2006). Cost-effectiveness of self-management in asthma: a systematic review of peak flow monitoring interventions, *Int J Technol Assess Health Care* 22 (4), 436-442.



# Cellfood® Dalla ricerca di base alla pratica clinica: l'esperienza sul campo

Paola, inseriamo gli autori in ordine alfabetico (senza il numero di paragrafo) come per altri capitoli, ripetendoli poi ad ogni titolo?

## 5.1 Il controllo biochimico del ciclo di metilazione cellulare

Mauro Miceli

### Il processo di metilazione cellulare

Il *processo di metilazione* è importante step biochimico che favorisce la disintossicazione e al tempo stesso consente di riparare il DNA danneggiato, per formare nuove cellule e per fabbricare ormoni e neurotrasmettitori di cruciale rilevanza metabolica. La *metilazione* è un processo chimico, e in questo caso biochimico, in cui un gruppo chimico metilico  $-CH_3$  viene ceduto da una molecola, detta *donatore di metile*, a un'altra: tale meccanismo è facilitato da determinate sostanze dette *fattori di metilazione*.

Molecole che fungono da donatori di gruppi metile sono l'amminoacido essenziale metionina (presente nelle proteine alimentari), la colina, la betaina o trimetilglicina e la S-adenosilmetionina (o SAM-e). Fattori di metilazione sono invece rappresentati da una serie di vitamine del gruppo B, nella fattispecie le vitamine B12, B6, l'acido folico (B9), e lo zinco come metallo nel ruolo di cofattore enzimatico.

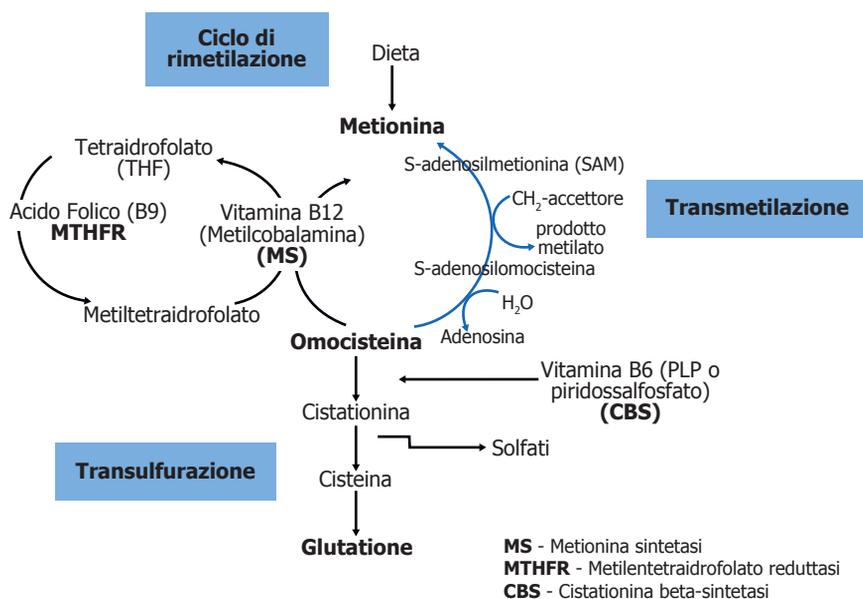
L'omocisteina è un amminoacido solforato, intermedio della trasformazione della metionina a cisteina. La conversione dell'omocisteina a metionina (*processo di rimetilazione*) o la sua conversione a cisteina (*transulfurazione*) rappresentano le principali vie metaboliche in grado di mantenerne i livelli intracellulari entro uno stretto range. Il suo rilascio controllato nel circolo ematico, d'altro canto, consente di misurarne le concentrazioni plasmatiche, che rappresentano un accurato indice dello stato dell'omocisteina tissutale.

L'omocisteina rappresenta perciò un composto intermedio della via metabolica della metionina, la quale è un amminoacido essenziale che, nel momento in cui è attivato a S-adenosilmetionina, o SAM-e, cede il suo gruppo metilico (*transmetilazione*) – coinvolgendo in tale cessione circa 60 importanti reazioni metaboliche, favorite da enzimi specifici (*transmetilasi*) – a una serie di strutture molecolari riceventi e attuando in tal

modo la biosintesi di importanti metaboliti e intermedi, tra cui ricordo in particolare la creatina, la carnitina, gli ormoni steroidei, le basi puriniche di DNA e RNA, le poliammine, la melatonina, importanti ammine biogene quali l'adrenalina e la serotonina.

La perdita del gruppo metilico determina la trasformazione della S-adenosilmetionina in S-adenosilomocisteina, che a sua volta perde l'adenosina e si trasforma quindi in omocisteina. L'omocisteina può essere, a sua volta, transulfurata irreversibilmente in cistationina e quindi in cisteina, oppure, in carenza di metionina assunta con la dieta, può essere rimetilata a metionina. Una serie di enzimi e di cofattori regolano queste vie metaboliche: per il processo di transulfurazione, l'enzima fondamentale è la *cistationina beta-sintetasi* (CBS), che necessita del cofattore piridossal-fosfato (PLP) (forma attiva della vitamina B6), mentre un numero maggiore di enzimi – e di cofattori – svolge un ruolo fondamentale nella rimetilazione dell'omocisteina. Il donatore di metile è in questo caso il 5-metiltetraidro-folato (MTHF), a sua volta rigenerato dalla *metilentetraidrofolato riduttasi* (MTHFR), e la reazione è catalizzata dalla metionina sintetasi che necessita, come cofattore, della transcobalamina (la forma attiva della vitamina B12 metilata o *metilcobalamina*). Poiché la metionina sintetasi viene inattivata durante la reazione, è necessario l'intervento della metionina sintetasi riduttasi, dipendente dalla vitamina B2 o riboflavina, al fine di rigenerare l'enzima metionina sintetasi nella forma attiva.

Vediamo di seguito lo schema metabolico che riassume quanto finora espresso.

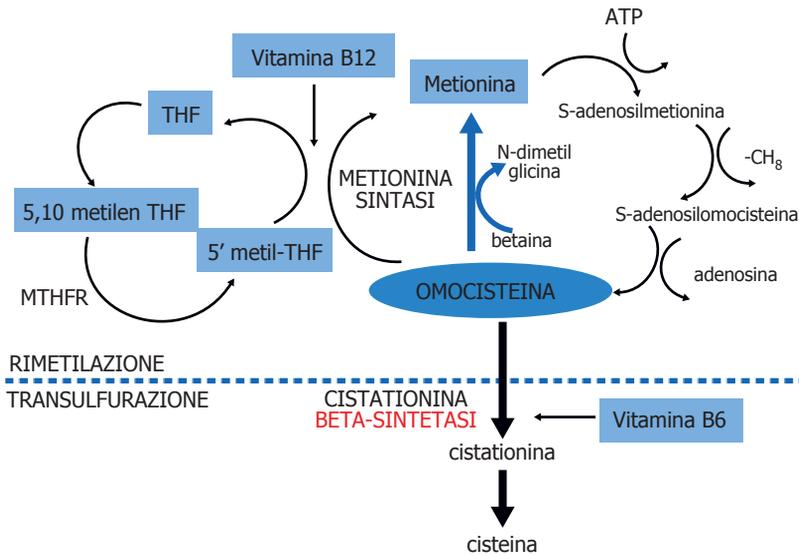


**Figura 5.1.1** – Ciclo metabolico della metionina-omocisteina. (Modificata da: McCully, 1997)

Una terza via alternativa di rimetilazione è detta *beta-sulfo-nutrizione* e usa la betaina, o trimetilglicina, come molecola donatrice di metili, che coinvolge l'enzima betaina-omocisteina metiltransferasi: esiste la convinzione che il processo di transulfurazione dell'omocisteina tramite la via della cistationina e la sua rimetilazione betaina-dipendente appena

citata avvengano esclusivamente a livello del fegato, mentre la via della rimetilazione, dipendente dal folato e dalla vitamina B12, sia l'unica trasformazione metabolica dell'omocisteina operante nei distretti cellulari periferici.

Come detto, la betaina o trimetilglicina, tramite uno specifico enzima epatico, una transferasi metilica denominata betaina-omocisteina-metiltransferasi, elargisce un gruppo metilico all'omocisteina e aumenta la produzione di SAME (S-adenosilmetionina), trasformandosi a sua volta in N-dimetilglicina. Nella *figura 5.1.2* possiamo dunque osservare questa via alternativa di rimetilazione inserita nel ciclo metabolico metionina-omocisteina.



x autore inserita (vedi rosso) ok?

**Figura 5.1.2** – La rimetilazione nel ciclo metabolico metionina-omocisteina. (Modificata da: McCully, 1997)

Nel momento in cui si ha la saturazione delle vie metaboliche, l'omocisteina intracellulare in eccesso viene esportata nella circolazione, dove si lega alle proteine plasmatiche o viene eliminata, principalmente dal rene.

*L'accumulo di omocisteina nel sangue ci segnala, dunque, che il processo di metilazione non sta funzionando a dovere.* Donando infatti un metile, la metionina si converte in omocisteina che poi deve essere riconvertita in metionina accettando un metile. Se quest'ultima reazione non avviene per mancanza di donatori di gruppi metile e/o di fattori di metilazione, l'omocisteina si accumula progressivamente. Questa evenienza può accadere a causa di deficit enzimatici congeniti, e in parte anche acquisiti, che riguardano gli enzimi chiave dei processi di smaltimento dell'omocisteina quali MTHFR riduttasi, la metioninasintasi e la CBS sintasi, ma non esclusivamente, comunque.

Sulla base di quanto appena detto, si può quindi affermare che l'omocisteina è un ottimo indicatore biochimico dell'efficienza della metilazione da parte delle cellule e in particolare del recupero dei gruppi metilici nel metabolismo degli amminoacidi.

Un'alterazione del processo di metilazione è stata posta in correlazione con molte malattie: dal morbo di Alzheimer ai tumori, ma in modo particolare con gli eventi cardio- e cerebrovascolari quali infarti e ictus nonché con la malattia vascolare periferica. Infatti numerosi rilievi epidemiologici hanno evidenziato una correlazione fra incidenza di eventi clinici a genesi vascolare e livelli plasmatici di omocisteina, quali trombosi venosa, manifestazioni trombo-emboliche, maggiore incidenza di malattia aterosclerotica; inoltre negli ultimi anni questa molecola è stata riconosciuta di fatto come un indicatore di ricambio cellulare e perciò direttamente coinvolta nello sviluppo dell'osteoporosi, nella degenerazione maculare dell'occhio, nel ricambio epiteliale e cutaneo.

In generale si può dire che elevati livelli plasmatici di omocisteina sono considerati un fattore di rischio indipendente di patologia vascolare e che la stessa omocisteina debba essere considerata un vero e proprio "*barometro funzionale*" a livello tissutale.

È importante sottolineare come tale correlazione sia in genere associata a valori di omocisteina plasmatica considerati, per la maggior parte dei laboratori a livello nazionale, nella fascia di normalità o comunque borderline (12-15  $\mu\text{mol/L}$ ), mentre studi molto dettagliati, peraltro pubblicati su riviste di notevole fattore d'impatto scientifico quali *Lancet*, hanno efficacemente dimostrato come già con valori pari a 10  $\mu\text{mol/L}$  l'Odd's Ratio risultava pari a 2 per il rischio cardiovascolare, che diventava pari a 4 al valore di 15  $\mu\text{mol/L}$  e uguale a 2 per il rischio di morbo di Alzheimer, a dimostrazione di come tale parametro biochimico sia molto sottovalutato a livello diagnostico. Ricordo che l'Odd's Ratio rappresenta uno degli indici utilizzati per definire il rapporto di causa-effetto tra due fattori, per esempio tra un fattore di rischio e una malattia in popolazioni esposte e no.

L'*omocisteina* è uno dei fattori in grado di danneggiare le pareti arteriose, sia in maniera diretta innescando reazioni di tipo radicalico con produzione di ROS (Reactive Oxygen Species), sia tramite la sua trasformazione in una forma lattonica, l'omocisteina tiolattone, la quale successivamente si aggrega al colesterolo LDL provocando la trasformazione dei macrofagi in cellule schiumose, primo step cruciale che porta alla disfunzione endoteliale; inoltre l'omocisteina provoca l'innalzamento del fibrinogeno, disattiva il nitrossido sottraendone la disponibilità a livello della parete vascolare e il tutto si traduce in una sinergia di eventi che determinano progressivamente l'aterotrombosi.

È importante sottolineare che, poiché il colesterolo si accumula sulle pareti delle arterie solo se queste sono state prima danneggiate, ne consegue che abbassarne il livello ematico non è poi così efficace in quanto il danno è comunque già in atto.

L'iperomocisteinemia è nella stragrande maggioranza dei casi correggibile con opportuna terapia fondamentalmente di tipo vitaminico, con l'intento di favorire la riconversione a metionina nel ciclo di rimetilazione.

Infatti se si somministrano adeguate quantità di vitamina B6 (nella sua forma biologicamente attiva piridossalfosfato o PLP), come visto in precedenza, molta dell'omocisteina prodotta viene convertita in cistationina, la quale successivamente può essere convertita in glutatione, potente scudo molecolare antiossidante cellulare, con l'intervento dell'amminoacido glicina. Questo meccanismo di detossificazione interessa circa la metà dell'omocisteina normalmente prodotta dall'organismo, mentre l'altra metà viene detossificata attraverso il processo di rimetilazione menzionato in precedenza, dove il 5-metiltetraidrofolato (MTHF), prodotto dall'acido folico, cede il suo gruppo meti-

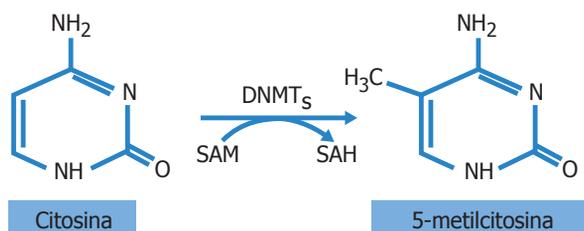
lico all'omocisteina convertendola in metionina, con l'essenziale ausilio della vitamina B12 nella sua forma biologicamente attiva ovvero la metilcobalamina.

La metionina (quindi prodotto di rimetilazione dell'omocisteina) produce elevate concentrazioni di SAM-e (S-adenosilmetionina), un antidepressivo naturale e un ottimo donatore di gruppi metilici; l'aumento di SAM-e è utile sia nella prevenzione sia nel trattamento di diversi disordini metabolici inclusi quelli causati da gravi stati di deficit organico, come avviene ad esempio nel paziente neoplastico. Costituisce comunque una forma attivata di uno degli amminoacidi essenziali, la metionina appunto, con attività antiossidante. È molto importante per il funzionamento del fegato dove impedisce un anormale accumulo di grasso e favorisce la produzione di anticorpi. Come visto, tale molecola può essere convertita in cisteina in presenza di vitamina B6.

In combinazione con inositolo e vitamine del gruppo B il SAM-e risulta di notevole aiuto per il fegato quando questo organo si trovi in uno stato di sofferenza. Inoltre, tramite le oltre cinquanta reazioni di transmetilazione sopra menzionate, partecipa alla formazione di metaboliti base quali carnitina, colina, creatina, adrenalina ecc. e interagisce con altre sostanze per disintossicare la cellula da composti nocivi. Accanto all'amminoacido metionina e alla colina, essa fornisce in tal modo i gruppi metilici alla cellula stessa e perciò entra di diritto a far parte dei cosiddetti *donatori di metile*.

## Metilazione e carcinogenesi

La metilazione del DNA consiste nell'introduzione di un gruppo metile (CH<sub>3</sub>), fornito dalla S-adenosilmetionina (SAM-e), in posizione 5' delle citosine (figura 5.1.3). Circa il 70-80% delle 5-metilcitosine si trova all'interno del dinucleotide CG (citosina-guanina).



**Figura 5.1.3** – Metilazione della citosina in 5' a opera delle DNA metiltransferasi (DNMT); il gruppo metile è donato dalla S-adenosilmetionina (SAM-e) che diventa S-adenosilomocisteina (SAH). (Modificata da: Carlita Gallo, "Metilazione del DNA", presentazione in ppt, 2013)

La metilazione del DNA è catalizzata dalle DNA metiltransferasi (DNMTs) e può avvenire attraverso due meccanismi:

- 1) la metilazione *ex novo*, che avviene durante le fasi precoci di sviluppo embrionale a opera delle DNMT di tipo 3a e 3b;
- 2) il mantenimento dello stato di metilazione, che consiste nel copiare il profilo di metilazione del filamento parentale nel nuovo filamento e avviene a opera della DNMT1, come definito dal lavoro pubblicato da Szyf (2005).

È importante che sia mantenuto il pattern di metilazione globale del genoma per il corretto funzionamento delle cellule. La maggior parte dei dinucleotidi CG presenti nel genoma si presenta in forma metilata, poiché rappresentano il substrato ideale per la metilazione in posizione 5' della citosina; diversamente invece, quelli non metilati rappresentano appena l'1-2% del DNA totale e si differenziano per il fatto di avere una distribuzione tutt'altro che casuale all'interno del genoma in quanto si trovano localizzati dentro speciali "cluster", detti *CG islands*.

Questo meccanismo verrebbe compromesso nelle cellule neoplastiche, dove infatti il pattern di metilazione di questi geni risulta invertito e può costituire un evento precoce della carcinogenesi: le *CG islands* diventano in tal modo ipermetilate, mentre il resto del DNA subisce una generale ipometilazione, contribuendo a generare instabilità a livello genomico, con conseguenze negative per il funzionamento delle cellule.

È importante anche far presente che, col passare del tempo, il DNA del nucleo cellulare perde gruppi metilici come risultato del normale invecchiamento cellulare e tale perdita è correlata allo sviluppo di diverse patologie cronico-degenerative e in ultima analisi alla durata della vita stessa. Ecco perché garantire un efficiente recupero dei gruppi metilici significa agire alla base di un ciclo di eventi biochimici fondamentale per l'integrità cellulare e perciò significa lavorare profondamente in senso preventivo circa le più importanti patologie degenerative a notevole impatto sociale, sia cardiovascolari che neurologiche.

Ad esempio, considerando una struttura con elevato potere metilante quale risulta appunto la betaina, possiamo affermare come ciascuna molecola di trimetilglicina dona tre gruppi metilici al DNA e ciò aiuta il processo di rimetilazione, e in pratica di riparazione delle molecole del DNA. In generale si può dire perciò che quest'azione costante di riparazione aiuta le cellule a rallentare il processo d'invecchiamento cellulare.

## **Le sostanze naturali utili per favorire il fisiologico controllo dei livelli di omocisteina**

### **Somministrazione di acido folico vitamina B6 e B12 e Trimetil Glicina tramite una formulazione intra-orale colloidale a elevata biodisponibilità (Cellfood® Multivitamins)**

Abbiamo appena visto come, in un organismo sano, l'*omocisteina* viene riciclata in metionina grazie sia all'attività dei cosiddetti fattori di metilazione (*vitamina B6, vitamina B12 e acido folico*) sia all'assunzione di donatori di metile alternativi alla metionina, come ad esempio la *colina* e la *betaina* (che si forma a partire dall'amminoacido glicina). Queste sostanze sono dunque indispensabili per impedire l'accumulo tissutale dell'*omocisteina* che può risultare decisamente lesivo nelle arterie.

Quando tali nutrienti vengono a mancare, l'*omocisteina* non viene riciclata in metionina, si accumula nelle arterie e, come sopra menzionato, le danneggia costituendo la lesione di base che porterà gradualmente alla formazione della placca aterosclerotica e anche ad altri tipi di danno tissutale.

La terapia più impiegata ed efficace per somministrare la vitamina B12, importante fattore metilante dal ruolo cruciale nella riconversione dell'*omocisteina* in metionina, consiste nell'iniettare la cobalamina intramuscolo a intervalli mensili oppure *somministrare direttamente la forma biologicamente attiva della vitamina, la metilcobalamina, per un'altra via che salta il tratto gastroenterico, come quella sublinguale oppure intra-orale spray nella forma colloidale.*

La *via sublinguale* è una delle vie enterali con cui può essere somministrata una sostanza come un farmaco; in alternativa a quella orale classica, il farmaco può essere posto nella regione sublinguale o tra gengiva e guancia in modo che sia assorbito nella bocca, e in quest'ultimo caso si parla di somministrazione intra-orale. Il circolo venoso sublinguale è tributario della vena cava superiore e ciò garantisce che il composto assorbito raggiunga più rapidamente il circolo sistemico saltando il metabolismo epatico. Questo comporta una rapida insorgenza dell'effetto in quanto l'assorbimento è molto rapido dato che la superficie di assorbimento risulta decisamente più sottile di quella intestinale. Lo svantaggio dell'utilizzo di questa via può essere costituito dall'incertezza del dosaggio, ma grazie a un preparato dotato di erogatore spray standardizzato è possibile adattare molto bene il dosaggio al singolo caso clinico. Inoltre una formulazione che consenta di erogare i principi attivi nella forma colloidale, con caratteristiche chimico-fisiche analoghe al plasma sanguigno, ne favorisce maggiormente la biodisponibilità a livello sistemico e in ultima analisi a livello cellulare.

Uno dei punti deboli della somministrazione della vitamina B12 è rappresentato dalla difficoltà di biodisponibilità reale della forma biologicamente attiva della vitamina, cioè la sopraccitata metilcobalamina: infatti gli studi cinetici eseguiti su volontari umani indicano che la metilcobalamina è utilizzata in modo più efficiente rispetto alla cianocobalamina per aumentare i livelli intracellulari di una delle due forme del coenzima attivo della vitamina B12 (l'altra è la adenosilcobalamina), che di fatto è la forma con la quale si opera la rimetilazione dell'omocisteina.

Gli esperimenti hanno dimostrato un assorbimento simile di metilcobalamina dopo somministrazione orale (non sublinguale però). La quantità di cobalamina individuata a seguito di una piccola dose orale di metilcobalamina è stata del tutto simile a una dose analoga di cianocobalamina, ma la cobalamina biologicamente attiva si era accumulata significativamente di più nel tessuto del fegato a seguito della somministrazione della metilcobalamina; inoltre l'escrezione urinaria di metilcobalamina è stata di circa un terzo di quella di una dose simile di cianocobalamina, indicando sostanzialmente una maggiore ritenzione a livello tissutale. Tali risultati successivamente sono stati confermati da studi di farmacocinetica comparata che hanno messo a confronto differenti tipologie di somministrazione della metilcobalamina, forma biologicamente attiva della B12 che consente la rimetilazione a livello cellulare. Da un confronto effettuato tra le varie vie di somministrazione della metilcobalamina in soggetti umani, che ha coinvolto le vie orale, nasale e sublinguale, quest'ultima ha mostrato un'elevata biodisponibilità, paragonabile a quella intranasale con la differenza che nel preparato sublinguale il tempo di mantenimento delle concentrazioni attive nel sangue risultava superiore.

Analogamente può essere detto per la via di somministrazione intraorale con la formulazione di natura colloidale: in tale contesto Cellfood® Multivitamin 100% RDA non è un semplice polivitaminico ma un integratore vitaminico a elevata biodisponibilità, in quanto ha in sé tutti gli elementi della famosa Formula Everett Storey (Deutrosulfazyme®) (tabella a p. sg.).

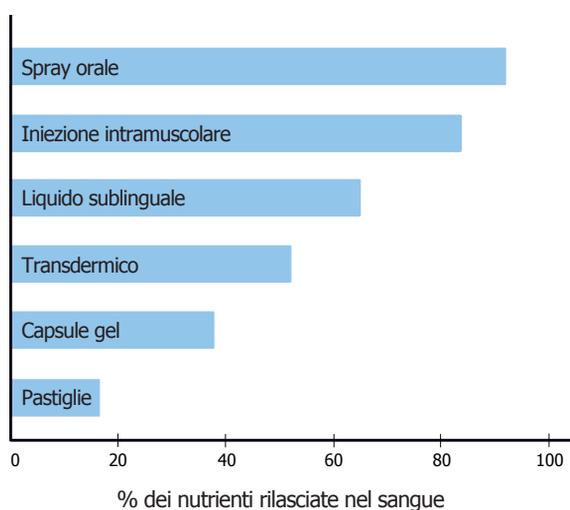
Molteplici sono i vantaggi addizionali che ne derivano, rispetto ai comuni polivitaminici. Infatti, la natura colloidale della formulazione consente un rapido e completo assorbimento e, quindi, la massima biodisponibilità dei micronutrienti, garantendo la distribuzione dei principi attivi nei vari tessuti in funzione delle reali necessità metabo-

**CELLFOOD® MULTIVITAMIN 100% RDA SPRAY.**

Vitamina A	5000 IU	100%
Vitamina C	60 mg	100%
Vitamina D	400 IU	100%
Vitamina E	30 IU	100%
Vitamina B1	1,5 mg	100%
Vitamina B2	1,7 mg	100%
Vitamina B3	20 mg	100%
Vitamina B5	10 mg	100%
Vitamina B6	2 mg	100%
Acido folico	400 mcg	100%
Vitamina B12	6 mcg	100%
Biotina	300 mcg	100%

liche e in particolare, nel nostro caso, il controllo dei livelli ematici e tissutali di omocisteina tramite la supplementazione delle tre specifiche vitamine coinvolte nel recupero del gruppo metile o nella conversione dell'omocisteina in cisteina.

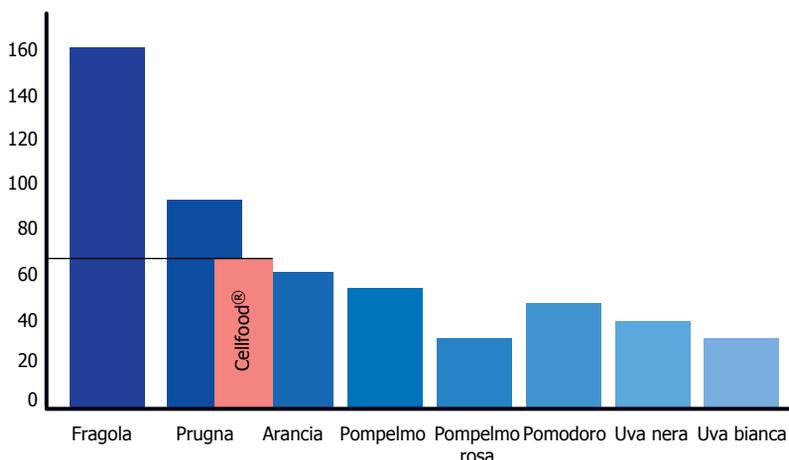
Dopo aver agitato bene il prodotto prima dell'uso, Cellfood® Multivitamin va assunto puro, orientando l'erogatore del flacone verso la base della lingua e trattenendo per circa 30 secondi il prodotto senza deglutire, onde consentirne il completo assorbimento sublinguale. Per il dosaggio a scopo preventivo si suggeriscono tre erogazioni da ripetersi due volte al giorno, idealmente prima di colazione e di pranzo.



**Figura 5.1.4** – Biodisponibilità di nutrienti in funzione della via di somministrazione (spray orale è inteso come sublinguale o intraorale nella forma colloidale). (Modificata da: *Physicians' Desk Reference Journal*, 48th ed., 1994, p. 1331)

In caso di iperomocisteinemia lieve o moderata la posologia va aumentata a 6-10 erogazioni, sempre due volte/die. Il prodotto può essere ben associato alla formula Everett Storey (Cellfood base).

Mi preme anche evidenziare il notevole potere antiossidante del prodotto valutato secondo la metodica ORAC, nella cui scala esso si inserisce di fatto ai valori più alti fra tutti gli antiossidanti presenti in natura, come è visibile nella *figura 5.1.5*.



**Figura 5.1.5** – Attività antiossidante di Cellfood® Multivitamin 100% RDA formula spray. 67,8 ORAC (micromoli di Trolox equivalenti/g per 6 spray). (Modificata da: Wang e Lin, 2000)

Per tali caratteristiche dunque il preparato è utile coadiuvante nel trattamento delle infezioni croniche, dei disturbi della sfera sessuale, delle sindromi asteniche e/o depressive e dell'affaticamento dello sportivo.

### **Cellfood® SAME gocce sublinguali: biodisponibilità comparata**

È una formulazione a base di S-adenosilmetionina (SAM-e) altamente biodisponibile. Cellfood® SAME, al contrario delle comuni formulazioni a compresse, tipo appunto il Samyr impiegato come sostanza ad attività antidepressiva, è rapidamente assorbito per via sublinguale e raggiunge in forma attiva gli organi bersaglio, in particolare il sistema nervoso centrale, senza *“passare” prima attraverso il fegato*.

Per le sue caratteristiche rappresenta una comodità posologica per trattamenti personalizzati. Infatti Cellfood® SAME, grazie alla sua formulazione in gocce, consente di adattare la posologia alle esigenze del singolo caso. Inoltre, grazie alla via sublinguale e alla presenza del Deutrosulfazyme® che per il basso pH – garantisce una maggiore stabilità chimica del principio attivo e, per la sua azione drenante sulla matrice extracellulare, la rapida diffusione della SAM agli organi bersaglio – può essere somministrato a dosaggi molto più bassi di quelli delle comuni formulazioni a compresse, con enormi vantaggi in termini di efficacia, tollerabilità e compliance.

*Cellfood SAM-e* è l'unica forma liquida di somministrazione sublinguale della S-ade-

nosilmetionina nel mondo e viene formulata in una forma stabilizzata che offre tanto quanto un tasso di assorbimento del 95%, rispetto a forme compresse e polvere le quali hanno invece tassi di assorbimento a partire dal 17%. In tale contesto possiamo affermare che 24 gocce di principio attivo corrispondono a circa 72 mg somministrati per via sublinguale, con la differenza di escludere il primo passaggio epatico, garantendo in tal modo una diffusione nella forma completamente attiva agli organi target.

Così, un dosaggio giornaliero pari a 72 mg. di SAM-e fornite in questa formula – disperse in una base colloidale di Cellfood che garantisce un sistema di erogazione ottimale – fornisce a questa formula un'efficacia equivalente a dosi di fino a quasi 400 mg. al giorno di SAMYR compresse. Per coloro che necessitano di dosi più piccole, non c'è bisogno di rompere compresse al fine di ricevere il dosaggio perfetto, come può accadere appunto per il classico SAMyr ma è sufficiente assumere un minor numero di gocce come desiderato.

Il dosaggio perciò varia in funzione della condizione clinica – da 4 a 8 gocce 3 volte al giorno o anche 12 gocce × 2 volte al dì, sempre tenendo conto che 1 goccia sublinguale equivale a 3 mg di principio attivo con assorbimento pari al 95%.

## 5.2 Il ruolo del glicocalice

Mauro Mario Mariani

Il tessuto connettivo gioca un ruolo fondamentale nella biologia cellulare in quanto fornisce supporto strutturale e metabolico agli altri tessuti. Proprio per questo motivo è stato definito anche “tessuto di supporto”.

Una delle grandi intuizioni di H. H. Reckeweg (1905-1985) (Reckeweg, 1988) fu quella di aver identificato nella detossificazione del tessuto connettivo la chiave di volta per il mantenimento o il ripristino dello stato di salute. Già negli ultimi scorci del 1800 si cominciava a indagare la matrice connettivale intesa non più e solo per la sua funzione di “tessuto di sostegno” ma come vero e proprio Sistema di Regolazione di Base, vero e proprio presupposto di un nuovo modo di pensare.

Nel 1865 il fisiologo francese Claude Bernard (1813-1878), docente presso l'università della Sorbona, annunciò la sua teoria dell'*ambiente interno*: “La fissità dell'ambiente interno costituisce la condizione in cui la vita può avvenire in maniera libera e indipendente. Tutti i meccanismi vitali hanno un unico scopo, quello di mantenere costanti le condizioni nell'ambiente interno. La costanza di un ambiente interno è la condizione per una vita libera e indipendente. Il terreno è tutto”. L'intuizione di Bernard si basava sul fatto che le variazioni esterne fossero continuamente compensate ed equilibrate. La nozione di ambiente interno va quindi di pari passo con l'idea di regolazione. Lo spazio tra l'ambiente interno e quello esterno è dato dalla matrice extracellulare.

La matrice extracellulare rappresenta e “forma” il sistema di base di tutti gli organismi, locus in cui nutrimento, controllo e gestione di tutte le cellule trovano la propria integrazione e il momento di scambio reciproco di informazioni (molecole-energia).

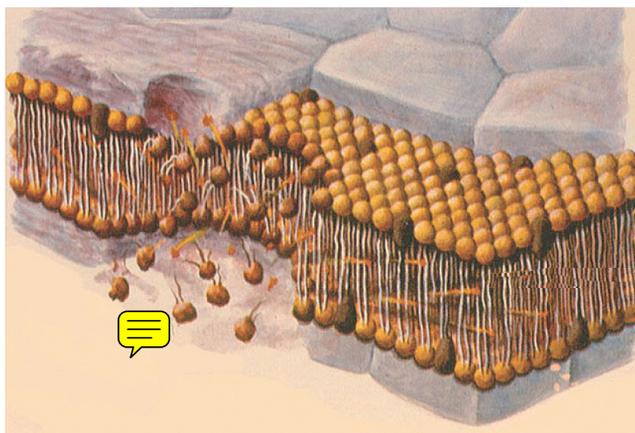
Nel 1929, Walter Cannon (1871-1945) definì con il termine *omeostasi* la tendenza dell'organismo a mantenere un disequilibrio permanente in uno “Stato Stazionario”, reso possibile da un flusso di energia in entrata e in uscita dal sistema. Recenti evidenze sperimentali indicano che le modificazioni della matrice influenzano la dinamica cellu-

lare: è enorme la quantità di informazioni che possono essere immagazzinate a questo livello e trasmesse alle cellule come istruzioni per il loro fisiologico funzionamento. L'idea di un "sistema" di regolazione, o di base, che ci possa difendere si afferma sempre più nella Medicina Fisiologica di Regolazione (MFR), non solo come presupposto a un nuovo modo di pensare semplicemente sistematico, ma a tutti i livelli della ricerca. Appare ormai evidente che ogni oggetto d'indagine, dalla singola cellula all'organismo nella sua totalità, non può più essere considerato isolatamente, ma va inserito in un contesto di scambio continuo esteso dalla matrice extracellulare all'ambiente vitale.

nota dell'autore.

Non so e non  
poso sapere se  
c'è un copyright.  
Se per l'editore  
è un problema  
togliesse pure  
la immagine

si veda an-  
che la nota  
di barbara,  
su mail



**Figura 5.2.1** – Danno alla membrana cellulare: ossidazione dei fosfolipidi [Robert Harold Knabebauer ©].

Nella Medicina Fisiologica di Regolazione (MFR) (Pischinger, 1975), dunque, la cellula va vista come elemento funzionalmente collegato alla matrice cellulare. La regolazione di base è pertanto l'espressione del corretto svolgersi di questa vitale interazione che, materialmente, avviene tra alveo circolatorio terminale, sostanza fondamentale e cellule. L'affermarsi di questo punto di vista, non solo nella teoria, ma anche nella prassi medica, può aprire nuove vie alla terapia dei disturbi funzionali, delle malattie croniche e degenerative.

Con la Medicina Fisiologica di Regolazione (MFR) si va oltre la visione statica della matrice: essa viene interpretata come la vera unità morfo-funzionale, il continuum "vaso-matrice-recettore di membrana". Uno dei cardini della Medicina Fisiologica di Regolazione (MFR) è la visione olistica dell'organismo umano inteso come un sistema complesso in cui altri sotto-sistemi, anch'essi complessi, lavorano collegati tra di loro a un livello di interdipendenza coordinato.

Il Drenaggio Biologico è un meccanismo reologico di depurazione connettivo-parenchimale, induttore di un riequilibrio ottimale per lo scambio informativo-energetico-metabolico da e verso le cellule.

Risiedono nella matrice i delicati sistemi che regolano la bilancia salute-malattia. Purtroppo, per questo suo ruolo speciale, la matrice extracellulare, cioè quello spazio esterno alle cellule immerso nella circolazione emato-linfatica, risulta essere la sede tipica di accumulo dei depositi tossici.

aspettiam  
a recuperare  
in qualche  
modo le 2  
righe, che  
magari la  
figura salta

La sua regolazione in gran parte sganciata da fattori genetici è evidentemente necessaria per la continua e variabile esposizione ai fattori ambientali fisico-chimici.

La matrice extracellulare (Albergati e Bacci, 2005), con il passare del tempo, per l'effetto combinato di fattori esogeni (radiazioni, metalli tossici, diossine, farmaci, virus, batteri) ed endogeni (determinati da incongrui stili di vita), perde progressivamente la sua integrità morfo-funzionale. L'alterazione degli scambi metabolici compromette la comunicazione tra le cellule, e i residui tossici delle attività cellulari si vanno ad accumulare innescando così un pericoloso circolo vizioso che accelera i processi degenerativi.

La matrice extracellulare è punto di arrivo, così come dei nutrienti, anche delle sostanze tossiche che lì si vanno ad accumulare. La matrice extracellulare è composta da sostanza fondamentale e fibre.

La funzione principale della sostanza fondamentale è quella di dare resistenza alla pressione (gel idratato). Quella delle fibre è di dare resistenza alla trazione. La presenza di acqua facilita il passaggio di sostanze di nutrimento e di scarto tra tessuti e sangue o linfa.

Al di là della matrice extracellulare troviamo il glicocalice, strato più esterno della membrana plasmatica cellulare.

Il glicocalice è costituito da carboidrati legati covalentemente alle proteine o ai lipidi di membrana. Ha il ruolo di proteggere la cellula e di fornire punti di ancoraggio ai recettori per il riconoscimento delle molecole segnale. Quindi risulta essere fondamentale per la comunicazione e il riconoscimento cellulare. Inoltre le glicoproteine fanno aderire le cellule fra loro (per la comunicazione reciproca) e fanno aderire la cellula al substrato.

Il glicocalice protegge la cellula da sollecitazioni meccaniche, ed esplica quest'azione nei seguenti modi:

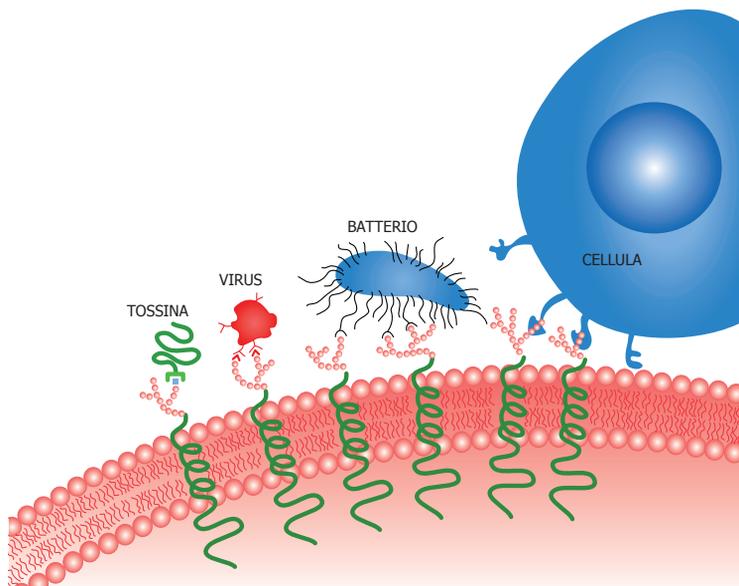
- filtra le sostanze che devono entrare nelle cellule, impedendo ad agenti nocivi di penetrare nel plasmalemma;
- favorisce l'assorbimento di metaboliti;
- favorisce l'adesione cellulare;
- è sede di catalisi enzimatica, grazie alla quale la cellula riconosce sé stessa e l'ambiente circostante, stringendo poi legami con le sue simili e utilizzando l'ambiente a suo vantaggio.

Come una vera e propria antenna, il glicocalice è in grado di riconoscere e leggere il segnale per poi trasmetterlo lungo il cilindro del citoscheletro: perché ciò avvenga, l'onda deve rendersi confrontabile dimensionalmente con l'antenna ricevente, da cui segue la necessaria riduzione della lunghezza d'onda.

Nell'ipotesi che un tossico si depositi in prossimità del glicocalice, le molecole d'acqua si strutturano modificando la propria costante dielettrica relativa. In questo caso, le onde esterne fisiologiche non si impacchettano e quindi non sono riconoscibili dal glicocalice. Di conseguenza la cellula viene privata di segnali compatibili con il proprio normale funzionamento e ciò induce uno squilibrio oscillatorio che può sfociare in scenari patologici.

Quando un tossico stressore si deposita sul glicocalice le molecole d'acqua cambiano la propria costante dielettrica: le onde elettromagnetiche non si trasformano in fotoni

L'autore dice che è "una figura originale" ... che facciamo?



**Figura 5.2.2** – Nell'ipotesi che un interferente, virus, batteri o tossina, si depositi in prossimità del glicocalice, le molecole d'acqua si strutturano modificando la propria costante dielettrica relativa. In questo caso, le onde esterne fisiologiche non si impacchettano e quindi non sono riconoscibili dal glicocalice. Di conseguenza la cellula viene privata di segnali compatibili con il proprio normale funzionamento e ciò induce uno squilibrio oscillatorio che può sfociare in scenari patologici.

e non sono riconoscibili dal glicocalice, evento patologico per non riconoscimento dei codici. Nel glicocalice avviene il passaggio di materia-informazione-energia dall'unità microvascolotessutale e interstizio connettivale alla cellula e viceversa. Pertanto, quando c'è un'alterazione della struttura del glicocalice, se non si interviene con adeguata azione, si va a compromettere il normale funzionamento cellulare (figura 5.2.2).

Per rigenerare un sistema alterato a livello di segnale occorre agire proprio in questo delicato meccanismo di equilibrio che gestisce questo comparto della cellula. Cellfood® è un integratore alimentare colloidale che contiene 78 oligoelementi in tracce, 34 enzimi, 17 amminoacidi e ossigeno disciolto e nascente, sospeso in soluzione acquosa di solfato di deuterio. È composto da sostanze naturali, pure e atossiche che vengono estratte non chimicamente, ma criogenicamente (freddo estremo). Il solfato di deuterio ha la capacità di reagire con l'acqua presente nell'organismo e allentare i legami tra gli atomi di idrogeno e di ossigeno che la compongono fino a renderli disponibili per il metabolismo cellulare. L'idrogeno liberato, sotto forma di ioni positivi, immediatamente viene utilizzato per il processo di riduzione dell'acidosi, quindi di purificazione del sistema. L'ossigeno, sotto forma di ione negativo, va, invece, a legarsi con un radicale libero dell'ossigeno (di segno positivo perché manca di un elettrone), producendo ossigeno molecolare nascente. Questa duplice azione del Cellfood® andrebbe a ristabilire la costante dielettrica delle molecole d'acqua facendo sì che le onde elettromagnetiche si trasformino in fotoni e facendo sì che possano essere riconosciute dal glicocalice liberandolo dagli stressori.

## 5.3 Il ruolo della matrice extracellulare

Pier Antonio Bacci

Correvano gli anni Ottanta quando la stella della vita mi condusse in Sicilia per un importante congresso di patologie vascolari e, nella splendida Mondello, ma certamente ancora non per meriti scientifici, ebbi la fortunata occasione di trascorrere una settimana con grandi maestri, fra i quali Gian Camillo Donadi e Robert Stemmer, personalità che avrebbero poi cambiato la mia vita, ma fu Sergio Bertini Curri a lasciarmi un'impronta che sarebbe diventata indelebile, nella curiosità per i segreti della vita.

Del professor Curri ben ricordo un aneddoto: *Caro Bacci* – mi disse all'aeroporto prima di partire – *tu sei un giovane medico, e con la tua giovane sposa ora vai a tutti i congressi pagando ogni cosa con sacrificio. Se continuerai a impegnarti verrà il tempo che qualcuno ti inviterà, prima permettendoti di parlare nelle sessioni di comunicazioni libere, poi offrendoti l'albergo, poi il viaggio, infine richiedendoti moderazioni e letture magistrali. Tu sarai sempre più orgoglioso e non sentirai più il sacrificio, ma dopo poco ti accorgerai di avere trascurato, per la curiosità della scienza, la tua famiglia, gli amici e di aver messo i capelli bianchi. L'unica soddisfazione, unica ma impareggiabile, potrai provarla nel momento in cui troverai qualcuno che ti riconoscerà come suo maestro, di scienza e di vita, perché colui che sa ha il dovere e il piacere di diffondere il proprio sapere, che non è frutto dell'informazione ma dell'esperienza.*

Assieme alle tante nozioni di fisiologia, istologia e microcircolazione che avevo assimilato, quelle parole sono rimaste incise dentro di me e hanno costituito il fuoco dell'entusiasmo utilizzato nel 2004 per la stesura del libro *La matrice interstiziale*, con Francesco Albergati, erede del professor Curri: un libro scritto con fatica e imbarazzo, perché per Albergati la matrice era già ragione di vita, per me era invece un immenso sforzo conoscitivo sostenuto da una grande curiosità per quel complesso micromondo che costituisce la base della vita.

Studiare la matrice significa studiare la vita della cellula e della sostanza fondamentale che la contiene, permettendo la nostra vita e la vita stessa. È uno studio talvolta ai limiti della scienza, ma quando il medico, il poeta e il filosofo si incontrano è sempre un grande giorno, poiché *Vivere non necesse, navigare necesse est!*, come afferma Plutarco.

Senza dimenticare gli scritti di *Pishinger* e altri autori, si potrebbe dire che il concetto di *matrice extracellulare* è un'invenzione del tutto pisana, legata alla grande scuola universitaria di Marcello Comel. Fu lui che per primo parlò di *istangio*, con questo termine volendo intendere tutto quel mondo che è vicino e al di là della struttura microvasale, un concetto che venne poi ripreso dalla scuola fiorentina di Franco Pratesi attraverso il concetto di *rapporti microvascolotessutali*.

Fu però Sergio Bertini Curri, grande esperto istologo, che per decenni, "voce nel deserto, si impegnò a divulgare l'importanza del connettivo interstiziale non solo nel determinare gli scambi metabolici tra microvasi e tessuti, ma nel consentire una normale vasomotilità microvasale indispensabile alla sua stessa sopravvivenza, sostenendo nel frattempo che le alterazioni patologiche trovano la loro origine nel "microangio" per poi svilupparsi nel "macro", attraverso le connessioni e le attività presenti nell'*interstizio matriciale*.

Nella scienza, così come nella vita, esistono momenti che richiedono la revisione di tutto il passato; è proprio in questi momenti che un sincero e profondo disagio, per non

dire depressione, si impadronisce di noi medici curiosi. In questi precisi istanti, infatti, ci rendiamo conto di quanto il nostro "sapere", faticosamente conquistato attraverso anni e anni di studio, è assolutamente insufficiente e inadeguato anche a fronteggiare le richieste del nostro quotidiano lavoro medico, soprattutto quando abbiamo la percezione di quali e quante siano le cause che intervengono nella genesi e nel mantenimento di una determinata patologia. Questo malessere ci sfianca l'animo fino al punto di ammettere che troppo spesso poco sappiamo di quanto il paziente ci riferisce con estrema semplicità e sintesi, dato che la conoscenza è in continuo divenire, sia per la cellula, che è il vero "nocciolo" di tutti i problemi, sia per quello che le sta attorno, con la medesima dignità di quello che sta dentro alla cellula stessa, in quanto espressione vivente di una continuità biologica che trova la sua ragione di esistere nel concetto di *funzione*.

## Cellula e matrice

Le cellule rappresentano le unità funzionali di tutti gli organismi viventi in virtù della loro precisa organizzazione strutturale; possiedono infatti complicatissimi sistemi biochimici e molecolari, complessamente organizzati e altamente sofisticati, capaci di espletare molteplici funzioni spesso tra loro antitetiche. Queste funzioni garantiscono la sopravvivenza alla cellula medesima, ma soprattutto la vita biologica dell'organismo e la trasmissione della specie, in uno straordinario esempio di *funzionalità naturale* che dimostra come la Natura sia in grado tanto di organizzare gli elementi costitutivi dei tessuti quanto di predisporli in senso funzionale con un preciso e mutevole adattamento in risposta ai differenti cambiamenti biologici che avvengono a ogni secondo nell'organismo vivente.

Le cellule rappresentano quindi le unità strutturali di ogni organismo vivente e, per poter agire in tal senso, è fondamentale che le cellule vengano disposte in precise e ben determinate strutture: i tessuti.

Ciò che ancor più stupisce è il considerare che le cellule devono essere *compartimentate* per poter svolgere funzioni spesso tra loro antitetiche e opposte, sempre comunque mirate alla loro attività funzionale singola e di gruppo: tale compartimentazione deve necessariamente basarsi su precise *reazioni biologico-molecolari* che avvengono in zone tra loro distinte e separate, pena l'immediata morte cellulare.

Dentro le cellule eucariote le membrane delimitano e differenziano un numero enorme di organelli che non sono rappresentati solamente dal nucleo, dai mitocondri e dai cloroplasti, questi ultimi presenti specificamente nelle cellule delle piante e delle alghe e con struttura ancor più complessa dei mitocondri (con il compito specifico di utilizzare l'energia solare per garantire la vita alla cellula medesima mediante la fotosintesi): il citoplasma contiene infatti una vera e propria miriade di altri organelli, per lo più racchiusi da una membrana semplice, che svolgono moltissime funzioni distinte.

Basti pensare ai *perossisomi*, che sono organelli sotto forma di vescicolette rivestite di membrana dove avvengono specifiche, isolate reazioni in cui si produce e viene inattivato il perossido di idrogeno, letale per la cellula medesima se viene in contatto con l'intero reticolo endoplasmatico.

Tutte le membrane biologiche cellulari contengono sia molecole lipidiche che molecole proteiche, oltre a carboidrati sotto forma di gruppi chimici, facenti parte della famiglia dei glicolipidi e delle glicoproteine. La fluidità della membrana cellulare è vitale per la cellula per un'infinità di ragioni, tra tutte: la diffusione transmembranosa di proteine e la

loro interazione, con conseguente possibilità di innesco dei meccanismi di segnalazione sia a livello intracellulare che intercellulare, una volta ritornate nella matrice extracellulare; la dispersione e distribuzione intermembranosa di lipidi e proteine neosintetizzate; la fusione sinciziale di diverse membrane; la miscelazione di differenti molecole; i processi sia di mitosi che di meiosi.

Ecco che la matrice extracellulare o interstiziale presenta un ruolo essenziale nella vita della cellula e di tutto l'organismo e potrebbe essere paragonabile a un ultracompresso network in cui sia le proteine sia la rete composta da PGs e GAGs forniscono, tra le tante attività, anche funzioni di supporto strutturale e di regolazione per l'espressione di ogni attività tessutale.

Una delle caratteristiche essenziali della matrice è la sua "dinamicità". Infatti, l'omeostasi delle strutture matriciali extracellulari è requisito cardine per ogni corretta funzione cellulare che, a sua volta, si basa sulla caratteristica struttura "a mosaico fluido" della medesima cellula. In altri termini, le continue modificazioni strutturali cellulari avvengono in virtù non solo della presenza delle strutture extracellulari ma anche della "plasticità" delle medesime.

In sintesi, la matrice extracellulare, così come la cellula, va considerata come una struttura in perenne e costante rimodellamento morfo-funzionale, sia in condizioni fisiologiche che patologiche, grazie alla degradazione e alla sintesi della medesima operata da precise strutture a ciò specificamente predisposte, situazioni che alterano la capacità di reazione della stessa matrice per agenti *ipossico-ischemici* durante il corso di ipossiemia tessutale cronica.

E anche la capacità di *neoangiogenesi tessutale* o *attività riparativa* tessutale spesso è ridotta in casi di ipossiemia tessutale. Appare così essenziale la presenza dell'ossigeno e la capacità di utilizzazione dello stesso, assieme all'omeostasi matriciale relativa ai sistemi redox, al pH e alla quantità di sostanze tossiche.

Anche l'invecchiamento cellulare e tessutale è associato alla riduzione dell'ossigenazione cellulare e della respirazione mitocondriale, alla concentrazione plasmatica dei fisiologici antiossidanti come il glutatione, con notevoli incrementi dei "markers" dei danni ossidativi, come i prodotti dei processi di lipo-perossidazione.

Non è difficile affermare che la società occidentale è caratterizzata da eccesso alimentare glucidico e aumentato apporto esogeno di estrogeni. Clinicamente, questa situazione è evidenziata da un'alterazione dei processi di depurazione dell'organismo, in particolare a livello della matrice interstiziale con aumento dell'ossidazione cellulare, dei radicali liberi, della lipogenesi sottocutanea e del deposito di metalli pesanti che vanno a interferire con i normali scambi metabolici vitali di base.

La ripetitività di queste alterazioni potrebbe essere la causa delle patologie degenerative e croniche, e il momento patogenetico più importante potrebbe trovarsi nell'alterazione della regolazione dell'acqua e dell'energia a livello interstiziale, con squilibrio tra il metabolismo della cellula e dell'adipocita con formazione di linfa, quindi un'alterazione di quel sistema linfodiposo che sembra essere il vero regolatore metabolico tessutale.

## Ossigeno e acqua

I premi Nobel 2003 per la Chimica conferiti agli americani Agree e Mac Kinnon hanno portato alla scoperta degli *idroelettropori*, quei canali acquosi che, come delle fisiologiche

porte, si aprono fra cellule e mondo esterno in modo spontaneo o provocato, permettendo gli scambi di sali, acqua e molecole.

Questi canali acquosi offrono alla stessa sostanza fondamentale la possibilità di cambiare il proprio status fisico, adattandosi ai vari comparti e alle differenti finalità. La matrice extracellulare è una sostanza fondamentale e vitale per gli scambi metabolici cellulari, un tipo di materia composita e viva che, pur variando spesso il proprio status da "sol" a "gel", resta pur sempre una specie di un mare interno, ricco, molto complesso e molto sensibile alle alterazioni prodotte dalle variazioni dei fenomeni funzionali di base, come l'ipossia, le tossicosi intestinali, le alterate fasi di depurazione epatorenale, le acidificazioni, le alterazioni vascolari o dei sistemi di ossidoriduzione.

La matrice interstiziale rappresenta la madre delle reazioni vitali, è il luogo dove avvengono gli scambi fra energia e materia, ma queste affermazioni ci riportano a quanto afferma Einstein, quando dice che "la luce può generare la materia".

E che cosa è la luce se non energia meccanica ed elettromagnetica?

Nella cellula l'energia si forma coniugando sapientemente ossigeno e glucosio nel mitocondrio, mentre in ogni tessuto esiste un sistema di regolazione di base che interreagisce tra il sistema microcircolatorio arterioso-venulare, il sistema di depurazione linfatico, le vie nervose simpatiche, parasimpatiche e viscerali e il tessuto adiposo, avendo come ambiente e come strumento di informazione il fluido interstiziale.

Questi scambi e queste informazioni possono attuarsi e interreagire a livello locale o sistemico, sfruttando messaggi sia biochimici sia biofisici ed elettromagnetici, cioè utilizzando le varie forme di energia. Tutto avviene come nel mare, dove i vari organismi e i differenti ambienti hanno una stretta correlazione con l'acqua marina nella sua complessità.

## Il mare interno

Noi sappiamo che l'acqua di mare costituisce il sistema principale di regolazione di una singola cellula degli organismi multicellulari. La composizione ionica dello spazio interstiziale extracellulare costituisce una sostanza fondamentale che non solo permette gli scambi e la vita, ma agisce anche sull'espressività genica di ogni cellula.

Per trovare la vita, l'uomo non cerca la terra ma cerca l'acqua, dove c'è acqua c'è ossigeno, quindi là è possibile la vita. Come la bellezza, la vita nasce da quel mare che non deve essere considerato soltanto una vasta distesa d'acqua, ma un vero e proprio sistema biologico aperto da un punto di vista nutrizionale-energetico, dove è possibile scambiare energia e materia con il proprio ambiente.

Un mare interno che deve essere considerato un "eterno liquido amniotico", custode e messaggero dei segreti della vita, contenitore e controllore degli scambi vitali di base: ma sarebbe riduttivo ed errato considerare il mare soltanto H<sub>2</sub>O.

Sapendo che tutte le molecole presentano una rotazione e una vibrazione propria, e che molte patologie croniche e degenerative sono caratterizzate proprio dall'alterazione di queste vibrazioni, ne risulta che proprio su questa tipica attività si basano molte scelte terapeutiche di tipo fisico.

Alcune patologie croniche e degenerative che, almeno all'inizio, possono essere caratterizzate dall'alterazione dello stato fisico-energetico delle molecole, sono le degenerazioni artrosiche, le contratture e le tensioni muscolari, la tensione cervicale, le tensioni

muscolari da disbiosi intestinali e disfunzioni del tratto digestivo, le cardiopatie e le malattie vascolari, le mesenchimopatie, le sindromi da ritenzione idrica e, nella donna, le sindromi cellulitiche e lipodistrofiche caratterizzate da dolore e stasi venolinfatica. Chissà, forse anche alcune espressioni neoplastiche.

Infatti, se è vero che l'organismo necessita di sostanze chimiche di base (come amminoacidi, oligoelementi, vitamine, sali, acqua e così via) per costruire proteine, collagene, elastina, mucopolisaccaridi e tutti gli altri elementi, è soprattutto vero che la matrice interstiziale soggiace a leggi fisiche di tipo elettromagnetico per mantenere il suo stato naturale di "sol" e fare circolare quell'energia che rappresenta il motore principale di tutti gli scambi cellulari e tessutali di base e che si caratterizza proprio in quella propria e particolare vibrazione e rotazione delle molecole e degli elettroni: ma il tutto necessita di ossigeno.

Le alterazioni fisico-energetiche, associandosi ad alterazioni biochimiche, a questo livello innescano le malattie degenerative e croniche, molto probabilmente rispondendo con un *momento infiammatorio* ad alterazioni chimico-fisiche (fra cui ipossia, ossidazione, acidità, temperatura ecc.), favorendo poi una risposta di *tipo degenerativo* con le alterazioni delle metalloproteasi.

Uno dei più importanti e recenti concetti nella terapia delle malattie degenerative in genere è l'intuizione di agire in modo integrato per "contrastare" la patologia sia dall'interno, con la fornitura di sostanze nutrizionali essenziali e riequilibratrici dell'equilibrio acido-basico e ossidativo, sia dall'esterno, per agire, e non soltanto a livello topico, in modo fisico e meccanico, proprio su quel terreno sofferente che rappresenta lo stesso substrato che la alimenta e la peggiora inesorabilmente con il trascorrere del tempo e che, nell'evoluzione della patologia, chiama sempre in causa:

- 1) la perdita della fluidità delle membrane cellulari con una diminuzione della loro capacità di sintesi proteica e graduale inattivazione dei recettori di membrana e aumento dei processi ossidativi;
- 2) la riduzione della microcircolazione arteriolare con riduzione della temperatura dermoepidermica rispetto alla temperatura viscerale profonda;
- 3) il rallentamento della microcircolazione linfo-venosa;
- 4) le alterazioni metabolico-strutturali del tessuto connettivo;
- 5) le alterazioni metaboliche a livello dei recettori dell'insulina, degli estrogeni e del calcio che si trovano sulla membrana degli adipociti.

La salute dell'Uomo dipende dall'equilibrio dei meccanismi di regolazione fisica e chimica tessutale, dove l'equilibrio acido-base e i sistemi di ossidoriduzione giocano un ruolo importante ed essenziale. Molte malattie croniche e degenerative sono caratterizzate da ipossia, tendenza all'acidosi e all'aumento dei radicali liberi, per questo occorre cercare di mantenere l'organismo in uno stato di equilibrio fisiologico, sia sistemico che locale.

Ecco tutta l'importanza della semeiotica clinica, quella ufficiale ben descritta nei sacri testi, come il *Lenzi-Caniggia*, il *Basile-Dionigi* o il *Dioguardi-Sanna*, riscoprendo semplici ma essenziali valutazioni cliniche, come il colore della pelle, la superficie cutanea, la tonicità cutanea, i capelli, le unghie, le sclere, le congiuntive, la bocca, la lingua, i polsi vascolari o l'auscultazione della respirazione o della cardiocircolazione.

Occorre ripensare all'evoluzione dei lipolinfedemi che iniziano con una deposizione di zuccheri nel glicocalice della membrana cellulare e un eccesso di radicali liberi con ten-

denza all'acidità tissutale che, se non corretta, porta a un rallentamento del metabolismo. L'acqua arrivata per lavare le macromolecole dai tessuti diventa linfa che, ristagnando, aumenta l'acidosi e le alterazioni ossidative con spasmo della microcircolazione arteriolare e ipossia cellulare. Aumentano così le scorie tissutali con rallentata ossigenazione, mancanza di depurazione e aumento dei processi anaerobici, che portano ulteriori prodotti terminali acidi che attivano la risposta infiammatoria con conseguente insufficienza venulolinfatica, alterazione delle metalloproteasi, connettivizzazione e fibrosi tissutale.

Praticamente quasi tutte le malattie croniche e degenerative iniziano con ipossia cellulare e alterazione della matrice interstiziale, in quel mondo che fino a poco tempo fa era indefinito o riferito come "virtuale e passivo", ma, come affermava il professor Curri, "ogni tanto la Natura si diverte a scoprire i suoi veli".

Le attuali tendenze conoscitive hanno trasformato la patologia medica, e quelle fantastiche "intuizioni" sono diventate realtà definite, anche nell'esaltazione di quel mare interno fatto di una particolare acqua, eterna e invariabile nella sostanza, ma che cambia e adatta il suo stato fisico a seconda dei dipartimenti e delle necessità, finendo così per costituire la vera sostanza fondamentale dell'organismo, capace di permettere scambi metabolici, di trasmettere informazioni, nutrizione ed energia, capace di fare vivere le nostre cellule, forse capace di trasmettere la vita: un'acqua fatta di ossigeno, elemento base vitale, e idrogeno, il nostro deacidificante fisiologico, ma che contiene tutti gli elementi essenziali.

Se crediamo in queste basi fisiopatologiche dobbiamo agire di conseguenza, soprattutto in fase preventiva, attuando periodicamente schemi nutrizionali deacidificanti, utilizzando dieta e stile di vita vascolarizzanti e non acidificanti, adottando un movimento idoneo al nostro corpo per mantenere integre le capacità respiratorie e circolatorie, integrando l'alimentazione con sostegni minerali, vitaminici o nutrizionali per la cellula.

### **Il ruolo di Cellfood®**

La richiesta di partecipare alla realizzazione di un volume pieno di riflessioni e considerazioni personali, magari fuori da schemi ufficiali e senza una significatività di ricerca, ma con un'onesta presentazione di considerazioni ed esperienze, mi ha portato a riprendere quel volume sulla matrice interstiziale che era stato l'oggetto di tanti notte insonni agli inizi degli anni Duemila.

Ho riportato e riflettuto su alcune frasi prese da quelle pagine che anche oggi hanno la loro valenza, magari allora erano più frutto di sensazioni cliniche mentre oggi sono realtà dimostrate.

Nella mia quotidiana attività, basata soprattutto sulla diagnosi e la cura di patologie flebolinfatiche, dell'invecchiamento e del sovrappeso, viste anche nell'aspetto estetico, ogni schema terapeutico parte sempre con un protocollo che io ho definito *VARTAM* (*Vascular and Respiratory Treatment for Mitochondrial Activity*), un protocollo che inizia sempre con alcuni giorni di nutrizione deacidificante, mentre si pratica una fisioterapia rilassante e vascolarizzante sostenuta da supporti alimentari utili per la cellula: il *Cellfood* è uno di questi, per la sua dimostrata capacità di attivare la respirazione mitocondriocellulare fornendo ossigeno dall'acqua, divenendo così un'insostituibile presidio di prevenzione dell'ipossia cellulare, ma anche un valido supporto in tutte le terapie mirate a stimolare i processi rigeneratori cellulo-tessutali.

## 5.4 La tossicità da alluminio e il silicio colloidale

*Sante Guido Zanella*

Il nostro corpo ogni giorno viene bombardato da numerosi inquinanti provenienti dai gas di scarico degli autoveicoli e dal riscaldamento delle abitazioni (Passerini et al., 2005), cibi (Amirah et al., 2013) e acqua contaminata (Smith et al., 2000), farmaci (Altschuler, 1999), prodotti per l'igiene di uso quotidiano, fumo attivo e passivo (Exley, Begum et al., 2006).

La maggior parte di queste sostanze, una volta penetrata nel nostro corpo, non viene inattivata ed eliminata correttamente, soprattutto nei soggetti con ridotte capacità detossificanti.

Il fegato è l'organo principale per la detossificazione di queste molecole. La detossificazione epatica avviene mediante processi di scomposizione, inattivazione ed eliminazione delle tossine. Con il passare degli anni la capacità detossificante rallenta e l'esposizione alle sostanze tossiche diviene sempre più pericolosa.

Nei processi di detossificazione, il glutatone, molecola costituita da tre amminoacidi (acido glutammico, glicina e cisteina), svolge un ruolo chiave (Morris et al., 2014).

Il glutatone viene sintetizzato soprattutto a livello epatico e muscolare; è il più potente detossificante e antiossidante prodotto dal corpo.

Con l'avanzare dell'età o in caso di esposizione prolungata a tossine, le riserve di glutatone si esauriscono predisponendo il paziente a gravi patologie da accumulo di sostanze tossiche.

Numerosi alimenti e integratori possono supportare la capacità detossificante epatica (Madrigal-Santillan et al., 2014). Tra i primi ricordiamo gli acidi grassi essenziali, la verdura fresca, soprattutto ortaggi della famiglia delle crucifere, agrumi, aglio, cipolla e frutta secca. Per quanto riguarda gli integratori ricordiamo il cardo mariano, il CoQ10, l'acido folico e il magnesio.

Cellfood® SAME gocce sublinguali può essere di aiuto nei processi di detossificazione per la sua azione sul metabolismo epatico. Il SAME infatti dona gruppi metile alle cellule con conseguente miglioramento della detossificazione epatica. Viene facilmente assorbito grazie alla somministrazione per via sublinguale.

### L'alluminio

Tra le varie sostanze tossiche a cui siamo quotidianamente esposti, l'alluminio è uno dei metalli tossici più frequentemente implicato nello sviluppo di patologie neurodegenerative (Kawahara et al., 2011). È infatti una neurotossina e non svolge alcuna azione utile conosciuta per il corpo umano. Non si trova mai in natura allo stato libero bensì sotto forma di composti.

La bauxite è il minerale che ne contiene la maggior quantità e da questa viene estratto con un procedimento alquanto complesso e inquinante.

L'alluminio penetra all'interno dell'organismo mediante cibi, aria, acqua, prodotti per l'igiene di uso quotidiano, farmaci, fumo; l'accumulo nel corpo predispone a gravi patologie neurodegenerative quali Alzheimer, Parkinson, sclerosi laterale amiotrofica (SLA), demenza, sclerosi multipla (Exley, 2014).

L'alluminio può interferire con oltre 200 reazioni biologiche del nostro organismo generando una vasta gamma di sintomi spesso di non facile interpretazione: è infatti in

grado di interferire con il trasporto assonale, con la sintesi di neurotrasmettitori, con la trasmissione sinaptica, con la fosforilazione proteica e con l'espressione genica potendo alterare i gruppi fosfati di DNA, RNA e ATP. L'alluminio determina inoltre morte apoptotica di neuroni e cellule gliali.

Può anche attraversare la barriera ematoencefalica depositandosi in grande quantità a livello del cervello.

I sintomi più comuni da intossicazione da alluminio sono:

- patologie neurodegenerative quali Alzheimer, Parkinson, Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), Sclerosi Multipla, Sindrome Chimica Multipla (MCS);
- encefalopatia da dialisi: tremori, convulsioni, psicosi, disturbi del linguaggio;
- osteomalacia;
- anemia;
- cefalea;
- eccessiva sudorazione;
- fibromialgia;
- tremori;
- andatura instabile;
- eruzioni cutanee e prurito;
- intorpidimenti.

La diagnosi di intossicazione da alluminio viene effettuata mediante test di chelazione (Crinnion, 2009), che consiste nel confronto tra i valori di alluminio nelle urine prima e dopo la somministrazione di un agente chelante (terapia chelante) (Chappell, 1997).

Medico ZANELLA

Esame	Risultato	Unità	Valori di riferimento
<b>Dosaggi urinari</b>			
Creatinuria gr./l			<b>0.9-1.9</b>
<b>1° CAMPIONE: 0,45 g/l</b>			
<b>2° CAMPIONE: 0,92 g/l</b>			
ALLUMINIO URINARIO 1° CAMPIONE mcg/l spettrometria in assorbimento atomico	<b>2,91</b>		<b>Fino a 20</b>
ALLUMINIO URINARIO 2° CAMPIONE mcg/l spettrometria in assorbimento atomico	<b>168,5</b>		<b>Fino a 20</b>

Medico ZANELLA

Esame	Risultato	Unità	Valori di riferimento
<b>Dosaggi urinari</b>			
Creatinuria gr./l			<b>0.9-1.9</b>
<b>1° CAMPIONE: 1,16 g/l</b>			
<b>2° CAMPIONE: 0,98 g/l</b>			
ALLUMINIO URINARIO 1° CAMPIONE mcg/l spettrometria in assorbimento atomico	<b>5,54</b>		<b>Fino a 20</b>
ALLUMINIO URINARIO 2° CAMPIONE mcg/l spettrometria in assorbimento atomico	<b>186,5</b>		<b>Fino a 20</b>

Esempi di test di chelazione pre e post somministrazione di agente chelante.

Gli agenti chelanti (EDTA, DMSA) sono sostanze in grado di complessare i metalli tossici attirandoli all'interno della loro struttura, inattivandoli ed eliminandoli infine con le urine.

Il dosaggio dei metalli tossici senza l'utilizzo dei chelanti è assolutamente inattendibile e sottostima enormemente il reale carico tossico poiché i metalli si accumulano negli organi e tessuti e non rimangono liberi nel sangue se non per qualche giorno.

Negli ultimi anni ho sottoposto a dosaggio dei MT numerosi pazienti affetti da sclerosi multipla, patologia a eziologia ancora in gran parte sconosciuta che colpisce prevalentemente giovani di età compresa tra i 20 e i 40 anni. Il 100% dei pazienti testati hanno evidenziato intossicazione da alluminio (Exley, Mamutse et al., 2006) e da altri metalli neurotossici confermandone la concausa eziologica ambientale (Zanella et al., 2013).

## Il silicio

È l'elemento più diffuso sulla terra dopo l'ossigeno. Nel corpo umano si trova soprattutto a livello dei tessuti connettivi, osso e cartilagine in primis.

Il silicio diminuisce con l'età soprattutto nel sesso femminile, ed è scarsamente assimilabile, mentre la forma ultra colloidale del Silica Plus formato da particelle microscopiche ne facilita l'assorbimento.

Il silicio colloidale (Silica gocce) è indispensabile per la formazione e il mantenimento di varie strutture corporee tra cui connettivo, denti, gengive, ossa, cartilagine, capelli, potenziando le difese immunitarie e aumenta l'elasticità dei vasi.

Essendo il silicio un antagonista dell'alluminio, ne è stato ipotizzato l'utilizzo per prevenire la deposizione di alluminio nei tessuti corporei e per facilitarne l'eliminazione (Exley, Korchazhkina et al., 2006).

## 5.5 Nuovi paradigmi in odontoiatria: la tossicità da fluoro, da amalgama, metalli endorali e denti deitalizzati

Raimondo Pische

"Primum non nocere!", l'aforisma presente nel *Corpus Ippocraticus*, riprende in realtà l'espressione più vaga contenuta nel Giuramento di Ippocrate di Coos, che rappresenta la guida etica e deontologica del Medico e che semplicemente sottolineava l'impegno ad "astenersi dal produrre danno".

"L'arte è lunga, la vita è breve" affermava Ippocrate, ricordando come l'arte del curare è figlia di uomini che sono votati alla cura di altri uomini, e l'essenza della sua dottrina che separava la Medicina dalla religione e dalla magia è rappresentata dall'affermazione di come la salute derivi dall'equilibrio dei quattro componenti della natura umana (acqua, terra, fuoco e aria).

Ritengo che dovremmo ritrovare le fondamenta della nostra professione proprio negli equilibri naturali del corpo umano, nella sua integrazione armonica con le leggi universali, nel rispetto verso il dono della salute che non può prescindere dal buon senso e dalla saggezza antica delle nostre radici di terapeuti.

Anacronistico forse il riferimento ai quattro elementi intesi come fine a se stessi, ma assolutamente attuale l'interpretazione della scienza medica che non può prescindere dai coinvolgimenti e sconvolgimenti sociali e ambientali, dalla valutazione che genetica ed epigenetica non sono mondi separati ma linee una volta parallele che oggi stanno con-

giungendosi proprio perché è diventata estremamente condizionante l'interferenza delle situazioni ambientali nella genesi delle malattie, soprattutto quelle cronico-degenerative.

E proprio la Medicina non è esente da colpe.

L'exasperato ricorso alla chimica e alla farmacologia spinta, all'accanito tecnicismo, ha allontanato il medico dal paziente per portarlo solo al capezzale della malattia.

Nel 2013 Daniel Sokol, sul *British Medical Journal*, ha fornito un'interpretazione più moderna dell'aforisma ippocratico: *First do no net harm*, che può suonare come "per prima cosa non nuocere più di quanto tu possa aiutare". Fondamentalmente il medico dev'essere in grado di valutare il bilanciamento fra i benefici apportati e i danni arrecati con le proprie terapie e, perché no, indagini diagnostiche.

Sorge allora spontanea la domanda: "Siamo certi, noi operatori del settore odontoiatrico, che le nostre scelte, le nostre procedure, i materiali che utilizziamo rispondano ai principi di non causalità, ai doveri deontologici che impongono l'attenzione alla salute generale piuttosto che alla soluzione tecnica di un determinato problema?"

Solo chi ha fatto della conoscenza (e della competenza tecnica) l'unica arma nell'approccio professionale, tralasciando la consapevolezza del proprio ruolo e dei propri atti, può rispondere in modo affermativo.

L'odontoiatria rappresenta la specializzazione medica che permette il confronto con il maggior numero di persone, sia per la diffusione delle patologie orali, sia perché sono 32 gli organi e le relative strutture di sostegno da curare nella bocca delle persone, e soprattutto perché molteplici sono le correlazioni in termini disfunzionali (per esempio posturali e dell'ATM) e di coinvolgimento in sindromi dolorose associate e patologie riferite alla bocca e ai denti. Sempre più infatti si vanno affermando i concetti di relazione denti-organi-tessuti-apparati-muscoli secondo quanto affermato dai principi della Medicina e Odontoiatria Biologica, che vede i denti come fusibili in grado di far saltare l'intero sistema (anatomico, fisiologico, funzionale ed energetico) a essi collegato anche se posto a grande distanza nell'organismo.

È dunque consequenziale valutare come le manovre effettuate nella bocca possano essere spesso fonte di malattia piuttosto che di guarigione: ciò non deve spaventare o offendere il dentista, ma semplicemente far riflettere, in maniera obiettiva e distaccata, su alcuni dei capisaldi che da sempre hanno caratterizzato e sostenuto di certezze la professione odontoiatrica.

Da anni affermo il nuovo paradigma della medicina che dai virus e batteri essa deve passare a considerare in misura più approfondita sostanze chimiche e metalli pesanti. E, purtroppo, l'odontoiatria, in questa impostazione concettuale, riveste un ruolo molto importante e spesso non terapeutico ma di danno iatrogeno, dimenticando che la parola d'ordine è "Rispetto Biologico!"

Sono fondamentalmente quattro i capitoli che pongono la classe odontoiatrica e, di conseguenza, i pazienti di fronte a interrogativi e riflessioni: *fluoro, denti devitalizzati, amalgama, metalli endorali*. La bocca rappresenta infatti l'ambiente in cui si realizzano complesse reazioni biochimiche che possono essere alterate da interventi odontoiatrici con tecniche, sostanze e materiali non rispettosi e relativamente compatibili con gli equilibri biologici che, una volta modificati e innescati i processi legati allo stress ossidativo, possono sfociare in semplici intolleranze o allergie fino a patologie di carattere auto-immune o cronico-degenerativo.

## Fluoro

Nel 2003 l'FDA americana ha riconosciuto la pericolosità del fluoro nei dentifrici. Questi ultimi devono recare le scritte "in caso di ingestione accidentale rivolgersi al proprio medico o contattare un centro anti-veleni" e "bambini sotto i sei anni dovranno essere supervisionati da un adulto al fine di evitare l'ingestione del dentifricio fluorato".

Come già riportato dai lavori di Lorenzo Acerra (2000) e Giorgio Petrucci (2004), il "problema fluoro" cominciò nel 1931 quando, dopo anni di segnalazioni, Trendley Dean, della sezione dentale del servizio americano di sanità pubblica, fu inviato in Texas a verificare la relazione fra denti scuri e macchiati e acque ricche di fluoro. Egli chiamò fluorosi questa malattia, ma verificò anche la resistenza alla carie di questi denti: la fluorapatite era più dura dell'idrossiapatite nei prismi di smalto (in realtà fu poi visto che tale irrigidimento della struttura rendeva più fragile non solo i denti ma anche le ossa e facilitava l'osteoporosi...).

Nel 1939 Gerard J. Cox, biochimico dell'istituto di ricerche Mellon, dopo aver somministrato fluoruro ai topi descrivendone la maggior resistenza alla carie, suggerì addirittura la fluorizzazione delle acque.

Già in quegli anni lo smaltimento dei rifiuti di lavorazione dell'alluminio contenenti fluoro era molto costoso: il fluoro era però indispensabile per l'industria dell'alluminio e l'alluminio era indispensabile nell'industria aeronautica, specialmente in tempo di guerra.

L'Alcoa era la maggior produttrice di alluminio e l'azienda era di proprietà della famiglia Mellon, come pure ai Mellon apparteneva l'istituto di ricerche che stipendiava Gerard J. Cox. Nel 1943 l'industria chimica Du Pont de Nemours, nel New Jersey, produceva migliaia di tonnellate di fluoruri destinati all'impresa bellica americana per l'isolamento dell'isotopo dell'uranio 235 (necessario per la bomba atomica) dall'uranio 238: l'U238 veniva fluorato e poi scartato selezionandone solo la centesima parte, cioè l'U235.

Il danno, a uomini e animali, da vapori di fluoro e la contaminazione ambientale erano allarmanti nel New Jersey, ma furono tacitati in quanto, come già detto, i costi di smaltimento dei fluoruri, considerati materiali di scarto, erano alti ed era conveniente la conversione verso altri utilizzi.

E, difatti, risultano numerose le applicazioni per il fluoro e i fluoruri:

- Refrigeranti e propellenti: con il riciclo e le piogge vengono riportati sulla terra e sulle acque con conseguente inquinamento.
- Farmaci: per incrementare la biodisponibilità di alcuni principi attivi del farmaco, spesso questo viene alogenato. La conseguenza sono nuove patologie e quindi... nuovi farmaci.
- Tranquillanti: agenti anti-colinergici che agiscono sull'SNC con depressione funzionale del sistema nervoso.
- Gas chimici bellici: dai gas lacrimogeni alogenati ai gas nervini fluorati, l'azione è la stessa (blocco enzimatico depressivo di respiro e circolazione).
- Attualmente il processo industriale principale per il fluoro è la produzione di alluminio: in questo processo il fluoro è presente sotto forma di criolite come coadiuvante di elettrolisi e come fondente. La criolite naturale è insufficiente per sostenere l'industria,

per cui la gran parte di questo composto è prodotto sinteticamente attraverso l'acido fluoridrico.

- Il fluoruro di calcio è usato nell'industria del vetro e della ceramica.
- Il fluoro entra quale sottoprodotto nella sintesi dei fosfati per uso agricolo, detersivi, plastificanti, conservanti, anticrittogamici.
- Gli scarti tossici di fluoro di queste e altre lavorazioni o vengono eliminati come rifiuti speciali o recuperati per altri usi, per esempio come insetticidi o topicidi.
- Il NaF è presente in dentifrici, gel, collutori e compresse, insieme al fluoruro stannoso e al monofluorofosfato di sodio.

Lo ione fluoruro è molto affine a metalli come calcio, magnesio e manganese, e quindi ne deriva che esso sia un inibitore molto attivo verso i sistemi enzimatici che contengono questi elementi. Per esempio, il fluoro ha effetto inibitorio sulla tiroide sia per antagonismo sullo iodio, necessario agli ormoni tiroidei, sia per l'azione sul metabolismo tiroideo legato al calcio. Così pure è alterata l'azione del magnesio nella produzione energetica e del manganese, essenziale per l'attività sessuale.

Presenta inoltre azione anticolinergica che si esplica attraverso il blocco di attività enzimatiche come l'acetilcolinesterasi (che combinando insieme colina e acido acetico forma l'acetilcolina, neuromediatore che facilita l'impulso nervoso).

Il fluoro inibisce la glucosio-6-fosfato-deidrogenasi, enzima fondamentale per la detossificazione di specie reattive perossidanti come il perossido d'idrogeno e, attraverso l'azione del glutatione ridotto, su altri radicali derivanti da farmaci (sulfamidici e antimalarici) o su un agente tossico delle fave (divicina) che provoca crisi emolitiche anche mortali.

Il fluoro, interagendo con i legami idrogeno degli amminoacidi delle strutture proteiche e con quelli presenti fra i nucleotidi (specialmente timina e adenina), è un potenziale agente mutageno (Nieuwkoop et al., 2005).

Il fluoro ha notevole affinità per l'alluminio e l'alluminio è associato all'Alzheimer e la sua presenza nel cervello ne è considerato fattore scatenante (Wurtman 1985).

L'Alzheimer è caratterizzato da placche seniliche (in particolare nell'ippocampo e nell'amigdala) formate da ammassi di neurofibrille chiamati proteine beta-amiloidi. Queste sono formate da spezzoni di 40 amminoacidi derivati da una proteina molto più grande di 695 amminoacidi codificati da un gene presente nel cromosoma 21 (non a caso nella trisomia 21 o sindrome di Down esistono placche beta-amiloidi in età giovanile).

Pare inoltre esistere una correlazione fra concentrazione di fluoro e tasso di natalità di bambini Down in zone con fluoro nelle acque.

Tornando all'alluminio e al suo rapporto con il fluoro, bisogna segnalare che l'alluminio è presente nell'acqua potabile, nei cibi, nei contenitori di bevande, in farmaci, cosmetici e deodoranti, pentolame, padelle antiaderenti e macchinette del caffè, nei vaccini, nei test antiallergici, negli antiacidi, nelle docce vaginali e addirittura, in piccola percentuale, negli impianti endorali di titanio.

Ma come fa l'alluminio a entrare nel corpo e a penetrare nel cervello?

Il pH intestinale rappresenta il più grosso ostacolo all'assorbimento di alluminio in quanto determina la formazione di composti insolubili e quindi non assimilabili.

In presenza di fluoro la situazione cambia in quanto, essendo elementi molto affini creano complessi solubili e quindi assorbimento dall'organismo. (Wilhelm et al., 1996)

x barbara:  
"con"  
?

Il complesso AIF4 ha la stessa disposizione spaziale dello ione fosfato e il legame fra questi due composti è spontaneo e veloce. (Strunecka et al., 2002)

Il cervello necessita di molta energia che deriva dalla trasformazione dell'ATP da ADP per la formazione di legami tra fosforo e ossigeno.

L'alluminio, con l'aiuto del fluoro, mima il comportamento dei fosfati ed entra nei loro composti con altre sostanze (spec. ADP) e, sotto questa forma, scambiato per sostanza utile, penetra attraverso la barriera ematoencefalica. (Varner et al. 1998)

Nel cervello favorisce la coagulazione della proteina beta-amiloide.

Patocka e Strunecka affermano che molte patologie possono essere causate dall'azione sinergica di fluoro e alluminio, come del resto è comprovata la tossicità degli alluminofloruri su fegato, reni, sangue, ossa, ghiandole endocrine e, appunto, cervello.

## Denti devitalizzati

Forse l'argomento più controverso in odontoiatria, insieme all'amalgama e più del fluoro, è rappresentato dai denti devitalizzati.

L'endodonzia, una delle branche tecnicamente più impegnative per il dentista, da sempre si è sbizzarrita nei metodi volti a "far morire" i denti, con tecniche e materiali che vanno dal cloroformio all'arsenico, dal cortisone alla guttaperca impregnata di cadmio, alla formaldeide, ai citostatici, agli antibiotici, tutti rivolti a portare in necrosi, in mumificazione, un organo ritenuto erroneamente avulso dal resto dell'organismo.

In realtà il dente "morto" non è confinato nel recinto anatomico che si conosce, ma continua a "comunicare" con l'organismo attraverso il solco gengivale, le pareti radicolari e l'apice che trasporta nell'osso, e quindi nel torrente ematico, tutta una serie di tossine che possono portare a danni e patologie in organi e sedi dell'organismo lontani.

Le università del Kentucky e del Texas (Dr Stuart Nunnally) hanno dimostrato nei denti devitali la presenza di batteri e prodotti del metabolismo batterico (tioeteri), amine secondarie derivate dalla putrefazione e decomposizione dei tessuti dentari (putrescina e cadaverina), actinomiceti; sostanze utilizzate per le cure canalari, quali formaldeide e arsenico, sono rinvenibili in varie parti del corpo. Da tutto ciò deriva un insulto cronico al sistema immunitario.

Le tossine batteriche, in particolare, prodotte dai denti devitalizzati, possono essere tracciate nell'SNC e nel liquor.

Le cliniche di Medicina Biologica nei paesi nordici impongono, come prima esigenza in assoluto, la rimozione dei denti devitalizzati prima di qualsiasi terapia nelle patologie degenerative.

È inoltre acclarato il danno focale derivato dai denti devitalizzati sui meridiani energetici, dimostrabile attraverso tutti i test impedenziometrici della Medicina Frequenziale (EAV, VEGA, BICOM ecc.), secondo il concetto di *odontone* che considera tutt'uno l'insieme funzionale del dente, i suoi apparati di sostegno molli e ligamentosi, l'osso e gli organi correlati, sia in senso embriologico che energetico.

Sembra anche che il sistema immunitario cede a livello del meridiano interessato dai denti devitalizzati, con conseguenze più o meno gravi, dal reumatismo alla malattia autoimmune, al tumore.

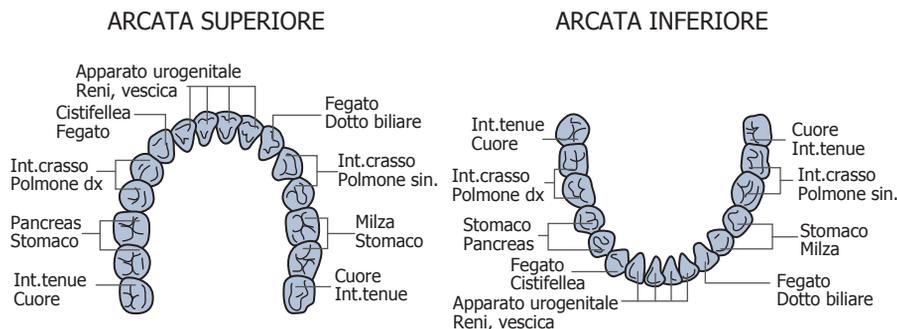


Figura 5.5.1 – Rapporti fra arcate dentarie e meridiani energetici.

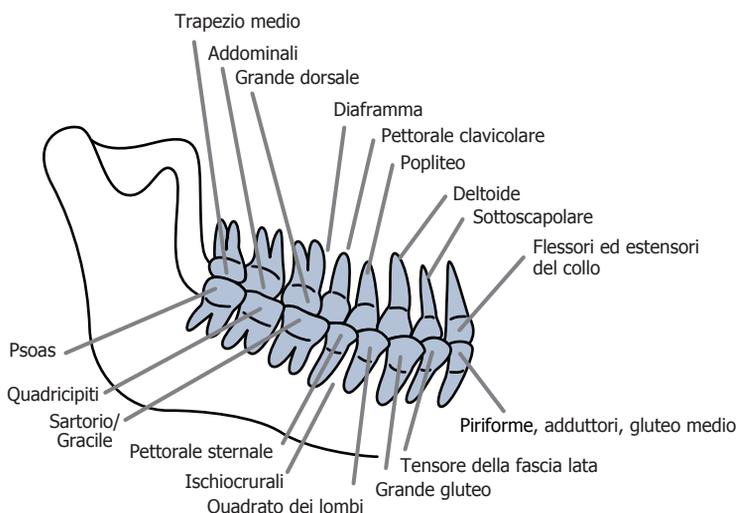


Figura 5.5.2 – Rapporti principali fra denti e muscoli.

Ciò rende senso al concetto di “focalità” che vede nel dente devitale (e/o con amalgama di mercurio e/o con grave compromissione parodontale) un’interferenza nel sistema immunitario dell’organismo, che è sottoposto a uno stress cronico che rischia, magari in situazioni concausali, di far crollare le difese. (Godfrey, 1996)

Quanto esposto vale per denti necrotici visibilmente patologici (ascessi, granulomi, cisti) ma anche per quelli che, seppur trattati incongruamente, risultano silenti... e spesso anche per quelli che appaiono perfettamente “sigillati” da chiusure tecnicamente perfette.

Ciò è spiegabile anche dal punto di vista strettamente anatomico, meccanico e microbiologico in quanto è impossibile riuscire a sigillare la miriade di canalicoli che si aprono a ogni livello delle radici e degli apici dentari.

Si pensi che è stato calcolato che un incisivo contiene circa 5,5 km di tubuli dentinali e che in ognuno di questi 550.000 cm si possono sviluppare milioni di batteri che coloniz-

nota autore  
da scuola naturopatia.org  
DIREI CHE  
PER QUESTO  
DISEGNO  
NON C'E'  
BISOGNO DI  
DIRITTI.

nota autore

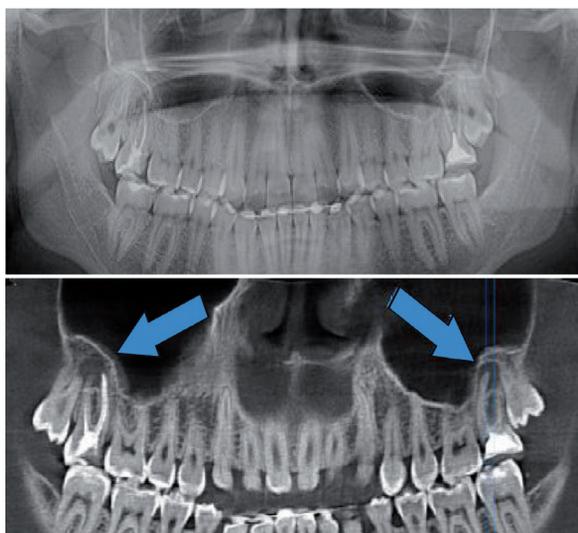
(Walther DS (1996). *Kinesologia applicata*, vol 2, Milano, Castello. PER QUESTO DISEGNO CI VOGLIONO I DIRITTI?

zano poi in forme anaerobiche (per l'assenza di rifornimento e ossigeno) più pericolose rispetto alla preesistente flora batterica, normalmente sviluppata in aerobiosi.

Il concetto di dente focale, infatti, va al di là dell'aspetto clinico (dente asintomatico) e radiologico (la RX in quanto bidimensionale non può dimostrare per esempio prodotti di putrefazione che non sono radiopachi).

Le indagini frequenziali e quelle tridimensionali della radiologia volumetrica sono la cartina di tornasole di situazioni altrimenti invisibili: spesso, per esempio, EAV e Cone Beam rivelano quelle che vengono definite "cavitazioni", cioè lesioni dell'osso in corrispondenza di denti devitalizzati o anche estratti senza bonifica dell'osso e del ligamento parodontale, che è custode della "memoria patologica" del dente focale.

La consueta OPT bidimensionale, seppur digitale, secondo una sommaria statistica, non rivela la presenza di lesioni focali in oltre il 40% dei casi, e di ciò è un esempio il caso riportato:



immagini  
dell'autore

**Figura 5.5.3** – Nella panoramica in alto non si evidenziano lesioni a carico dei denti devitalizzati 1.7 e 2.7 che invece risultano evidenti nella *Cone Beam* sottostante.

Se insulti di questo tipo sono numerosi, se nella bocca coesistono altre problematiche (mercurio dell'amalgama, metalli endorali e conseguente elettro galvanismo, lesioni parodontali) e se questi stressori persistono per lungo tempo, ne deriva un'invisibile e persistente esposizione cronica a basse dosi di tossici che minano in profondità la capacità reattiva e la resistenza del paziente.

Il prof. Jerry Bouquot (2001) della West Virginia University evidenziò cadaverina, putrescina, actinomiceti e batteri anaerobici (clostridia ecc.) in tutti i denti estratti in cui la devitalizzazione, apparentemente perfetta, risaliva a due anni (Damm et al., 2001).

Fu comunque Weston Price (2008) che fin dagli anni Trenta, con i suoi sessanta batteriologi, valutò 1000 denti devitalizzati estratti e puliti fino in fondo meccanicamente, trattati con sostanze disinfettanti, impregnati per 48 ore in soluzioni caustiche: risultò che

990 denti, ai test batteriologici, manifestavano la presenza di temibili colture di batteri anaerobici, in grado di provocare patologie sulle cavie esposte.

Solo se il dente devitalizzato veniva portato a 600 °C, si raggiungeva l'obiettivo della sterilizzazione.

Il prof. Patrick Stortebecker (Stortebecker Foundation, Svezia) afferma che "il sistema venoso cranio-vertebrale offre una comunicazione diretta fra dente-alveolo da una parte e cervello-cavità craniale dall'altra (principio della distanza minima) e ancora con buona parte dell'organismo". Ciò fu dimostrato iniettando in un dente un mezzo di contrasto e osservando la sua diffusione nel sistema venoso craniale.

La diffusione di tossine batteriche da radici dentali e osso mandibolare al trigemino è stata particolarmente ben documentata dal 1954 al 1982 da vari gruppi di studio quali Turstuman, Arvidsson, Ericson, Molin, Batson, Anderson ecc.

In supporto a tali affermazioni giungono le informazioni derivate dalla Medicina Biologica che hanno permesso di stabilire una mappa, precisa ma di certo ancora incompleta, sui rapporti dente-organo che vedono i denti comportarsi come veri e propri fusibili rispetto al sistema di difesa globale dell'organismo, secondo il principio dell'odontone che, come già accennato, rappresenta l'insieme di strutture anatomiche, neurovascolari, riflesse e bioenergetiche del dente e strutture a esso collegate.

I dati, derivati da migliaia di casi che confermano le premesse eziopatogenetiche, necessitano di una ulteriore validazione scientifica su basi randomizzate, ma quello che è certo è che, allorché venga identificato un focus derivato da un dente devitalizzato, è preferibile l'estrazione effettuata con criteri di bonifica completa (rimozione del ligamento periodontale e raschiamento dell'osso) affinché non persistano "cavitazioni", peraltro difficili da identificare ai raggi X, custodi della memoria focale del dente estratto.

Secondo Hal Huggins (1989), pioniere della lotta all'amalgama e precursore nell'interpretazione "biologica" dell'odontoiatria, la persistenza di denti devitalizzati "focali" e di cavitazioni può:

- 1) determinare problemi digestivi;
- 2) contribuire all'affaticamento cronico elevando le porfirine urinarie;
- 3) provocare la formazione di tossine, assimilabili a quelle del tetano e del botulismo;
- 4) essere associata alla sclerosi multipla e varie altre malattie autoimmuni e degenerative;
- 5) essere correlata a problemi di memoria e instabilità emotiva.

Le ricerche di Boyd Haley e colleghi hanno consentito di stabilire come le tossine dei denti devitalizzati possono disattivare i più importanti enzimi del nostro corpo (quali creatinasi, piruvatochinasi, adenilatochinasi ecc.), condizione riscontrabile in numerose malattie degenerative, autoimmuni e neurologiche (Kern et al., 2014).

## Amalgama

Al solo scopo di richiamare la tossicità dell'amalgama, si ricorda che per il 50% è composto da mercurio (la sostanza più neurotossica in assoluto) e che è considerata sostanza pericolosa, prima, e rifiuto tossico-nocivo dopo l'utilizzo. L'amalgama è ritenuto chimicamente stabile solo in bocca: le immagini che seguono, realizzate dal dottor Federico Ronchi (AIOB – Accademia Internazionale di Odontoiatria Biologica) e dall'Università di Calgary, dimostrano che ciò è assolutamente falso:

nota autore:  
Immagini di  
Ronchi- Pische  
Università di  
Cagliari  
CONSIDERIAMOLE  
DELL'AUTORE.



Stimolazione  
meccanica



Stimolazione  
con acqua calda



Stimolazione  
laser



Degenerazione  
neuronale

**Figura 5.5.4** – Le prime tre immagini dimostrano l'emissione di mercurio in tre diverse situazioni di stimolazione; la quarta dimostra l'effetto del mercurio su una cellula neuronale in coltura.

Stuart Freedenfeld ha effettuato un interessante studio secondo il quale: “un tipico amalgama con una superficie di 0,4 cm<sup>2</sup> rilascia circa 17 µg di vapori di mercurio elementare al giorno, principalmente in rapporto alla masticazione. Approssimando l'assorbimento dei vapori rilasciati al 10-15%, se una persona ha otto amalgami in bocca, dei circa 136 µg rilasciati ne assorbe 17 µg. Se la persona con gli amalgami è una donna incinta, durante i 270 giorni della gestazione, periodo di massima vulnerabilità dello sviluppo del bambino, assorbe 4590 µg di mercurio”.

### Multifattorialità

Nessuna malattia ha una causa separata e nessuna causa produce una malattia separata. La vera comprensione dei fattori genetici richiede la comprensione dell'impatto che l'ambiente ha sui codici genetici.

L'epigenetica ambientale va assumendo un ruolo predominante soprattutto nelle malattie croniche, degenerative e autoimmuni: “Nelle modificazioni epigenetiche il DNA non è alterato come avviene nelle mutazioni, bensì attivato o silenziato, con profonde modificazioni nelle generazioni successive; in pratica, il danno epigenetico al DNA può comportarsi come una mutazione pur senza modificare il codice genetico” (Verzella e Verzella, 2008).

Tutto ciò a conferma che si va sempre più assottigliando il confine fra danno genetico ed epigenetico a causa del carico tossico ambientale (sostanze chimiche, metalli pesanti, inquinamento atmosferico, elettromagnetico e sociale, alimentazione anti-biologica ecc.) che provoca modificazioni adattative del DNA.

L'epigenetica tossicologica delle forme neuro-tossiche è in qualche misura riferibile all'aumento nella richiesta di rimozioni delle otturazioni in amalgama, per motivi estetici, negli ultimi due decenni.

Oggi, le stime negli Stati Uniti valutano che “un neonato su sei presenti valori ematici di mercurio sufficientemente elevati per alterare lo sviluppo neurologico” (Stern, 2005)

In passato sono stati necessari decenni per il riconoscimento, senza più alcun dubbio, da parte della comunità scientifica, della tossicità del mercurio nei casi di acrodinia (avvelenamento di migliaia di bambini tra il 1890 e il 1950, a causa di una sostanza a base di cloruro di mercurio utilizzata per curare i denti) e della baia di Minamata in Giappone (inquinamento da metilmercurio da parte dell'industria di cloro-alcali Chisso Corporation).

Altri esempi drammatici di relazione causa-effetto riferibili a iatrogenia odontoiatrica e patologie mercurio-correlate sono i seguenti.

- Aumento esponenziale dei casi di MCS (Sensibilità Chimica Multipla): secondo i dati evidenziati da stime ufficiose di AMICA, la principale associazione di malattie ambientali, un'alta percentuale dei nuovi casi di MCS è scatenato, in tempi più o meno ravvicinati, da rimozione scorretta e senza regime di protezione di otturazioni in amalgama, con liberazione di vapori di mercurio in soggetti geneticamente predisposti e borderline rispetto a valori di saturazione individuale da tossici ambientali.
- Aumento dei casi di autismo, o simil-autistici, nella forma regressiva o acquisita: da 1 caso ogni 2000 soggetti 20 anni fa, a 1 caso ogni 150 oggi. Tale impressionante aumento deriva da una multifattorialità che vede in molteplici cause scatenanti, esogene e ambientali, l'origine del problema: vaccinazioni, metalli tossici, antibiotici, inquinamento alimentare e ambientale, regimi alimentari anti-biologici ecc. In questo senso ci si chiede se possono esistere certezze sull'innoquità delle rimozioni effettuate senza regime di tutela degli amalgami nei primi mesi di gravidanza...



**Figura 5.5.5** – Schemi e fotografie dell'autore che mostrano modalità di rimozione protetta degli amalgami dentali.

Per evitare danni iatrogeni odontoiatrici ancora più pesanti è stato approntato un "protocollo di rimozione protetta delle otturazioni in amalgama", visionabile su [www.cliama.it](http://www.cliama.it).

### **Metalli endorali**

Non si può continuare a pensare alla bocca come a un'arena a sé stante nella convinzione che quanto viene fatto, magari in maniera ineccepibile da un punto di vista tecnico-meccanico ed estetico, non abbia ripercussioni sull'intero organismo.

Allo stato attuale della merceologia e tecnologia dei materiali non si può continuare a considerare la bocca alla sorta di una fucina dove esercitare tutte le potenzialità che la metallurgia può offrire.

I metalli (a maggior ragione nella bocca, dove il mezzo liquido rappresentato dalla saliva ne crea una vera e propria batteria) rilasciano correnti elettro galvaniche, vapori e

ioni metallici; che siano utilizzati per la conservativa, per la protesi o per l'implantologia, i metalli endorali si ossidano e si corrodono.

Del resto le tabelle tossicologiche dei metalli utilizzati in odontoiatria (*mercurio, alluminio, cadmio, cromo, cobalto, oro, platino, indio, berillio, ferro, gallio, tallio, nichel, rame, zinco, stagno, manganese, molibdeno, vanadio, titanio, argento, palladio* ecc.) non possono lasciare indifferenti, dal momento che la stabilità di nessuno di questi elementi (mercurio in particolare) è stata mai dimostrata, mentre la loro presenza è stata rilevata in molteplici sedi dell'organismo umano: depositi che di certo non hanno un fine fisiologico ma che più verosimilmente sono dannosi.

### **Galvanismo (meccanismo elettromagnetico)**

Così come in una pila, nella cavità orale, grazie alla presenza di una soluzione salina rappresentata dalla saliva e di metalli con differente elettronegatività, si determina una corrente legata al movimento di elettroni. La presenza di differenti otturazioni e/o manufatti protesici metallici crea un polimetallismo e l'effetto galvanico genera un campo elettromagnetico perturbante l'intero organismo. Tali correnti galvaniche inoltre favoriscono il rilascio di ioni da parte dell'anodo, quasi esclusivamente dovuto alla corrosione delle otturazioni in amalgama data la loro instabilità (Mosca et al., 1993; Hakansson et al., 1986; Olsson et al., 1994).

La *tabella* sotto riportata mostra il potenziale elettrochimico per le diverse tipologie di leghe come determinato dagli studi. Per qualsiasi coppia di leghe quella più in alto nella tabella corroderà quella più in basso.

### **SCALA ELETTROCHIMICA DELLE LEGHE**

A	Leghe per ceramica ad alto contenuto aureo
B	Leghe per ceramica palladiate
C	Leghe auree per resina
D	Titanio
E	Cromo cobalto
F	Cromo nickel

Tutte le leghe nobili corrodono il titanio e il titanio corrode tutte le leghe non preziose.

Sulla base di tutte queste osservazioni appare oggi sempre più evidente l'esigenza di affermare concetti di *implanto-protesi metal free integrale*.

La ricerca e l'evoluzione tecnologica, oltre alla crescente attenzione verso metodiche a ridotta invasività e materiali a più alta biocompatibilità, hanno portato, infatti, ultimamente, allo sviluppo di prodotti non metallici sia per la protesi che per l'implantologia, con un probabile sconvolgimento delle certezze finora acquisite in campo implantoprotesico. L'utilizzo poi dei nuovi materiali implantari e protesici (oltre alla già ben conosciuta zirconia) a base di fibre di carbonio, di polimeri quali il Pekkton, di composti ad alta resa dinamico-funzionale ed elastica ha portato nell'odontoiatria una ventata di innovazione e garanzie cliniche inimmaginabili fino a pochi anni fa.



**Figura 5.5.6** – Impianti endorali bi-fase in zirconia (ossido di zirconio) (Axis Biodental, Svizzera).

l'autore ha  
fornito solo  
la fonte

### **Protocolli operativi personali**

La molteplicità delle attività e delle ultraspecializzazioni in materia odontoiatrica e la multifattorialità delle fonti causa di patologia odontostomatologica evidenziano l'esigenza di un approccio diagnostico e terapeutico che sia fondamentalmente di carattere olistico, al fine di rendere prognosticamente predicibili gli interventi effettuati dal dentista.

Già nel bambino, oltreché nell'adulto, il controllo della placca rappresenta un indice determinante nella prevenzione delle lesioni cariose e parodontali. Altrettanto importante risulta il controllo dell'acidità salivare, dei sistemi tampone e dell'attività enzimatica: allorché tali equilibri vengono alterati per la prevalenza della produzione di specie chimiche reattive o radicali liberi, rispetto alla capacità di difesa antiossidante locale, oltreché generale, vengono facilitati i meccanismi di innesco di patologie orali che spesso determinano ripercussioni a livello sistemico, in particolare sul sistema cardiovascolare, intestinale e nervoso.

È in un'ottica anche preventiva che ha un suo razionale clinico l'utilizzo di protocolli di terapia biologica che determini un abbassamento del livello delle specie ossidanti e il contemporaneo innalzamento del potenziale di reattività immunologica, assicurato dall'integrazione con prodotti a ridotta invasività chimica.

Appare dunque indicata la proposizione di protocolli individualizzati ma fondamentalmente indirizzati allo stimolo delle difese e all'integrazione delle carenze. Risulta quindi normalmente efficace un approccio che sia basato:

- sull'attivazione di sistemi di drenaggio mesenchimale e d'organo con l'utilizzo di rimedi omeopatici e/o omotossicologici;
- sull'integrazione con antiossidanti e nutrienti possibilmente a base colloidale come nel caso di Cellfood®, che consente, attraverso la formula base, un apporto di ossigeno e micronutrienti in grado di stimolare i deficit metabolici e ripristinare oppure inte-

- grare carenze, per esempio, con i vitaminici o con il Silica, particolarmente indicato nelle problematiche ossee;
- sulla disintossicazione effettuata ancora con presidi soprattutto omotossicologici o della linea Cellfood®, o con fitoterapici quali per esempio Coriandolo, Clorella, Aglio orsino, Clorofilla ecc., che si sono dimostrati particolarmente efficaci nel trattamento soprattutto di intossicazioni da metalli pesanti;
  - sull'utilizzo di tecniche di biorisonanza e di terapie frequenziali in grado di ristabilire equilibri funzionali alterati dalle varie forme patologiche;
  - sul ripristino di un corretto stile di vita basato sull'abolizione di abitudini viziate (es. fumo e alcol) ma soprattutto su un'alimentazione che faccia del cibo la prima e più efficace medicina.

## 5.6 Prevenzione e cura dell'ipotiroidismo

*Luca Speciani*

### Legare tra loro leptina, tiroide e metabolismo

Recenti lavori scientifici hanno documentato con chiarezza l'influenza della leptina nella regolazione e modulazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide. Dall'esperienza clinica su molti casi di pazienti visitati negli studi in cui opero, in Piemonte, Lombardia e Veneto, ho voluto verificare la possibilità di intervenire con metodi naturali e non farmacologici per riattivare una tiroide rallentata attraverso interventi mirati di tipo nutrizionale, di copertura antiossidante e di stile di vita, volti a garantire un flusso leptinico all'ipotalamo il più possibile regolare e costante. Questa premessa mira a evidenziare i legami tra leptina, tiroide e metabolismo, nel lavoro clinico qui di seguito descritto.

Negli ultimi anni del secolo appena trascorso abbiamo assistito a un incremento molto rapido dell'incidenza di sovrappeso e obesità in tutti i paesi industrializzati. Dalle percentuali irrisorie del dopoguerra, nel giro di una trentina d'anni si è passati a quasi un terzo della popolazione in sovrappeso.

Uno studio italiano (Studio PASSI: progressi delle aziende sanitarie per la salute in Italia, nato dalla collaborazione tra Istituto Superiore di Sanità e Università Tor Vergata di Roma) pubblicato nel 2000 ha evidenziato che ben il 35% della popolazione adulta era sovrappeso e il 10% obeso (BMI > 30). Nei ragazzi dai 6 ai 17 anni, di solito quasi indenni dall'ingrassamento grazie alla spinta ormonale della pubertà e a consumi energetici molto elevati, lo studio riscontrava invece percentuali piuttosto alte: 24% di sovrappeso e 4% di obesità. Lo studio generò qualche allarme, e dietologi e nutrizionisti cercarono di porre argine alla marea, la cui proiezione poteva avere effetti disastrosi sulla salute pubblica, considerando le gravi correlazioni dell'obesità con il diabete, il cancro e le malattie infiammatorie e cardiovascolari in genere. La colpa del fenomeno venne data (giustamente) al cambio delle abitudini di vita intercorso nei paesi sviluppati negli ultimi 30-40 anni. Niente più scuola a piedi, uso dell'auto sempre più capillare, ascensori, scale mobili, televisione, videogiochi, computer. Perfino i rubinetti hanno le fotocellule per evitarci l'immane fatica di ruotare la manopola. Tutto molto diverso dalle sane abitudini dei ragazzi nati dopo la guerra, che passavano i pomeriggi a sbucciarsi le ginocchia o a rincorrere un pallone tra i campi o nei cortili.

Una notevole quantità di lavori scientifici conferma in effetti il fatto che appena smettiamo di muoverci, segnali di rallentamento metabolico rivolti al cervello ten-

dono a ridurre la massa muscolare, a limitare il lavoro della tiroide e a modificare il profilo lipidico verso un maggior rischio cardiovascolare (Noland, 2003; Tremblay, 2004; Befroy et al., 2008).

Dal punto di vista dietologico, invece, la "colpa" (secondo l'equazione: grasso corporeo = grasso assunto col cibo) è stata assegnata all'eccesso calorico e, in particolare, all'eccesso di grassi nell'alimentazione. Una sostituzione di grassi con carboidrati (a parità di calorie assunte) è tuttavia in grado di aumentare la glicemia, provocando un innalzamento dei livelli di insulina con tutti gli effetti metabolici connessi. Tra questi, particolarmente importanti ai fini dell'ingrassamento, un aumento dell'appetito a breve distanza dal pasto e un innalzamento dei livelli infiammatori dell'organismo in grado di predisporre l'individuo (attraverso l'attivazione della resistina, vedi i lavori di Mitchell Lazar) verso il fenomeno della "resistenza insulinica".

La presenza di grassi all'interno degli alimenti (siano essi sani come l'olio extra vergine o gli oli polinsaturi vegetali, meno sani come i grassi saturi di carni e formaggi o addirittura dannosi come i grassi idrogenati o le frittiture) agisce infatti in due direzioni: da una parte fornendo un senso di maggiore sazietà, dall'altra rallentando l'assimilazione dei carboidrati, contribuendo così a una corretta modulazione dei livelli ematici degli zuccheri, dell'insulina e (come vedremo più avanti) della leptina.

I sostenitori del bilancio calorico, tuttavia, hanno per anni continuato a difendere questa impostazione basandosi sull'assunto che "una caloria" è sempre una caloria e che quindi riducendo l'apporto o aumentando le uscite si potesse quadrare il cerchio e far dimagrire le persone. Tale assunto, pur termodinamicamente corretto (nel senso che l'energia non si crea né si distrugge, ma si trasforma) è assolutamente errato se lo si esamina dal punto di vista degli effetti biologici degli alimenti.

A seconda del fatto che gli ormoni tiroidei trasformino l'energia assunta col cibo in energia utilizzabile per il consumo o l'accumulo (ATP) o, almeno in parte, in semplice calore, l'esito può cambiare moltissimo. Nel primo caso l'ATP prodotto in eccesso rispetto ai fabbisogni può essere usato per costruire grassi, zuccheri o proteine (ovvero per accumulare), nel secondo il calore viene "sprecato" per riscaldare il corpo o semplicemente per essere disperso.

È evidente dunque (ma l'informazione è disponibile in ogni buon testo di biochimica, e non può essere ignorata o non considerata da così tanti nutrizionisti) che dal punto di vista dell'accumulo di grasso una caloria può non essere uguale a una caloria, posto che le sue condizioni di assunzione siano differenti (per ora del giorno, per situazione metabolica in corso, per abbinamento con altri cibi, per composizione del nutriente). È d'altra parte sotto gli occhi di tutti il fatto che vi siano individui che mangiano molto mantenendo una linea invidiabile, mentre altri, che stanno attenti all'aria che respirano, non riescano a perdere un grammo.

Dire che la responsabilità è "della tiroide", seppur in parte vero, è raccontare solo un pezzo della verità, perché la tiroide, in fondo, è solo un buon esecutore di comandi che invece provengono dal cervello, e precisamente dall'ipofisi, e ancor prima dall'ipotalamo, il nostro regolatore degli equilibri omeostatici riguardanti la temperatura corporea, la pressione, la ritenzione idrica e infine anche l'accumulo di grasso.

Capire a fondo la potenza della regolazione ipotalamica sulla tiroide, tuttavia, richiede un cambio di paradigma che può risultare non facile a molti, soprattutto a coloro che

per anni hanno utilizzato solo criteri basati sul calcolo delle calorie e che talvolta (per "anzianità" di servizio) non hanno avuto modo di studiare o di capire a fondo le profonde correlazioni tra sistema nervoso e accumulo di grasso che sono emerse prepotentemente dagli studi scientifici degli ultimi tre lustri.

Nell'ottobre del 2008 lo studio PASSI è stato superato da un nuovo e più aggiornato lavoro (chiamato "Okkio alla salute") che ha analizzato questa volta ben 46.000 bambini della classe terza elementare. Lo studio, svolto dall'Istituto Superiore di Sanità, ha rilevato per quella classe di età percentuali di sovrappeso analoghe a quelle di otto anni prima, ma una percentuale di obesità più che triplicata: dal 4% al 12,3%. In pratica si è identificata la frazione dei sovrappeso come punto di transito verso l'obesità, che è poi il vero punto d'arrivo di una percentuale sempre maggiore di individui. I dati naturalmente non sono confrontabili con precisione, in quanto con la pubertà le percentuali di obesità decrescono considerevolmente (e lo studio PASSI analizzava ragazzi dai 6 ai 17 anni). Ma anche se la percentuale di ragazzi di otto anni obesi nel 2000 fosse del 6 o dell'8 per cento non cambierebbe molto: il trend è in netta crescita e l'obesità infantile (ricordiamo che un bambino obeso è quasi sempre poi un adulto obeso) sta assumendo i caratteri di una vera epidemia.

Questo, per chi non abbia voglia di nascondersi dietro un dito, significa solo una cosa: che le politiche di educazione alimentare seguite negli ultimi anni sono completamente fallite, e che un cambio di direzione diventa ogni giorno più urgente. Con le riduzioni caloriche, i "latte scremati" e gli edulcoranti artificiali non si è arrivati da nessuna parte. Anzi, la situazione è solo drammaticamente peggiorata. Perché dobbiamo continuamente ascoltare le stesse persone e le stesse raccomandazioni che per 50 anni si sono dimostrate fallimentari?

È indubbio che nell'incredibile crescita di sovrappeso e obesità nei paesi industrializzati del dopoguerra vi sia una componente legata ad abitudini di vita più comode e meno "faticose". I ragazzi che passavano le giornate a giocare a pallone nei prati, trent'anni più tardi erano seduti tutto il pomeriggio davanti alla televisione, nessuno lo nega. Ma tra i ragazzi dello studio PASSI (2000) e quelli di "Okkio alla salute" (2008) che cosa è cambiato? Non sono ugualmente disponibili TV e videogiochi agli uni e agli altri? I messaggi terroristici sulla riduzione delle calorie che spesso vengono dati a genitori giustamente preoccupati per la salute dei propri figli non pare abbiano sortito grandi effetti. I reali segnali metabolici che possono fare dimagrire un individuo hanno evidentemente poco a che fare con il calcolo delle calorie assunte.

### **La cellula adiposa come organo endocrino**

Con la scoperta da parte di Friedman, nel 1994, della *leptina* è stato assestato un primo importante scossone alle granitiche convinzioni dei difensori del calcolo delle calorie. Friedman cercava una molecola segnale che potesse mandare uno stimolo al dimagrimento in animali da laboratorio. Non era il solo. L'interesse verso una siffatta molecola stuzzicava più d'una industria farmaceutica, per le enormi potenzialità di mercato che poteva offrire. Topi geneticamente carenti di quella molecola mostravano un ingrassamento smisurato e un appetito insaziabile. Quando Friedman riuscì a codificare questa molecola (cui diede il nome, appunto, "leptina" dal greco *leptos*, che significa "magro")

e la somministrò ai topi leptino-carenti, ottenne un immediato, stupefacente dimagrimento. Tale molecola era naturalmente secreta dal nostro tessuto adiposo, ma in quegli animali che ne erano geneticamente privi, tale produzione non poteva avere luogo. La correzione di questa carenza trasformava l'organismo di quegli animali nella direzione di un maggior consumo energetico.

L'utilizzo di leptina su topi resi obesi da iperalimentazione, purtroppo, non sortiva invece alcun effetto, e ciò era più difficile da spiegare. In effetti quei topi non erano leptino-carenti ma leptino-resistenti, ovvero ne avevano prodotta così tanta da non essere più sensibili al suo segnale.

Ma perché è così importante la leptina nei nostri equilibri energetici? Il motivo è che la leptina (che qualcuno ha definito "l'ormone più importante di tutto il nostro organismo"), secreta dalle cellule adipose in conseguenza di un'alimentazione sana e completa, rappresenta il segnale ipotalamico più importante per orientare l'organismo verso l'attività e il consumo, piuttosto che (se la leptina non c'è o non ce n'è a sufficienza, o quella che c'è non viene "letta") verso il risparmio energetico e l'accumulo di scorte. Ecco perché la leptina è una molecola segnale di primo piano nell'ingranaggio ed è fondamentale che i suoi segnali arrivino forti e chiari.

Una volta che il segnale leptinico è correttamente arrivato a informare l'ipotalamo (in un gruppo di neuroni chiamato "nucleo arcuato"), il messaggio viene irradiato verso altre zone deputate a specifiche funzioni. Per prima cosa la leptina spegne la fame di cibi zuccherini, attraverso l'inibizione della secrezione di un neurotrasmettitore chiamato NPY (neuropeptide Y). Fin qui nulla di strano: se mangiamo a sufficienza ci passa la fame. È però curioso notare che la secrezione di NPY è permanentemente attivata, tranne quando l'ipotalamo riceve il segnale leptinico in grado di spegnerla (in altre parole: l'evoluzione ci ha fatti sempre affamati, ed è solo con un chiaro segnale di alimentazione completa che la fame si può attenuare). Contemporaneamente a NPY viene attivata anche AgRP (*Agouti related protein*), una proteina che svolge un potente effetto di rallentamento metabolico, il che significa, in soldoni, che se ho fame (scarsa leptina) il mio metabolismo rallenterà sia immediatamente, sia nei giorni successivi grazie all'azione specifica della leptina sulla tiroide.

La seconda azione della leptina è ancora più importante di quella sulla fame. Le proiezioni nervose, infatti, riguardano, direttamente o indirettamente, aree del cervello deputate alla regolazione dell'attività ormonale della tiroide, del surrene, del sistema immunitario, di ovaie e testicoli, e alla modulazione dello sviluppo di muscoli e ossa. In parole povere: tutti gli assi metabolici più importanti del nostro organismo sono sotto il controllo della leptina. Se c'è leptina (ovvero mangiamo e correttamente assimiliamo) tutti questi assi sono attivati. Se leptina non c'è (ovvero digiuniamo o siamo sotto dieta ipocalorica o non assimiliamo) questi assi sono inibiti. Avremo dunque ossa fragili, muscoli insignificanti, tiroide lenta (Lechan et al., 2006), scarsa capacità di risposta allo stress (depressione), abbattimento immunitario e riduzione complessiva della fertilità e del desiderio.

Dal punto di vista del ritmo metabolico avremo un forte rallentamento delle nostre capacità di consumo, perché il corpo si difenderà dalla carenza di cibo attraverso una propensione all'accumulo leptino-mediata. Questa tecnica di "risparmio energetico" è stata accuratamente messa a punto dal nostro organismo negli ultimi ottocentomila

anni della nostra evoluzione: l'adattamento alla restrizione alimentare tramite la formazione di preziosi depositi di grasso (che il nostro corpo custodiva gelosamente) era una potente arma di sopravvivenza. In definitiva, quindi, un introito alimentare ridotto per un tempo prolungato determina una riduzione della leptina e il nostro organismo, per preservare il proprio grasso, abbassa i consumi e disattiva la costruzione di muscolo, la funzione riproduttiva e la secrezione di ormoni tiroidei. Da questo punto di vista la tiroide rappresenta un importantissimo "switch metabolico" in grado di orientare l'organismo (sotto guida ipotalamica) verso un maggiore o minore consumo energetico.

È interessante capire anche che l'obeso si trova, per opposti motivi (eccesso di leptina che ha provocato resistenza e adattamento a livello del nucleo arcuato dell'ipotalamo), nella stessa situazione. Pur mangiando (talvolta) grandi quantità di cibo, non riceve segnale leptinico, e dunque ha permanentemente appetito (NPY non è inibito) e ha tutti gli assi metabolici rallentati (bassa muscolazione, bassa fertilità, tiroide lenta). Obeso e anoressica, ragazzo in sovrappeso e appassionata delle diete ipocaloriche, condividono dunque lo stesso destino metabolico per il semplice motivo che ricevono tutti lo stesso tipo di segnale alterato. E la situazione si complica se ai segnali della leptina sovrapponiamo quelli provenienti da altri organi: dal pancreas (insulina, glucagone, somatostatina), dallo stomaco (ghrelina, GLP1), dall'intestino (CCK, secretina) e ancora dagli adipociti (adiponectina, resistina, chemerina). Ciascuno di questi segnali segue una sua logica e interagisce con gli altri sinergicamente o in opposizione.

È solo lavorando su quei segnali, comprendendo che essi rappresentano il linguaggio attraverso il quale i nostri centri di regolazione lavorano, che la patologia dell'obesità e i fattori di rischio del sovrappeso (così come i disturbi del comportamento alimentare) potranno essere compresi e, auspicabilmente, curati.

### **Accumulo come difesa evolutiva**

Il nostro tessuto adiposo, dunque, dal 1994 non può più essere considerato un semplice magazzino di deposito. La domanda che sorge spontanea, una volta assegnato valore di organo endocrino al tessuto grasso, è la seguente: perché corriamo subito dal medico a fare un'ecografia quando scopriamo di avere un piccolo nodulo alla tiroide, e non facciamo una piega quando invece ci rendiamo conto di avere 10 kg di grasso di troppo? È chiaro che abbiamo 10 kg di tessuto ormonale secernente aggiuntivo? Comprenderlo può essere un primo passo per muoversi nella giusta direzione. Dal punto di vista evolutivo il nostro grasso era lo strumento attraverso il quale i nostri centri di regolazione ipotalamici nel cervello decidevano quale politica attuare: se risparmiare o consumare, a seconda delle necessità del momento, della stagione, della situazione.

Mettiamoci nei panni di un ipotalamo (umano) del paleolitico. Secondo quali scopi avremmo interpretato i segnali ambientali ricevuti? Indubbiamente lo scopo primario era la sopravvivenza. E la causa più frequente di morte o debilitazione era senza dubbio la fame. Ogni segnale di carenza doveva dunque indurci a essere più prudenti e a consumare meno, accumulando di più. D'altra parte essere magri e tonici ci consentiva un'alta efficienza nella caccia così come nella fuga, dunque era sensato che trovassimo un buon compromesso tra le due esigenze. L'individuo ideale era dunque alto, robusto, agile, resistente, forte e anche ben nutrito. L'ipotalamo, in condizioni ideali, seguiva

quel progetto. In condizioni meno che ideali, tuttavia (così come fa con la temperatura, quando la alza a 40 gradi per combattere la presenza di un batterio patogeno), l'ipotalamo induceva modificazioni specifiche nel nostro organismo. In particolare tendeva a rivolgersi verso l'accumulo di scorte tutte le volte che percepiva qualche genere di rischio per la vita: rischio di morire di fame, di diventare preda di altri animali, di non guarire da ferite, traumi o malattie (con la relativa sedentarietà). Stare immobili (paura, ferita, malattia), non dormire, essere tesi e agitati o fare una dieta ipocalorica sono comportamenti che l'ipotalamo legge come forti segnali indiretti di accumulo di scorte. Grazie a questi meccanismi siamo sopravvissuti in epoche difficili, quando il cibo scarseggiava e i rischi per la vita erano quotidiani. Qualcuno ha parlato di *thrifty genotype* o "genotipo risparmiatore". E la tiroide rappresenta senza alcun dubbio, insieme alle UCP (*uncoupling proteins*) muscolari, lo strumento chiave per indirizzare l'organismo verso una modalità di accumulo. Noi siamo discendenti proprio di quegli individui che tenevano ben strette le proprie riserve. Gli altri, magari dotati di una tiroide meno responsiva verso i segnali esterni, non sono sopravvissuti abbastanza per venircelo a raccontare.

Imparare a dialogare con le risposte innate del nostro cervello più antico, inviandogli i segnali corretti rivolti al dimagrimento, rappresenta la chiave di volta per un processo di dimagrimento stabile, duraturo e permanente.

### Una rivoluzione concettuale

Parlare di segnali che fanno dimagrire significa in qualche modo rivoluzionare il concetto di dieta fino a oggi comunemente condiviso. L'immagine collettiva che si accompagna all'idea di dieta è quella del sacrificio, della privazione, della frustrazione, perché l'unico discrimine tra perdere o mettere su peso sembrano essere le calorie. E molte delle più famose diete in circolazione, che magari dichiarano con enfasi di porre l'attenzione su altri aspetti, sono in realtà sempre delle diete ipocaloriche nascoste, che non funzionerebbero in alcun modo in regime normocalorico, ovvero con un apporto di calorie pari al fabbisogno individuale di ciascuno.

Quando si cerca di documentare che un dimagrimento corretto può e deve essere ottenuto attraverso una dieta che fornisca le corrette quantità di proteine e di calorie, chi ascolta (operatori di settore compresi) resta spesso sbalordito, o almeno perplesso. "Ma come?", viene osservato, "se la dieta è normocalorica, com'è possibile che vi sia dimagrimento? Una caloria in fondo è sempre una caloria, e se io apporto l'intero fabbisogno non può esservi calo di peso!".

Questo tipo di domanda riflette l'abitudine, diffusa da cinquant'anni e più, di incentrare ogni discorso sulle sole calorie. Questa impostazione è errata.

La biochimica e l'endocrinologia, è noto, sono materie ostiche. Faccio qui riferimento alle nozioni elementari relative al funzionamento della tiroide. Quando, nei numerosi corsi che tengo per medici, biologi nutrizionisti, dietisti, chiediamo se è noto il modo con cui gli ormoni tiroidei innalzano i consumi metabolici (informazione che dovrebbe essere acquisita già al primo o secondo anno di corso di laurea), qualche volta ci risponde un imbarazzato silenzio. Ma è dalla comprensione di questo punto che può nascere la consapevolezza del fatto che "una caloria non è sempre uguale a una caloria".

### **La tiroide come esecutore dei comandi ipotalamici relativi all'attività metabolica**

Quando leggiamo i valori della funzionalità tiroidea sul foglio degli esami del sangue, vediamo i dati relativi al TSH e a fT3 e fT4.

Che significato hanno questi valori? L'attivazione tiroidea è dipendente da una cascata di stimoli partenti dall'ipotalamo, il cui effetto finale è quello di far produrre ormone tiroideo attivo (fT3) alla tiroide. L'ipotalamo secerne TRH (ormone di rilascio del TSH) che arriva all'ipofisi, dove appunto avviene il rilascio di TSH (ormone tireostimolante). Il TSH giunge finalmente alla tiroide che secerne molecole iodate chiamate T3 e T4. Poiché queste molecole si legano in parte all'albumina o ad altre specifiche proteine (restando temporaneamente inattivate), all'analista interessa sapere quale sia la frazione libera (free) di T3 e T4, ovvero fT3 e fT4. Tra queste la più stabile è la fT4, ma la più attiva è la fT3, i cui livelli ci dicono se la tiroide sta lavorando bene oppure no, in funzione della correlazione di questi dati con il valore di TSH.

Ma che cosa fa esattamente fT3 nell'organismo? Questo è il punto da conoscere che ci può spiegare perché il computo delle calorie non è mai una "scatola chiusa".

L'azione di fT3 si esplica all'interno del mitocondrio (la centralina energetica della nostra cellula) dove interagisce con la catena di trasferimento del potere energetico degli alimenti, che deve essere trasformato nel malleabile ATP, moneta di scambio di ogni processo energetico interno al nostro organismo.

Questa catena prende il nome di *catena dei citocromi* e può essere vista come una scala costituita da molti scalini, a ognuno dei quali – nel corso della discesa verso la completa ossidazione – corrisponde la produzione di un blocchetto di ATP. La presenza di fT3 semplicemente disaccoppia una parte degli scalini dalla produzione di ATP. Cioè, a parità di calorie assunte, se c'è molto fT3 in circolo (ovvero se la tiroide è molto attiva), produrremo meno ATP che se i livelli di ormone tiroideo fossero stati più bassi. In altre parole: tiroide lenta, tanto ATP; tiroide attiva, poco ATP.

Ma se le calorie introdotte sono le stesse, dove va a finire la differenza tra cibo ingerito e ATP prodotto nel caso di una tiroide iperattiva? In calore. Ecco dunque soddisfatta l'esigenza termodinamica di bilancio a somma zero tra energia assunta ed energia utilizzata. Ma dal nostro punto di vista c'è una differenza enorme se le 100 kcal del cioccolatino appena mangiato vanno in ATP (ovvero a nutrire i processi di accumulo e biosintesi) o si disperdono sotto forma di calore! Nel primo caso il corpo avrà assunto carburante che potrà usare per muoversi (se si muove) o per accumulare e creare depositi (adipe). Nel secondo si sarà solo riscaldato a spese del cibo assunto. Per quanto riguarda l'ingrassamento, dunque, c'è una differenza abissale.

La comprensione di questo punto ci dice perché chi segue dure diete ipocaloriche o cade nell'anoressia ha sempre freddo: non è solo la carenza di grasso sottocutaneo, ma anche e soprattutto la mancata produzione di calore causata da bassi livelli di fT3.

L'ipotiroideo si riconosce facilmente al tatto. Non è mai caldo. L'ipertiroideo è sempre bollente. La differenza ha un costo calorico, che rende la "finestra delle calorie" una finestra apertissima.

Cos'è che fa scegliere un'attività più o meno intensa alla tiroide? Basta risalire la scala all'indietro: TSH, poi TRH. E ci troviamo ancora nell'ipotalamo, il vero centro regolatore del nostro grasso corporeo. E cos'è che fa scegliere all'ipotalamo di secernere più o meno TRH? I segnali che riceve dall'interno o dall'esterno del corpo. Per esempio dalla leptina

(come brillantemente dimostrato da Lechan et al., 2006), il "lettore" interattivo del nostro stato nutrizionale.

È comprendendo la dinamica di questi segnali che potremo riuscire a indurre dimagrimento in chi ha eccesso di adipe, o ricostruzione metabolica e muscolare in chi abbia patito i danni di una prolungata dieta ipocalorica.

Se qualcuno dice: "Ok, bisogna mangiare tanta frutta e verdura, fare del movimento e stare attenti agli zuccheri: lo sapevamo già. Che c'è di nuovo?" mostra solo di non aver capito la profonda novità di un approccio dietologico e di attivazione tiroidea che rappresenta il futuro. È comprendendo il valore dei singoli comportamenti che si può ottenere un risultato stabile e duraturo.

Ciò che funziona, funziona perché manda un segnale al cervello che lo rende utile al nostro scopo. Se il segnale è insufficiente o se è contraddetto da un contemporaneo segnale che va nella direzione opposta, la sua utilità può essere nulla. Ad esempio: che succede se io rispetto al 100% buone regole alimentari rivolte all'attivazione tiroidea e al dimagrimento ma poi resto completamente sedentario, assumo dei cortisonici e resto sveglio ogni notte fino alle 4? Succede che i segnali ipotalamici relativi ai comportamenti errati manifesteranno ben presto i loro effetti negativi, vanificando il lavoro fatto sull'alimentazione.

Riuscire a capire il linguaggio dell'ipotalamo significa avere una guida chiara e precisa sui comportamenti da adottare, avendo ben chiare le priorità dell'organismo nel privilegiare questa o quella funzione. Sempre su basi rigorosamente scientifiche, riportate in bibliografia.

### **Il dialogo ipotalamo-tiroide-organismo tramite molecole segnale**

Solo negli ultimi anni sono state scoperte molte delle molecole segnale che i vari organi inviano al cervello per aiutarlo nelle difficili scelte metaboliche che ogni giorno e ogni ora è costretto a fare. Questi protagonisti hanno nomi noti e meno noti. Se di insulina e glucagone, colecistochinina e somatostatina molti hanno buona conoscenza, molti meno conoscono le dinamiche di interazione neurale di leptina, adiponectina, ghrelina, GLP1, NPY, PYY, resistina, che sono tuttavia in grado di influenzare in modo decisivo l'orientamento del nostro organismo verso il consumo o verso l'accumulo. Se vogliamo capire qualcosa di questa complessa rete di segnali, dobbiamo ragionare insieme sul significato di questi mediatori.

Quello che va capito prima di tutto è il fatto che le scelte omeostatiche e metaboliche del nostro cervello sono guidate da calcoli di tipo evolutivo, rivolti quindi ai nostri bisogni primari: sopravvivenza (termoregolazione e difesa), nutrizione, riproduzione. Tutto il resto è optional. Se vogliamo capire cosa vuole il nostro cervello dobbiamo prima pensare all'ambiente in cui esso si è evoluto.

L'evoluzione non ci ha forgiato per vivere in un paese industrializzato del terzo millennio, ma per sopravvivere, trovare cibo e riprodurci in piccole comunità di cacciatori raccoglitori nella savana o ai bordi della foresta. Le molecole che il nostro cervello usa, dunque, non sono altro che strumenti volti a facilitare la nostra sopravvivenza in quell'ambiente: ostile, ricco di pericoli e con cibo non sufficiente per tutti. Oggi le nostre dispense sono piene, ma il nostro cervello istintivo non lo sa: le informazioni su cui si basa sono

quelle che derivano dai segnali che gli mandiamo. Segnali molecolari, ovviamente. Sulla base di quelli, e solo di quelli, orienterà l'attitudine dell'organismo verso una tendenza all'accumulo o verso una naturale tendenza a restare magro e tonico.

La tiroide rappresenta l'organo esecutore più importante in questo delicato equilibrio, determinando con i suoi ormoni una maggiore o minore propensione verso l'accumulo. Non va tuttavia dimenticato che si tratta sempre di un esecutore, per quanto perfezionato. Il comando centrale parte dall'ipotalamo (che secreta TRH), il quale è a sua volta influenzato dalla secrezione adipocitaria di leptina, che altro non è se non lo specchio fedele del nostro livello nutrizionale e dell'assenza di fenomeni di disturbo nei confronti della nostra nutrizione.

## Effetti sulla tiroide dell'alimentazione e dello stile di vita

### Un po' di pratica clinica

"Sa, dottore, ho la tiroide un po' lenta", mi dicono spesso al primo incontro signore un po' in sovrappeso. È mia abitudine non accettare passivamente questa affermazione ma andare oltre, per capire che non si tratta di un inevitabile destino: con i nostri comportamenti possiamo modificare anche una tendenza naturale dell'organismo.

Che cosa succede quando la tiroide non lavora bene? Il ritratto dell'ipotiroidico è abbastanza facile da memorizzare, soprattutto in contrasto con quello – opposto – dell'ipertiroidico. L'ipotiroidico tende a essere facilmente in sovrappeso. La lentezza della sua tiroide a consumare nutrienti si riflette ben presto su fianchi e gambe grosse, seni voluminosi, diametro ventrale consistente, viso gonfio dai caratteristici occhi "semichiusi". La tiroide modula infatti la nostra maggiore o minore tendenza al consumo, decidendo se trasformare in energia utilizzabile (ipotiroidico) o in calore (ipertiroidico) ciò di cui ci nutriamo.

Dal punto di vista nervoso l'ipotiroidico è spesso lento, incline alla depressione, portato alla riflessione piuttosto che all'azione. Mani e piedi sono freddi, e ha la tendenza a coprirsi al primo spiffero. I suoi esami ematici sono orientati alla dislipidemia (colesterolo e trigliceridi alti) e la tendenza a ingrassare anche mangiando poco è molto forte.

L'ipertiroidico, al contrario, ha l'aspetto di un furetto, talora deperito, con gli occhi fuori dalle orbite e spesso tachicardico. Mangia come un lupo senza particolare timore di ingrassare, e si scopre con facilità anche se fa molto freddo. I suoi piedi e le sue mani sono sempre bollenti. Questa diversità, tuttavia, non è una condanna divina. Ciò che spesso sfugge è che alle disfunzioni della tiroide si può talvolta rimediare, semplicemente applicando al proprio stile di vita quelle regole in grado di stimolare l'attività tiroidea attraverso la secrezione di leptina: adeguatezza dell'apporto calorico, colazione mattutina ricca, adeguato apporto proteico a ogni pasto e movimento fisico intenso e regolare. Ovviamente tutto ciò che va nella direzione opposta (sedentarietà, diete ipocaloriche, carenze proteiche e minerali) è in grado di rallentarne l'attività.

E allora la domanda giusta da porsi è "Perché la mia tiroide è lenta?". Il fatto che esistano predisposizioni genetiche è un motivo ancora più forte per impegnarsi. Molte persone affette magari da una tiroidite di Hashimoto (a causa della positività degli anticorpi antiTPO) che stanno già assumendo la terapia sostitutiva ormonale potrebbero ridurre gradualmente il dosaggio sotto stretto controllo medico, valutando la discesa dei valori di TSH ematico. Quando si incomincia ad applicare con regolarità uno stile di

vita rivolto alla naturale stimolazione della tiroide, il messaggio "Lei ha la tiroidite, deve prendere un farmaco tutta la vita" può non essere più del tutto corretto.

Chi ancora crede fermamente nel valore delle calorie come elemento determinante di ingrassamento e dimagrimento (nonostante i numerosi lavori scientifici degli ultimi 15 anni che spostano l'interesse verso altri fattori) si sarà probabilmente chiesto per quale arcano motivo vi siano individui che mangiano come lupi affamati senza mettere su un solo grammo di grasso, e al contrario sfortunati esseri che, per quanto seguano costantemente diete restrittive, non perdono un grammo se non in versione yo-yo. L'organo che determina la maggiore o minore tendenza a "spendere" del nostro organismo è la tiroide. I lupacchioti sono dunque ipertiroidi (hanno cioè una tiroide iperattiva, che tende a fare loro sprecare in calore gran parte dell'introito calorico assunto col cibo), mentre i "sempre-a-dieta" sono spesso ipotiroidi, ovvero individui la cui funzione tiroidea è rallentata e che trasformano in ATP (cioè in energia utilizzabile) la quasi totalità delle calorie assunte con il cibo.

L'errore di fondo che molti commettono è quello di pensare che la tendenza all'iper- o all'ipotiroidismo sia un tratto imm modificabile della singola persona. Benché non si possano negare tendenze familiari verso l'una o l'altra attitudine, deve essere ben compreso che la tiroide è semplicemente un esecutore. Un esecutore molto efficiente, che prende però ordini dall'ipofisi, che a sua volta prende ordini dall'ipotalamo. E l'asse ipotalamo-ipofisi-tiroide, che connette cervello e organismo per il delicato compito della gestione delle scorte, si muove secondo criteri di prudenza acquisiti in epoche preistoriche nel corso della nostra evoluzione: se c'è da mangiare la tiroide può lavorare; se non c'è da mangiare, meglio che rallenti.

Sembra elementare, ed è per giunta documentato da numerosi lavori scientifici recentissimi (si veda in proposito il bellissimo lavoro di Lechan (2006) su *Progress in Brain Research*, che documenta l'effetto della leptina sui neuroni secernenti TRH). Ma allora perché la presenza di iper- o ipotiroidismo viene ancora vissuta come una condanna a vita, e quasi sempre assistita farmacologicamente anche quando non strettamente necessario?

L'intervento farmacologico diventa indispensabile solo per chi la tiroide non ce l'ha più per motivi chirurgici. Anche in questi pazienti, comunque, possono essere tenuti sotto controllo tutti gli altri fattori ipotalamici di accelerazione o di rallentamento metabolico, anche attraverso una piena attivazione della trascrizione delle UCP (*uncoupling proteins*) adipose e muscolari. Senza tiroide si vive, senza ipotalamo no.

### **Le UCP, proteine mediatrici del consumo, stimulate dal movimento**

Un lavoro di Noland (2003), pubblicato su *Metabolism*, ha dimostrato con grande chiarezza che il lavoro sportivo ad alta intensità induce nelle cellule muscolari l'espressione delle cosiddette UCP o uncoupling proteins (proteine disaccoppianti). Il compito di queste proteine, nella cellula muscolare, è quello di aumentare lo "spreco" energetico sotto forma di calore, svuotando così le cellule di ogni deposito adiposo inutile o superfluo, un po' come fT3 fa su altri tessuti.

Le UCP sono il "braccio armato" degli ormoni tiroidei, il cui compito è appunto quello di aumentare i consumi energetici attraverso un disaccoppiamento a livello del mitocondrio tra energia chimica introdotta con gli alimenti e trasformazione della stessa in

ATP. Attivare le UCP con il movimento fisico è dunque una seconda via di grande efficacia, accessibile, tanto per esemplificare, anche a chi abbia una tiroide ipofunzionante o addirittura sia stato privato della stessa per via chirurgica.

Noland però ci spiega con chiarezza (il titolo del suo lavoro è "Acute endurance exercise increases skeletal muscle UCP3 gene expression in untrained humans") che tali modifiche vengono indotte da "acute endurance exercise", ovvero da un lavoro intenso e prolungato. Non dunque un lavoro intenso e breve (come quello ottenibile con le consuete macchine da palestra), né con un lavoro blando e prolungato (come di solito si consiglia per fare lavoro "aerobico") ma con un lavoro di endurance, possibilmente "acute".

Tutto questo spiega in modo abbastanza evidente come mai atleti che svolgono lavori di intensità restano spesso magri e tonici, mentre non sempre avviene lo stesso in chi fa sport a intensità troppo bassa. Intendiamoci: correre o pedalare a lungo e lentamente è un ottimo mezzo per dimagrire, e per taluni – impossibilitati magari per motivi cardiovascolari – può essere anche l'unico modo intelligente per muoversi. Ma chi può farlo fa sicuramente bene a inserire nel programma lavori di intensità, come variazioni di ritmo, salite, progressioni di velocità. Il processo di dimagrimento, e di attivazione tiroidea, subisce così una potente accelerazione, in cui co-protagonista è l'ormone adiponectina, secreto – come suggerisce il nome – dalle nostre cellule adipose, il cui compito è proprio quello di leggere la quantità di scorte grasse disponibili, stimolando ulteriormente le UCP (anche le UCP1 e 2 dei tessuti grassi bianco e bruno) per trasformarci in veri e propri "corridori della savana": magri e tonici.

Non va dimenticato che l'adiponectina, coerentemente con il suo nome, attiva la lipolisi solo se contemporaneamente vi è secrezione di leptina, ovvero se l'alimentazione quotidiana raggiunge il fabbisogno calorico richiesto dall'organismo. In assenza di questo parametro (come avviene per esempio nel corso di una dura dieta ipocalorica) non vi è adiponectina che tenga. Il consumo del grasso in eccesso sarà rimandato a quando l'alimentazione tornerà a essere almeno normocalorica, perché in regime ipocalorico l'ipotalamo non trova evolutivamente conveniente consentire l'eliminazione delle scorte di grasso né tantomeno la costruzione di nuovo muscolo.

Per capire a fondo quanto detto occorre naturalmente ragionare in termini di segnale e non più di calorie. I grassi che non avremo consumato nel corso del singolo allenamento li consumeremo in misura dieci volte maggiore nel periodo tra un allenamento e l'altro, proprio grazie all'attivazione delle proteine disaccoppianti, posto naturalmente che gli altri segnali da noi inviati siano coerenti con quello: alimentazione quantitativamente ricca, adeguata quantità di proteine, buone colazioni.

### **È obbligatorio sempre intervenire farmacologicamente?**

Gli ormoni tiroidei rappresentano un tassello fondamentale nella regolazione del metabolismo basale di un individuo. Il funzionamento della tiroide è necessario per tutto l'organismo e non regola esclusivamente i processi di ingrassamento e dimagrimento. Sempre più studi scientifici puntano l'attenzione sulla stretta relazione tra funzione tiroidea e scelte alimentari: i segnali di stimolo del metabolismo rivestono un ruolo sempre più centrale nella regolazione della produzione di ormoni tiroidei.

Proprio per questo nella modulazione della funzione tiroidea è fondamentale dare all'organismo i giusti segnali di ricchezza. La giornata deve cominciare con una prima

colazione davvero abbondante, è importante abbinare a tutti i pasti carboidrati e proteine e il movimento deve diventare parte integrante della propria quotidianità. Questi preziosi segnali metabolici hanno risvolti positivi sulla liberazione di molecole importanti prodotte dal tessuto adiposo quali la leptina, l'adiponectina e la resistina. Queste adipochine svolgono la loro funzione a livello dell'ipotalamo, che è il vero centro di regolazione del sistema endocrino e quindi anche della tiroide (vedi l'interessante studio di C.H. Chu e colleghi su *Metabolism*, ottobre 2008).

Quando si parla di alterazioni del funzionamento della tiroide si parla spesso di tiroiditi e cioè di un'inflammatione del tessuto tiroideo. Da un punto di vista scientifico è ben nota la stretta correlazione tra tiroiditi e inflammatione allergica, arrivando quasi a definire il concetto di "tiroidite allergica" (vedi il lavoro di K. Takeoka (2003) sull'aumento dell'attacco anticorpale alla tiroide sotto rinite allergica). Per questo motivo sarebbe importante indagare il quadro immunologico del paziente con lo studio delle allergie alimentari ritardate. L'impostazione di una dieta di rotazione settimanale che rispecchi lo svezzamento infantile permette talvolta il recupero della tolleranza immunologica e quindi la riduzione dell'inflammatione generale dell'organismo. La regolazione della componente flogistica è spesso di grande aiuto per permettere il ripristino della funzione tiroidea.

A volte è rassicurante poter associare i propri sintomi a una patologia, soprattutto se facilmente controllabile con una pastiglia. La reazione tipica della persona alla quale viene diagnosticato un ipotiroidismo autoimmune è quasi di liberazione: "Ecco perché non riesco a dimagrire!".

Una volta fatta la diagnosi (che, ricordiamolo, richiede evidenza di autoanticorpi anti-tireoperossidasi, un enzima indispensabile per la produzione dell'ormone tiroideo) si presentano due vie: tenersi i sintomi della tiroide lenta, come stanchezza, sonnolenza, ingrassamento, bradicardia, stitichezza, oppure, come caldamente suggerito dai testi di endocrinologia, iniziare una terapia ormonale sostitutiva a base di levotiroxina (Eutirox), secondo il principio base che di ipotiroidismo non si guarisce e che il farmaco debba essere assunto per la vita intera, talvolta con dosaggi crescenti. Gli ormoni deficitari vengono così assunti con una compressa, ma poiché l'attività dell'ipofisi, che regola la tiroide, è regolata (con feedback negativo, cioè con inibizione dello stimolo) a sua volta dalla quantità di ormoni che la tiroide secerne, se si forniscono ormoni dall'esterno l'attività dell'ipofisi tenderà a diminuire. Inizia così una trafila farmacologica che porta gradualmente alla dipendenza totale dal farmaco.

È evidente che la regolazione naturale, da parte del nostro organismo sano, della secrezione dell'ormone tiroideo è sempre perfettamente modulata: quando però l'intervento umano si sostituisce a questa fine regolazione possono nascere problemi. È tuttavia molto raro trovare professionisti che scelgano la strada dell'intervento sullo stile di vita. Che pure non è particolarmente difficile: basta monitorare con regolarità i livelli del TSH e ridurre con prudenza i dosaggi via via che i valori scendono, con la stessa serenità con cui vengono alzati quando salgono.

È dunque di estremo interesse approfondire in quale misura la corsa e l'attività fisica in genere, se abbinate a regimi alimentari caloricamente adeguati in relazione al dispendio energetico sportivo, siano potenti stimolanti naturali della tiroide. Al contrario, uno stretto controllo calorico, soprattutto se prolungato, può rallentare drammaticamente

l'attività tiroidea con tutti i problemi connessi. Alla base di molti ipotiroidismi sta infatti proprio un malinteso approccio dimagrante, basato sulla restrizione calorica. Il segnale negativo della "carestia", soprattutto se prolungato nel tempo, può rallentare l'attività tiroidea in modo tanto consistente quanto indesiderato.

Queste dunque le premesse scientifiche al lavoro qui impostato. Se il rallentamento tiroideo è in un'importante quota parte imputabile a scorrette abitudini alimentari e di stile di vita, dovrebbe essere possibile intervenire in senso positivo sulla patologia in atto semplicemente modificando le scorrette abitudini e sostituendole con altre più funzionali, e in particolare:

- una regolare attività fisica pressoché quotidiana;
- una dieta normocalorica e normoproteica bilanciata, volta a compensare interamente il consumo energetico sportivo;
- una integrazione compensativa con sostanze naturali documentatamente attive (selenio, tirosina, antiossidanti, vitamine, alghe);
- un controllo dei fattori interni di disturbo (patologie concomitanti, infiammazione di base, assunzione di farmaci, insonnia, stress ecc.);

Ho dunque cercato di ridurre la posologia del farmaco sostitutivo lavorando su tutti i fattori complementari sopra indicati.

## Il lavoro sperimentale

### Apparecchiature utilizzate e metodo di lavoro

Per il controllo della composizione corporea dei pazienti, in termini di grasso, muscolo e acqua, ho fatto uso nei miei studi di Costigliole Saluzzo (CN), Revine Lago (TV) e Vimercate (MB), di un'apparecchiatura denominata BIA 101, internazionalmente validata (Piccoli et al., 1995) prodotta dalla Akern, i cui dati sono stati letti dal software Bodygram Pro 3.0.

BIA 101 mostra direttamente sul display i valori di resistenza e reattanza ottenuti dall'iniezione di una corrente costante, sinusoidale, a 50 kHz e 400 microampere di intensità. L'analisi dei valori bioelettrici e le stime quantitative della composizione corporea (con modello tricompartimentale) sono eseguite da un software in dotazione (Bodygram Pro 3.0), che l'utente installa sul proprio PC (dotato di sistemi operativi Microsoft). Il dispositivo è in uso a oltre ventimila utenti, e può vantare almeno tremila pubblicazioni scientifiche.

### La bioimpedenziometria

Quando un medico o un nutrizionista si trova ad analizzare per la prima volta la struttura fisica di un paziente, ha la necessità di quantificare con precisione la sua composizione corporea in termini di massa muscolare, massa grassa, idratazione. Queste informazioni non sono le sole, naturalmente, che verranno osservate. L'esame obiettivo deve prevedere anche un'attenta indagine sull'aspetto interno ed esterno, dallo stato della pelle alle dimensioni del fegato, da eventuali occhiaie fino all'esame di odori, macchie, posture scorrette ecc. L'esame della composizione corporea è

tuttavia particolarmente importante e lo si ottiene tramite un esame detto bioimpedenziometria, che usa appunto l'impedenza per ottenere i dati biologici ricercati. Risulta particolarmente importante analizzare la composizione corporea ogniqualvolta ci si proponga un intervento alimentare correttivo, come in questo caso nell'analisi del paziente con problemi tiroidei. Come giudicare infatti un calo di peso di 2 kg, o un analogo incremento, senza sapere che cosa si è perso e cosa invece guadagnato? Una corretta attivazione tiroidea porta al recupero di massa muscolare e alla perdita di grasso. Tali dati sono dunque di grande utilità per monitorare il corretto andamento della cura in corso.

Credo che un gran numero di diete alla moda o commerciali, dal digiuno terapeutico alle assurde diete iperproteiche o chetogeniche, si scioglierebbero come neve al sole se un'affidabile bioimpedenziometria indicasse con chiarezza cosa si è perso e cosa guadagnato. Chi segue come unica strada per il dimagrimento la restrizione calorica farà bene a controllare cosa succede alla massa muscolare del paziente a dieta: può essere che scopra che i chili persi sono solo di prezioso muscolo, mentre il grasso è sempre lì, senza alcuna intenzione di andarsene.

## I pazienti

I pazienti eleggibili per l'inserimento nello studio sono stati visitati, in uno dei miei studi medici succitati, in un periodo di tempo compreso tra il giugno 2011 e luglio 2013.

La visita durava all'incirca un'ora e mezza (un'ora per i controlli) e prevedeva ogni volta il riesame bioimpedenziometrico della composizione corporea.

I pazienti con problemi di ipotiroidismo ricontrollati almeno una volta sono stati 38. Tra questi, 5 uomini e 33 donne (il che riflette sia una maggiore tendenza femminile verso questo tipo di patologia, sia la maggiore presenza femminile all'interno di uno studio che si occupa di nutrizione).

In aggiunta ai 38 pazienti analizzati, sono stati da me visitati altri 7 pazienti con ipotiroidismo che non si sono mai presentati alla visita di controllo e che non hanno quindi potuto essere inseriti nello studio, mancando un dato di confronto. Tali pazienti non possono essere considerati "non aderenti alle indicazioni" (non compliant) perché in alcuni casi il tempo intercorso tra data prima visita e fine del lavoro di analisi non ha consentito loro di ripresentarsi con nuovi esami.

Nessun paziente, tra quelli ripresentatisi al controllo, è stato escluso dall'analisi.

L'età media degli uomini era di 45,6 anni (età minima 40, età massima 54).

L'età media delle donne, 41,9 anni (età minima 13 anni, età massima 62).

L'età media dell'intero campione, 42,4 anni.

Il periodo medio di cura preso in riferimento è stato di 7,1 mesi (da un minimo di un mese a un massimo di 23 mesi).

## Dati rilevati

Sono stati rilevati, per ciascun paziente, i valori del TSH e del fT4 al momento dell'inizio della cura (basata su alimentazione normocalorica e normoproteica, in abbinamento a un'adeguata attività fisica di frequenza pressoché quotidiana) e al momento dell'ultima visita disponibile al 4/7/13. Sono inoltre stati rilevati, nelle stesse date, i chili di massa grassa misurati dal bioimpedenziometro.

## Logica dell'intervento terapeutico

Nell'affrontare le problematiche del singolo paziente si è cercato di capire (come peraltro ben documentato in letteratura) se fosse possibile intervenire, con un incremento dell'attività fisica contemporaneo a un rigoroso rispetto della normocaloricità e della normoproteicità della dieta, con enfasi sulla colazione del mattino, sul ripristino naturale della funzionalità tiroidea, attraverso la mediazione leptinica sull'ipotalamo e la conseguente naturale secrezione di TRH da parte dei neuroni TRH-secerntenti (Lechan 2006).

La normocaloricità è stata perseguita attraverso la scomparsa della sensazione di fame (al paziente era richiesto di effettuare solo tre abbondanti pasti al giorno, seppure con consumo libero di frutta e verdura cruda fuori dai pasti, studiati quantitativamente in modo da non avere mai fame tra un pasto e l'altro). La contropartita, naturalmente, è stata quella di fare uso solo di alimenti non in grado di falsificare la sensazione di fame, come zuccheri semplici estratti dai loro naturali "contenitori" (Page et al. 2013) o farine raffinate, come pane bianco e pasta bianca. Ho fatto dunque leva sui due più forti stimoli tiroidei diretti, che sono un'attività fisica regolare, e possibilmente quotidiana, e un'abbondanza alimentare che garantisca gli adeguati flussi di leptina dagli adipociti. Quantità e qualità degli alimenti però devono andare a braccetto, è dunque fondamentale indurre nel paziente in cura anche i seguenti comportamenti, mutuati dalle regole consigliate dalla dieta GIFT:

1. colazione ricca e completa;
2. adeguata quantità di proteine in ogni pasto;
3. controllo dei picchi glicemici;
4. abbondante utilizzo di frutta e verdura fresche;
5. elevata qualità dei cibi (fibra, integrale);
6. rifiuto di cibi spazzatura (edulcoranti, cibi raffinati);
7. lunga masticazione;
8. adeguata attività fisica (di intensità e/o durata);
9. riduzione dell'infiammazione attraverso il controllo delle ipersensibilità alimentari (vale la pena ricordare come la flogosi sia un fattore di peggioramento nelle tiroiditi);
10. buon equilibrio psicofisico (controllo dello stress e del sonno).

## La terapia

Quando il paziente aveva un TSH su valori accettabili (entro i range normali o poco più alto) e mostrava di applicare correttamente le indicazioni alimentari e di stile di vita ricevute, oppure mostrava un quadro bioimpedenziometrico molto rassicurante (calo di massa grassa e contemporaneo aumento della massa muscolare) venivano tolti (deprescritti) 25 µg di levotiroxina.

Dopo il naturale (e atteso) aumento dei valori di TSH si attendeva fino a normalizzazione degli stessi, per procedere a una nuova riduzione.

In alcuni casi sono stati usati integratori naturali. In fase di discesa del dosaggio di levotiroxina sono stati utilizzati del selenio (selenio e vitamina C), un mix antiossidante a base di Deuteriosulfazyme (Cellfood®) e, dove necessario, un integratore multivitaminico sublinguale (Multivitamin spray – Eurodream) per mantenere naturalmente alto il metabolismo o combattere potenziali fattori di rallentamento.

## I risultati

### *Riduzione dei dosaggi di levotiroxina*

Tutti e 38 i pazienti seguiti hanno ricevuto indicazione alla riduzione del dosaggio di levotiroxina in uso al momento della prima rilevazione (non sempre in occasione della prima visita: più spesso quando, dopo un primo controllo, si era potuta rilevare una buona aderenza ai comportamenti indicati con effetti visibili sui valori di TSH).

Di questi, ben 16 pazienti (il 41% del campione) hanno potuto completamente eliminare l'assunzione del farmaco in uso (825 µg/die complessivi, con quindi una riduzione media di 51,5 µg/die, pari al 100% del dosaggio utilizzato), mentre in 4 altri casi non è stata mai effettuata somministrazione di levotiroxina nonostante una precisa prescrizione già ricevuta dal paziente. Il che significa che il 52,6% dei pazienti seguiti ha potuto smettere l'assunzione del farmaco in uso o comunque evitare di iniziarne l'assunzione dopo prescrizione medica già ricevuta.

Gli altri 18 pazienti (con dosaggi di levotiroxina che andavano da 25 fino a 200 µg) hanno ridotto il dosaggio di levotiroxina complessivamente di 587,5 µg, ovvero 32,6 µg per paziente. Percentualmente (poiché il totale assunto da questi 18 era pari a 1762,5 µg/die) significa una riduzione pari al 33,3% del dosaggio in uso.

### *Variazione dei valori di TSH e fT4*

Il primo dato da rilevare è che la totalità dei pazienti, nonostante qualche oscillazione sui valori di TSH (soprattutto nelle prime settimane dopo la riduzione del dosaggio, in conseguenza dell'"addormentamento" tiroideo indotto dal farmaco), ha sempre mantenuto l'fT4 (e quando misurato l'fT3) all'interno del range di normalità, senza dunque correre mai il rischio di una non gradita sintomatologia. Benché forse superfluo, vogliamo qui ricordare (perché non chiaro a molti pazienti) che la quantità di ormone tiroideo in circolo è mantenuta sempre normale se i valori di fT4 e fT3 sono nel range corretto, anche se in presenza di valori di TSH molto elevati. Ho rilevato personalmente pazienti che per vari motivi avevano rifiutato per anni le cure ormonali, con TSH elevatissimi (anche 90 e più), che mantenevano un fT4 normale ed erano assolutamente asintomatici. Non mi sono dunque mai spaventato quando talvolta i valori di TSH (soprattutto nel periodo invernale) schizzavano a 7 o 8 per qualche tempo, non appena ridotto il dosaggio dall'esterno. Con le giuste attenzioni tali valori riscendevano rapidamente verso la normalità, se il paziente applicava con scrupolo normocaloricità, normoproteicità e attività fisica regolare. L'interruzione a luglio 2013 dello studio ha interrotto anche alcuni processi di riduzione del farmaco in corso fotografando situazioni non ancora ottimali. Le abbiamo comunque registrate così com'erano al momento dell'ultima rilevazione.

Nonostante tutte queste considerazioni, ho rilevato che:

- 7 pazienti avevano addirittura diminuito il loro valore di TSH tra pre e post cura;
- 23 pazienti avevano valori di TSH prima/dopo nel range di normalità (0-5).

Dunque 30 pazienti su 38 (il 79% del campione) non avevano in alcun modo risentito della riduzione di dosaggio di levotiroxina.

Gli altri 8 pazienti hanno avuto incrementi di TSH molto variabili, per un totale di 88,2 punti (ovvero di 11 punti medi per paziente, in realtà dovuti a un forte rialzo avvenuto in soli 3 pazienti molto poco "compliant" nei confronti delle indicazioni ricevute).

Il valore del TSH nei pazienti trattati è dunque sceso o rimasto su valori di totale normalità, innalzandosi solo in 8 pazienti (21%) di cui 3 soli (il 7,9%) con valori rilevanti.

#### *Variazione dei valori di massa grassa*

Dei 38 pazienti analizzati solo 8 hanno avuto un aumento di massa grassa riducendo o sospendendo l'assunzione di levotiroxina. Di questi, 3 si trovavano in condizioni di forte restrizione calorica e/o deperimento, così che l'aumento di massa grassa deve intendersi solo come dato positivo ai fini della salute dell'individuo. Solo 5 pazienti su 38, dunque, hanno visto un lieve ingrassamento conseguente alla riduzione del dosaggio. Gli altri 33 hanno visto migliorata la loro situazione, nonostante, in qualche caso, si sia avuto anche un discreto peggioramento dei valori di TSH. È un dato rilevante, in un mondo in cui è frequente sentir dire che somministrazioni di ormone tiroideo (anche in eccesso, come avviene in alcune diete basate su pasticche artigianalmente preparate) possano fare rapidamente dimagrire. Evidentemente le dinamiche di segnale del nostro organismo sono un po' più complesse di quanto si voglia credere.

La variazione di massa grassa (somma algebrica di chi ha guadagnato e chi ha perso) sui 35 pazienti "non deperiti" è stata complessivamente di -31,5 kg, pari a una perdita media di 0,9 kg per paziente.

I 3 pazienti "deperiti" hanno invece guadagnato complessivamente 7,4 kg (mediamente 2,47 kg ciascuno).

La salute complessiva dei pazienti appare dunque sensibilmente migliorata, sia per il dimagrimento (o irrobustimento) ottenuto, sia per l'abitudine acquisita verso un'attività fisica quotidiana, in grado di migliorare molti altri parametri.

## **Conclusioni**

Si è documentato su un piccolo campione, ma sulla totalità degli accessi al mio studio con problemi di ipotiroidismo, la concreta possibilità di ridurre il dosaggio di ormone tiroideo sostitutivo o addirittura di deprescriberlo completamente, sfruttando le possibilità terapeutiche insite negli stimolanti naturali della leptina: normocaloricità, normoproteicità e cronobiologia della dieta, abbinate alla pratica di una regolare attività sportiva di tipo aerobico.

Non solo la deprescrizione ha avuto effetti del tutto accettabili sulla variazione del TSH ipofisario (pienamente nella norma o addirittura diminuito per il 76% del campione), ma ha addirittura consentito alla frazione del gruppo in cerca di dimagrimento la perdita media di 0,9 kg di grasso puro.

Questi dati possono indubbiamente sconvolgere qualche certezza in campo endocrinologico, anche se provenienti da soli tre studi medici e da un solo terapeuta. Tuttavia ci costringono a riflettere sulla "fretta" di prescrivere che contraddistingue molti, troppi colleghi, mentre con interventi su alimentazione, stile di vita e integrazione naturale si potrebbe spesso rimandare la correzione farmacologica, o in alcuni casi evitarla del tutto. Non è mai inutile ricordare che una soppressione farmacologica di un sintomo talvolta genera reazioni uguali e contrarie (come in questo caso un'ulteriore disattivazione della funzionalità tiroidea in risposta agli alti dosaggi di ormone sostitutivo), mentre una cura che proviene dall'interno (per quanto più complessa) può talvolta rimuovere completamente la causa originaria del problema.

Questo modo di operare si chiama “Medicina di segnale” (più di 180 medici sono riuniti in un’associazione che prende il nome di Ampas: medici per un’alimentazione di segnale) e rappresenta un tentativo di vera cura delle patologie tiroidee invece che una semplice soppressione sintomatica. La competenza del medico e l’individualità del singolo paziente faranno la differenza nella scelta delle modalità di trattamento; lontani da protocolli e linee guida che, invece di aiutare il lavoro del medico, lo rendono talvolta meccanico, ripetitivo e – lasciatemelo dire – meno nobile e dignitoso. Uscire da un ipotiroidismo, in molti casi, si può. Ciascuno di noi medici usi le sue conoscenze e competenze per fare del suo meglio nel rispetto del giuramento di Ippocrate che impone, prima di tutto, di non fare danno.

Curare un paziente significa cercare, ove sia possibile, di restituirgli la salute. La soppressione di un sintomo temporaneo (e talvolta addirittura la semplice modifica di un valore ematochimico sul foglio delle analisi) non sono obiettivi primari ma collaterali. Perdere di vista il recupero della piena salute per inseguire un obiettivo secondario non è e non deve essere lo scopo dell’intervento medico. Anche solo una piccola riflessione su questo non sarà tempo sprecato.

## 5.7 Dimagrimento localizzato, attività fisica e ossigeno

*Massimo Spattini*

L’argomento del dimagrimento localizzato è a tutt’oggi molto controverso e dibattuto. I metodi per combattere il grasso localizzato normalmente comprendono approcci dietologici, trattamenti medico-estetici e attività fisica mirata a una zona target. I trattamenti medico-estetici (da quelli più invasivi come la liposuzione fino a quelli più recenti e meno invasivi come la cavitazione ultrasonica) producono, senza dubbio, risultati in quanto agiscono direttamente sul tessuto adiposo localizzato. Per quanto riguarda invece i trattamenti estetici, che spesso prevedono la combinazione di principi attivi lipolitici o drenanti con macchinari e metodologie in grado di favorire la circolazione a livello locale, esistono meno evidenze scientifiche che risultano, tuttavia, apprezzabili dal punto di vista osservazionale. È altresì ormai universalmente riconosciuto il fatto che determinate prevalenze ormonali favoriscono l’accumulo di grasso distrettuale, ad esempio il cortisolo nella schiena, l’insulina nell’addome, gli estrogeni nei glutei e nella regione peritrocanterica e bassi livelli di testosterone con aumento di grasso viscerale (Angelozzi et al., 2013) e, dato che la manipolazione dell’assunzione di macronutrienti, sia in senso quantitativo che temporale, è in grado di influenzare le secrezioni ormonali (concetti della DietaCOM® o Cronormorfodietà), è ovvio che una dieta che tenga conto di questi concetti possa promuovere il dimagrimento localizzato.

Nel 2011 è stato pubblicato uno studio riguardante l’effetto di una dieta ricca di carboidrati alla sera sul dimagrimento a livello addominale. Questo studio (Sofer et al., 2011), è stato condotto su 78 ufficiali di polizia israeliani aventi un BMI > 30. Successivamente i soggetti – dopo aver eseguito analisi antropometriche (BMI, circonferenza vita, peso, massa grassa), biochimiche (colesterolo totale, HDL, LDL, HOMA index) e dei markers infiammatori (TNF- $\alpha$ , IL-6, CPR) – sono stati divisi in due gruppi a cui sono state somministrate due tipologie di diete ipocaloriche di circa 1300-1500 kcal: il gruppo di controllo ha seguito una dieta standard, con tutti i macronutrienti suddivisi in tutti i pasti,

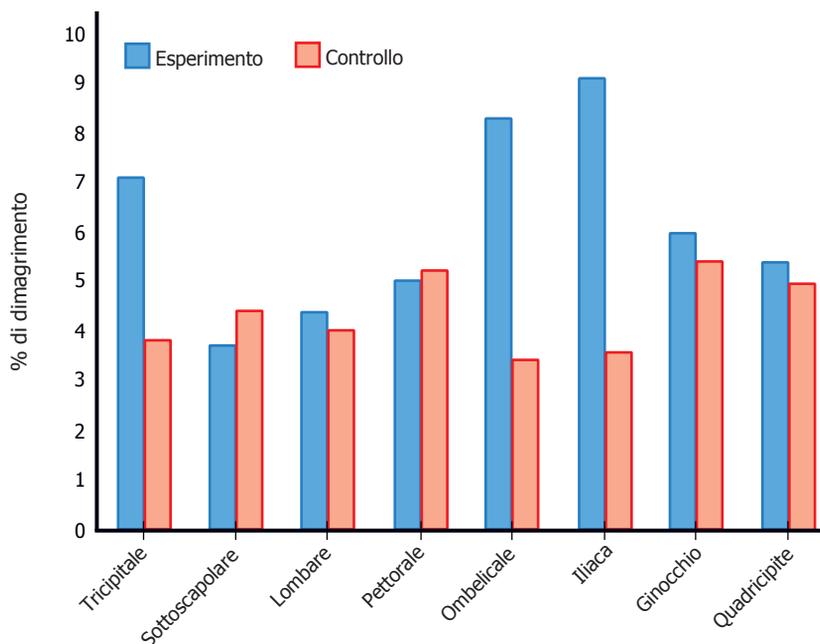
mentre nel gruppo sperimentale è stata somministrata una dieta ipocalorica con il 70% circa dei carboidrati totali assunti a cena. Questo regime alimentare è stato protratto per 6 mesi, alla fine dei quali sono state condotte le analisi ematiche e antropometriche di controllo. Il risultato ha dimostrato come il gruppo sperimentale abbia diminuito tutti gli indici antropometrici presi in esame, ovvero: circonferenza vita, BMI, peso e massa grassa; inoltre, in confronto con il gruppo di controllo, quello sperimentale ha migliorato tutti i markers infiammatori, aumentato l'HDL, diminuito l'LDL, ridotto il colesterolo totale e migliorato l'indice HOMA per l'insulinoresistenza. Inoltre la dieta sperimentale ha portato a una modificazione della concentrazione giornaliera di leptina e di adiponectina, confrontate con i valori del gruppo di controllo sia al tempo iniziale che al tempo finale. In sostanza si è visto come lo spostamento dell'assunzione di carboidrati alla sera abbia avuto un effetto positivo su tutti gli indici presi in esame e abbia portato a un dimagrimento maggiore senza avere ripercussioni sul senso di sazietà dei soggetti; inoltre vi sono stati degli importanti miglioramenti verso tutti quegli indici implicati nell'insulinoresistenza e nella sindrome metabolica.

Se le evidenze scientifiche dimostrano che diverse morfologie necessitano di approcci nutrizionali differenziati, la cenerentola del dimagrimento localizzato è sempre stata l'attività fisica, nonostante sia la principale ragione per la quale le persone praticano esercizio fisico e vanno in palestra. I gestori e gli istruttori delle palestre possono confermare che l'obiettivo di una grande fetta degli utenti è il dimagrimento in determinate zone del corpo e la tonificazione. L'individuo obeso cerca il dimagrimento soprattutto tramite l'approccio dietologico a volte estremo e/o un'attività fisica di supporto generalizzata, mentre colui che ha solo il problema di grasso localizzato cerca più spesso la soluzione tramite strategie di attività fisica mirata, come per esempio l'esecuzione di centinaia di sollevamenti del busto per dimagrire nell'addome. Ma nello stesso ambiente del fitness a livello internazionale l'opinione prevalente è che ciò non sia possibile e questo emerge chiaramente digitando il termine "spot reduction" su un motore di ricerca.

La ragione principale per la quale il dimagrimento localizzato è ritenuto irrealizzabile dipende dal fatto che gli acidi grassi utilizzati a scopo energetico dal muscolo provengono da due fonti: 1) dal grasso intramuscolare; 2) dal sangue che apporta gli acidi grassi derivanti anch'essi dalla nutrizione e dalla lipolisi del tessuto adiposo indotta dagli ormoni che agiscono sui depositi di grasso tramite la circolazione sanguigna.

In parole povere il dimagrimento localizzato direttamente prodotto dall'attività fisica può solo riguardare il grasso intramuscolare e non il grasso sottocutaneo del tessuto adiposo sovrastante l'area muscolare allenata. Lo studio scientifico utilizzato per valutare l'incidenza della "spot reduction" (Katch e McArdle, 1993) ha confrontato le pliche cutanee degli avambracci destro e sinistro in giocatori di tennis ad alto livello, ed è stato assunto che lo spessore di grasso sottocutaneo nell'arto dominante (maggiormente soggetto a esercizio fisico) non era significativamente diverso da quello sottocutaneo nell'altro arto meno utilizzato. In realtà questo studio presenta molti limiti: primo fra tutti la scelta del campione costituito da campioni (scusate il gioco di parole) con una percentuale di grasso totale bassissima che si riflette senza alcun dubbio anche sullo spessore della plica, tra l'altro non certo sede di accumulo preferenziale anche per i soggetti sovrappeso (l'avambraccio) e quindi difficilmente in grado di evidenziare differenze significative.

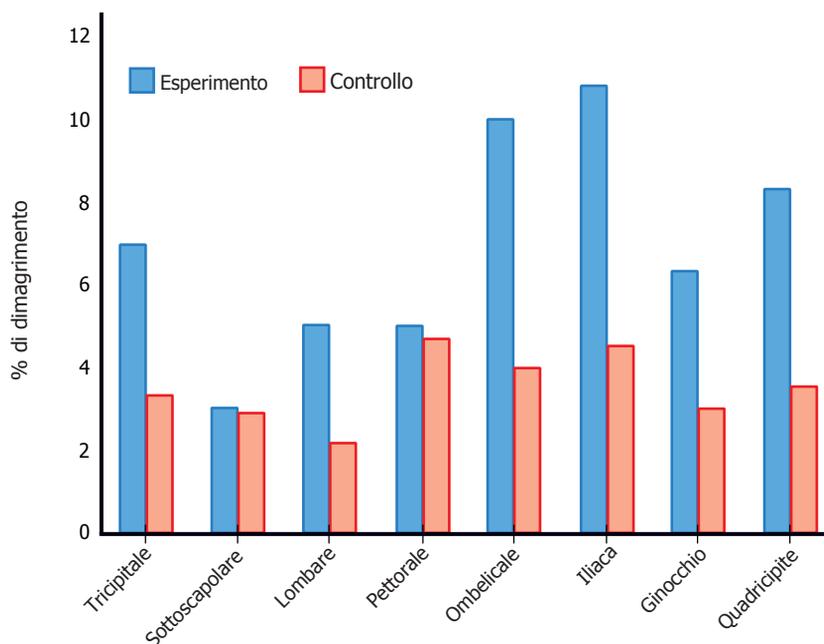
Tuttavia, immediatamente dopo, nel 1994, uno studio (Dussini et al., 1994) riusciva a dimostrare l'efficacia di un particolare metodo di allenamento a circuito aerobico nella riduzione localizzata dell'adipe; metodo che viene appunto denominato *spot reduction*. Lo studio dimostrò che un circuit training coi pesi, meglio denominato *peripheral heart training* o PHT, che comprende esercizi specifici per determinate aree corporee, intervallato da esercizi aerobici su macchine di cardiofitness, senza recupero tra le serie, riusciva a ridurre le pliche nelle regioni così allenate (tricipiti, addome e fianchi) più di un allenamento aerobico tradizionale seguito da un allenamento coi pesi tradizionale intervallato da serie di recupero da 60" (figura 5.7.1).



**Figura 5.7.1** – Pliche cutanee. Uomini: dopo 6 settimane. (Modificata da: Spattini, 2012)

È inoltre importante segnalare che nelle donne è risultato estremamente significativo anche il calo delle pliche delle cosce (figura 5.7.2). Secondo gli autori questo risultato è probabilmente dovuto al fatto che alternando esercizi che riguardano gli arti superiori, il tronco e gli arti inferiori come nel gruppo sperimentale, si ha una maggiore azione di stimolo del sistema circolatorio che giova, oltre alle aree target, anche a quelle dove spesso c'è un problema di rallentamento circolatorio e ritenzione idrica come è il caso della parte inferiore del corpo nelle donne. Tali risultati sono passati quasi inosservati dal mondo scientifico internazionale per la scarsa reperibilità di questo studio, e sembra che il metodo sia stato riproposto e riadattato e diffuso limitatamente al territorio nazionale. Dobbiamo aspettare il 2007 per vedere un altro studio al quale è stato dato un risvolto internazionale anche sui media. Questo studio (Stallknecht et al., 2007) è stato condotto su 10 uomini a cui sono stati applicati dei microcateteri nelle cosce per misurare il flusso sanguigno e la lipolisi del tessuto adiposo sottocutaneo. L'allenamento

da evidenziare per  
paola: testo  
di Tecniche  
Nuove



**Figura 5.7.2** – Pliche cutanee. Donne: dopo 6 settimane. (Modificata da: Spattini, 2012)

da evidenziare per Paola: testo di Tecniche Nuove

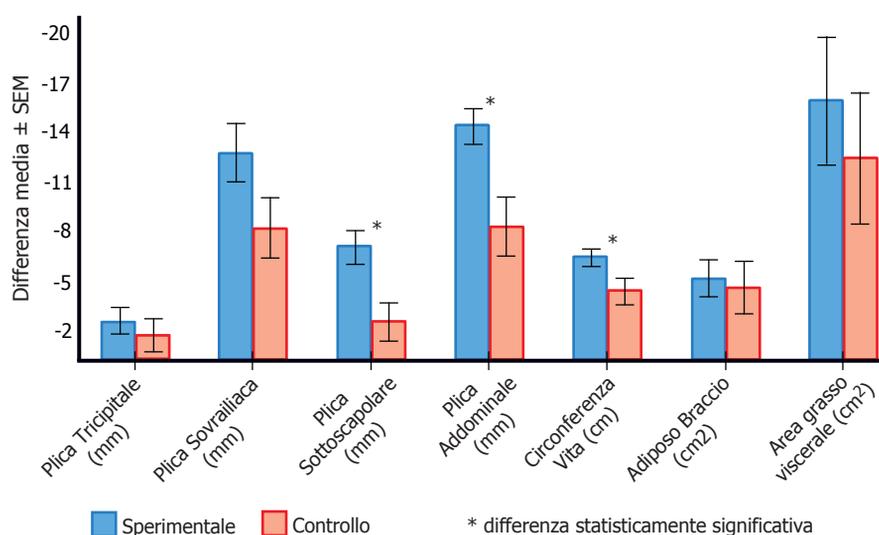
sperimentale proposto consisteva in 15 minuti di riposo e 3 consecutivi periodi di estensione della gamba con il leg extension una sola gamba per volta. I primi soggetti esercitarono una gamba per 30 minuti al 25% della loro forza massimale, dopo 30 min di riposo l'altra gamba al 55% per 120 minuti e dopo altri 30 minuti di riposo esercitarono di nuovo la prima gamba, stavolta all'85% per altri 30 minuti. La gamba che veniva esercitata presentava un flusso sanguigno maggiore nel tessuto adiposo rispetto alla gamba a riposo. La lipolisi risultava maggiore nella prima gamba (quella esercitata al 25% e all'85%), sebbene il processo di lipolisi avvenisse anche nell'altra gamba, ma in modo meno significativo.

Tutto ciò prova che uno specifico esercizio può indurre lipolisi localizzata e aumento del flusso sanguigno nel tessuto adiposo sovrastante il muscolo. Questo avviene perché durante l'esercizio c'è un aumento di temperatura nel muscolo in contrazione e questo porta a un incremento della temperatura nel tessuto adiposo adiacente il muscolo, che permette un maggior afflusso sanguigno nel tessuto adiposo (Hansen et al., 2005; Fari-natti et al., 2011).

Personalmente, nel 2013 ho condotto con Paolo Luzi uno studio randomizzato su 84 soggetti (Luzi e Spattini, 2013). I soggetti sono stati classificati nei rispettivi morfotipi d'appartenenza e randomizzati e allocati alle tre coppie di gruppi di studio: *androide* sperimentale (n = 12) e *androide* controllo (n = 12); *ginoide* sperimentale (n = 15) e *ginoide* controllo (n = 15); *misto* sperimentale (n = 15) e *misto* controllo (n = 15). Al tempo iniziale sono stati valutati diversi indici antropometrici (massa grassa, massa magra, BMI, peso corporeo e pliche corporee). Successivamente è stato sottoposto a ciascun soggetto un piano dietetico personalizzato: ai soggetti appartenenti al gruppo sperimentale è stata

prescritta una dieta ipocalorica secondo le indicazioni della DietaCOM® in relazione al morfotipo d'appartenenza. Ai soggetti dei tre gruppi controllo è stata prescritta una dieta ipocalorica che seguiva i canoni di una dieta mediterranea bilanciata. A ciascun soggetto è stato prescritto un programma di allenamento personalizzato da svolgere tre giorni a settimana a un'intensità stimata intorno al 65% FCmax e di pari volume. Ai soggetti appartenenti ai gruppi sperimentali è stato prescritto un allenamento aerobico, in linea con i concetti della spot reduction specifico per il morfotipo d'appartenenza, mentre ai gruppi controllo è stato prescritto un allenamento aerobico uguale per i tre gruppi. Dopo un follow up di due mesi è stato condotto un secondo incontro con i soggetti al fine di rilevare i medesimi parametri di composizione corporea dei soggetti al tempo iniziale.

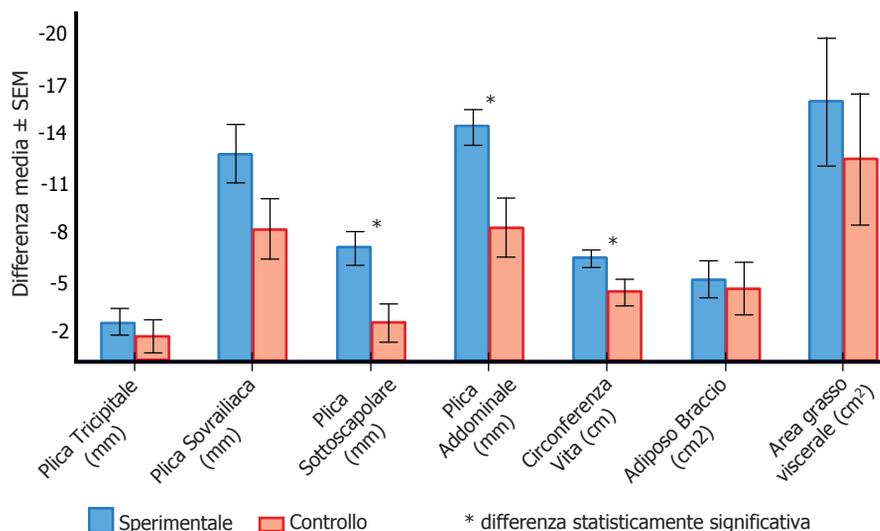
I risultati hanno dimostrato che nel morfotipo androide sperimentale (figura 5.7.3), rispetto al controllo, c'è stata una significativa riduzione della plica sottoscapolare e di quello addominale, della circonferenza vita e dell'area di tessuto adiposo viscerale. In entrambi i gruppi c'è stata una significativa riduzione di massa grassa rispetto al baseline, mentre la massa magra è stata conservata.



**Figura 5.7.3** – Androide: end-points primari. Differenze medie follow up-baseline. (Modificata da: Luzi e Spattini, 2013)

Nel morfotipo ginoide sperimentale (figura 5.7.4), rispetto al controllo, c'è stata una riduzione significativa della plica della coscia e di quella della circonferenza fianchi; inoltre c'è stato un aumento del rapporto "area muscolare coscia/area adiposo coscia". In entrambi i gruppi c'è stata una significativa riduzione sia di massa grassa che di massa magra (probabilmente a causa di un deficit calorico/proteico eccessivo).

Per il morfotipo misto non è possibile trarre conclusioni a causa di problemi legati alla classificazione dei soggetti e a causa di una minor compliance al trattamento da parte del gruppo misto sperimentale (Luzi e Spattini, 2013).



**Figura 5.7.4** – Ginoide: end-points primari. Differenze medie follow up-baseline. (Modificata da: Luzi e Spattini, 2013)

Recenti ricerche sull'obesità hanno dimostrato che il flusso sanguigno è strettamente correlato con l'accumulo di grasso localizzato. L'eccesso di grasso locale aumenta quello che viene denominato "grasso perivascolare", ovvero il grasso dentro le arteriole. Un eccesso di questo grasso produce molecole di segnale che interferiscono con l'insulina e alterano il flusso sanguigno nelle arteriole in risposta all'insulina.

Ciò vuol significare:

1. se si aumenta di grasso in una determinata zona del corpo, più facilmente l'eccesso di carboidrati e lipidi sarà accumulato come grasso in quella regione;
2. questo implica una stretta correlazione tra vasodilatazione e accumulo di grasso localizzato.

La ricerca scientifica suggerisce che ci sia una relazione tra l'eccesso di grasso localizzato, che altera la vasodilatazione delle arteriole, e la promozione del grasso localizzato. Per tale ragione il processo di dimagrimento è svantaggiato nelle aree dove c'è più grasso.

Le nuove ricerche sulla vasodilatazione e sull'accumulo di grasso suggeriscono che le aree del corpo dove è accumulato più tessuto adiposo hanno un'alterata vasodilatazione che rende più difficile lo smaltimento del grasso in quell'area. È ormai dimostrato che la riduzione del flusso sanguigno nel tessuto adiposo è una delle cause maggiori della limitata mobilitazione del grasso. In un recente studio pubblicato su *The Journal of Physiology*, è stata provata l'esistenza di un ormone, l'angiotensina II, prodotto dal tessuto adiposo e in grado di ridurre l'afflusso di sangue al tessuto adiposo stesso, causare la compromissione del flusso sanguigno nutritivo e inibire la combustione dei grassi nel tessuto adiposo e nel muscolo scheletrico oltre a causare resistenza insulinica. I livelli di angiotensina II sono aumentati dal cortisolo, dal fumo, dalle diete ad alto contenuto di grassi saturi e dagli estrogeni (Spattini, 2012).

Una volta il tessuto adiposo era visto come un deposito di grasso; tuttavia è stato chiaramente dimostrato che esso produce una varietà di ormoni e sostanze chimiche che esercitano molteplici effetti. Il tessuto adiposo è altamente vascolarizzato e contiene molti vasi sanguigni, il che significa che ha un ricco apporto di sangue. Nel tessuto adiposo bianco la vascolarizzazione è maggiore che nel tessuto muscolare, e inoltre il flusso sanguigno di tale tessuto non è costante, ma aumenta nei periodi di stress (dieta o esercizio), quando la necessità di mobilitazione dei lipidi aumenta. Paragonato ad altri tessuti corporei, il tessuto adiposo bianco può cambiare drasticamente la dimensione cellulare nel tempo relativamente all'apporto calorico di una persona. La creazione di grasso nuovo è sempre accompagnata da un aumento dei vasi sanguigni, tenendo presente che l'allargamento dei vecchi adipociti non produce alcun cambiamento nella formazione dei vasi sanguigni. Sia l'allargamento sia la mobilitazione del grasso sono strettamente controllati dalla fornitura di sangue all'adipocita (Spattini, 2014). Per riuscire a bruciare il grasso corporeo il tessuto adiposo deve essere in grado di rilasciare nella circolazione i trigliceridi immagazzinati.

A questo punto è ovvio constatare che l'elemento maggiormente determinante il dimagrimento localizzato è il flusso circolatorio del sangue. Tanto è vero che a parità di stimolo adrenergico localizzato indotto dalla stimolazione muscolare si è riscontrato un maggior dimagrimento localizzato negli schemi di allenamento che prevedevano un circuit training misto aerobico-anaerobico favorente la circolazione (Dussini et al., 1994; Paoli e Neri, 2010; Luzi e Spattini, 2013).

L'elemento principale che viene trasportato nel sangue è ovviamente l'ossigeno che è l'elemento chimico essenziale per la maggior parte dei processi legati alla vita. L'ossigeno è indispensabile per riuscire a bruciare i grassi a scopo energetico, i quali possono seguire questo loro destino metabolico preferenziale solo in sua presenza, cioè in maniera aerobica all'interno del mitocondrio nel ciclo di Krebs. Che l'ossigeno sia particolarmente efficace nel promuovere la lipolisi distrettuale nel tessuto adiposo lo si capisce anche dalle numerose evidenze scientifiche che supportano un metodo utilizzato in medicina estetica per le adiposità localizzate: l'ozonoterapia. Questa terapia consiste in una miscela di ossigeno-ozono che va ad agire sul tessuto adiposo. L'ozono (in forma gassosa) a contatto con del materiale organico provoca una fissazione rapida dell'ossigeno su di esso, con conseguente formazione di composti chimici intermedi (aldeidi e perossidi) che a loro volta cedono ancora ossigeno attivo, ma in maniera più lenta. L'attività specifica sull'adipocita avviene per intervento diretto sulle catene lipidiche a livello della membrana cellulare, inducendo nella stessa modificazioni strutturali e favorendo così un rapido incremento della catena respiratoria (Vignoli 2014). Questo processo complesso provoca, all'interno della cellula, l'esaltazione del processo dell'utilizzazione dell'ossigeno con conseguente miglioramento del metabolismo catabolico lipidico. Un'altra caratteristica dell'ozono è la capacità di ossigenare i tessuti, agendo direttamente sul microcircolo e sul globulo rosso stesso, promuovendo la formazione al suo interno di un composto chimico, il 2-3 difosfoglicerato, che a sua volta determina un'aumentata capacità dell'emoglobina di cedere ai tessuti l'ossigeno a essa legato. In aggiunta, l'ozono è in grado di migliorare la deformabilità del globulo rosso e quindi renderlo in grado di insinuarsi nei più fini capillari che irrorano settori di tessuto (nel nostro caso il tessuto adiposo) prima irraggiungibili o comunque raggiunti in maniera di

gran lunga inferiore. Questa azione diretta sul globulo rosso e sulle piastrine contribuisce altresì a migliorare notevolmente la fluidità del sangue; e anche questo concorre a un migliorato apporto ematico e quindi di ossigeno ai tessuti.

Ebbene, considerando quindi il grasso localizzato e ancor di più la cosiddetta cellulite (pannicolopatia fibroedematosa sclerosante) un danno ipossico, ogni presidio favorente l'apporto di ossigeno a livello del tessuto adiposo ne migliorerà la lipolisi. Per questo motivo ormai utilizzo da anni con successo schemi di allenamento "spot reduction" abbinati ai concetti della DietaCOM® nel metodo DIMACOM, avvalendomi di un supporto di integrazione nutrizionale fornito dal prodotto Cellfood®. Questa particolare formulazione è in grado di aumentare la disponibilità di ossigeno – grazie alle capacità del deuterio solfato di scindere l'acqua in ossigeno e idrogeno – senza aumentare la presenza di radicali liberi, per l'attività antiossidante dovuta alla sua formula ricca di minerali, aminoacidi ed enzimi in tracce.

## 5.8 La Lifestyle Medicine

*Luigi Maselli*

Sin da bambino sentivo le persone lamentarsi e affermare di voler "cambiar vita", allo stesso modo osservavo molte delle stesse persone persistere nelle stesse situazioni e nelle lamentele (Moreno e Johnston, 2014). Di tempo ne è passato da allora e ho notato che l'affermazione "voglio cambiar vita" è sempre di grande attualità. Allora, mosso dalla curiosità, prima, e dall'amore per la scienza, dopo, ho voluto comprendere e, infine, far comprendere cosa volesse dire "cambiare vita". Due semplici parole che racchiudono un significato molto ampio e che ognuno di noi, almeno una volta nella vita, avrà pronunciato. Ma cosa realmente significa "cambiare vita"?

Concentrando il nostro focus sulla qualità della vita, possiamo affermare che i cambiamenti significativi avvengono un piccolo passo per volta (Joseph et al., 2014). Difatti, le scelte che operiamo giorno dopo giorno influenzano inevitabilmente il mantenimento della nostra vitalità, accelerano o rallentano il nostro naturale processo di invecchiamento, rafforzano o indeboliscono le nostre difese immunitarie e concorrono all'annullamento o al proliferare di condizioni disabilitanti e patologiche.

Per operare un reale cambiamento dello stile di vita è opportuno comprendere esattamente quale delle nostre abitudini andrebbe rivista e subito dopo cominciare ad apportare gli opportuni cambiamenti, in maniera graduale e costante (Donovan e Anwar-McHenry, 2014).

Se abbiamo provato tutte le diete proposte negli ultimi dieci anni su libri e riviste e tutte hanno portato iniziali miglioramenti ma subito dopo dei fallimenti, dovremmo cominciare a pensare che la dieta di per sé non sia sufficiente per noi. Probabilmente ciò che ci occorre è l'introduzione nella nostra routine quotidiana di una sessione di esercizi oppure di una semplice passeggiata (Kokkinos, 2014).

Ci sentiamo stressati? Una dieta povera di elementi nutritivi, che non tenga in considerazione le reali esigenze dell'individuo, basate su diversi aspetti della sua vita, non può che innalzare ulteriormente i livelli di stress e quindi farci produrre più cortisolo che, in eccesso, provoca una resistenza specifica al dimagrimento e, anzi, ne inverte il

meccanismo. Quindi ci sentiremo più stressati, più gonfi e ingrignati e, in base al modo in cui siamo soliti reagire agli insulti della vita, ridurremo ulteriormente l'apporto calorico senza cognizione di causa, oppure ci tufferemo nella prima vetrina di una pasticceria nelle vicinanze (Krüger et al., 2014). Frustrazione e insuccesso sono, a questo punto, assicurati!

Spesso il nostro più grande nemico è l'inerzia. Ma anche il più piccolo cambiamento adoperato in favore della nostra salute, come scegliere della frutta a colazione in sostituzione di una brioche, può rivelarsi un ottimo punto di partenza.

Porsi obiettivi elevati non serve, piuttosto bisogna programmare una serie di obiettivi a breve scadenza, che portino nel tempo al traguardo che ci prefiggiamo di raggiungere.

La medicina dello stile di vita ha come obiettivo quello di fornire all'individuo i corretti strumenti per il raggiungimento di una vita più sana, efficiente e soddisfacente.

A partire dal 1999, anno della pubblicazione del primo libro intitolato *Lifestyle Medicine*, a cura di James Rippe, la medicina dello stile di vita si è evoluta e diffusa, diventando oggi uno degli approcci migliori alla salute dell'uomo (Rippe e Angelopoulos, 2007a), non solo in termini di prevenzione, ma bensì nel trattamento delle malattie croniche, incluse:

- diabete tipo 2;
- cardiopatie e malattie cardiocircolatorie;
- ipertensione;
- obesità;
- sindrome da insulino-resistenza;
- osteoporosi;
- molti tipi di cancro.

L'American College of Lifestyle Medicine (ACLM) è la prima istituzione universitaria per la formazione di specialisti in medicina ad aver adottato i protocolli della medicina dello stile di vita per il trattamento e la gestione delle malattie (Rippe e Angelopoulos, 2007b).

La medicina dello stile di vita è quindi una disciplina clinica riconosciuta e apprezzata e viene sempre più frequentemente affiancata alle cure convenzionali, anche se non simpatizza molto con le prescrizioni mediche. Uno dei suoi scopi principali è per l'appunto eliminare, laddove possibile e opportuno, l'assunzione di farmaci da parte del paziente o quanto meno ridurla.

## **I sette pilastri della Lifestyle Medicine**

Negli ambienti ospedalieri più all'avanguardia nel mondo e sotto l'egida della Global Lifestyle Medicine Alliance (GLMA) la pratica della medicina dello stile di vita viene sempre più affiancata alle comuni terapie.

Noi ricercatori sappiamo perfettamente che, affinché nell'uomo si stabilizzi una nuova abitudine, bisogna che egli impieghi una certa quantità di tempo ed energie. Ad esempio, quando al mattino ci apprestiamo a lavarci i denti, non ci occorre spendere molte energie per ricercare il nostro spazzolino, sapremmo ritrovarlo anche a occhi chiusi, perché siamo soliti riporlo ogni giorno nello stesso posto. È un'abitudine, ovvero un comportamento divenuto per noi automatico perché lo abbiamo ripetuto più e più volte nel tempo.

“È più facile rompere un atomo che spezzare un’abitudine”, recitava il buon vecchio Einstein. Proprio per questo, per spezzare un’abitudine bisogna partire dal presupposto che la perseveranza rappresenta la chiave per raggiungere il successo (Terre, 2011). A riprova di quanto detto, uno studio preliminare su 96 partecipanti a una ricerca volta a capire quanto tempo effettivamente occorra affinché una nuova abitudine si consolidi nel quotidiano ha dimostrato che in media un’azione richiede 66 giorni per divenire automatica.

Quindi, se siamo intenzionati a sostituire qualcuna delle nostre malsane abitudini con azioni e pensieri che migliorino la qualità della nostra vita, ecco qui di seguito i sette pilastri, dagli aspetti innovativi, poliedrici e “ecologici” su cui la medicina dello stile di vita si fonda:

**1. Sognare in grande.** Sia che il nostro desiderio sia quello di perdere 50 chili o appena tre per riuscire a entrare in quel vecchio jeans tanto amato, la parola d’ordine è sempre “perseveranza”. Non esistono obiettivi troppo audaci se ci impegniamo e crediamo nel nostro sogno. La tenacia inoltre è contagiosa per coloro che ci stanno attorno e può essere anche d’ispirazione per il prossimo.

**2. Spezzettare il grande sogno in piccoli passi.** Scegliamo sfide di cui possiamo sentire il sapore. È fondamentale cominciare ogni progetto con una *lista*. Ciò ci darà maggiori garanzie di poter avere sott’occhio i nostri progressi. Cominciare con piccoli passi che ci condurranno uno a uno al nostro obiettivo finale. Giunti alla prima base avremmo dato una sferzata di energia alla nostra fiducia e saremo meglio predisposti per affrontare e riuscire in compiti più difficili. Questo aspetto è molto importante, difatti uno studio sui programmi di fidelizzazione che mirano a motivare i consumatori dimostra che dando alla gente i primi due punti gratis su una carta frequent-buyer si incoraggia il consumo ripetitivo. Allo stesso modo spezzettare lavori impegnativi in altri più piccoli, e godere il successo di ogni piccolo passo completato, incentiverà potentemente il nostro cammino verso l’obiettivo finale.

**3. Comprendere eventuali ragioni per cui non si dovrebbe fare un cambiamento.** Fintantoché resteremo avvinghiati alle vecchie abitudini e routine, risulterà abbastanza difficile riuscire a raccogliere sufficienti energie e volontà per cambiare strada e dirigersi verso il cammino del cambiamento. Comportamenti non salutari come mangiare troppo e fumare hanno bisogno di essere attentamente valutati e, più di preciso, occorre valutarne i costi e i benefici, i pro e i contro. Per cominciare potreste avvalervi di una tabella dove annotarli. Noterete immediatamente che i vantaggi nello smettere di fumare sono superiori ai costi in termini di salute ed energia e, molto probabilmente, prendere consapevolezza (anche “visiva”) di questo vi sarà d’aiuto nella scelta della strada da intraprendere.

**4. Impegnarsi verbalmente o per iscritto.** Lungo il cammino del cambiamento si possono incontrare dei rallentamenti o ostacoli e solo la nostra determinazione può aiutarci nel superare i momenti di impasse. Mettere per iscritto i propri obiettivi o farli sapere a qualcuno a noi caro (un genitore, un figlio, un mentore...), aiuta a rafforzare la nostra convinzione e a ottenere un sostegno in più. Vi sono persone che condividono i propri

obiettivi con la comunità di Facebook o su Twitter e trovano così followers con i quali perseguire lo scopo o semplicemente grandi sostenitori della loro impresa.

**5. Premiarci.** I grandi cambiamenti, come già più volte sottolineato, avvengono in maniera progressiva, quindi perché attendere di aver raggiunto il traguardo prima di poterci congratulare con noi stessi? Possiamo ed è giusto farlo step by step. Ci prendiamo delle pause per valutare i nostri miglioramenti e godiamo dei risultati ottenuti strada facendo. Una pacca sulla spalla, una medaglia virtuale, l'acquisto di un nuovo capo d'abbigliamento di una taglia più piccola perché abbiamo perso i nostri primi 5 chili di peso, concedersi qualcosa che si desiderava da tempo utilizzando quanto si è risparmiato col mancato acquisto delle sigarette. Vi siete mai chiesti quanti soldi "bruciate" in sigarette in un anno? Potreste inoltre chiedere a qualcuno che amate e di cui avete stima di supportarvi e premiarvi ogniqualvolta avrete raggiunto un piccolo obiettivo.

**6. Imparare dal passato.** Volgere indietro lo sguardo con atteggiamento propositivo e obiettivo è necessario per comprendere cosa sia andato storto nelle scelte fatte in passato. Potremmo accorgerci ad esempio di esserci posti degli obiettivi troppo ambiziosi in troppo poco tempo, provocando in noi frustrazione e malessere anziché miglioramento e appagamento. Se ad esempio fare 30 minuti al giorno di esercizio fisico significa per voi arrivare in ritardo al lavoro e fare tutto in costante ansia, potreste provare a suddividere i 30 minuti in due sessioni da 15 o in tre da 10 minuti, prima, durante la pausa e dopo il lavoro. Salite le scale anziché utilizzare l'ascensore, camminate quando potete invece di spostarvi continuamente con i mezzi. Con uno sguardo rivolto al passato si possono capire molti dei risultati ottenuti oggi.

**7. Rendiamo grazie per quello che facciamo.** Essere grati per quanto si è in grado di fare, in termini sia materiali che fisici, è essenziale per la buona riuscita di qualsiasi cosa nella vita. Se nella vostra programmazione giornaliera vi sono 30 minuti di esercizio fisico, ma per un paio di giorni riuscite a farne solo 10, ringraziate. State facendo comunque qualcosa che si allinea al vostro percorso. È sufficiente. Il giorno dopo andrà meglio.

## Il lavoro clinico di tutti i giorni

Molto probabilmente tutto quanto descritto sopra potrà apparire ad alcuni piuttosto semplice e ad altri molto complesso. Noi ricercatori sappiamo bene che tutti i goal precedentemente descritti sono stati ampiamente e meticolosamente valutati a tutto tondo sull'intero globo terrestre (Harris et al., 2007). Forti dell'esperienza maturata nell'antica Grecia abbiamo rivisto, con rigidi criteri scientifici moderni, e applicato ogni step alla vita degli uomini del terzo millennio, con il risultato che questa è la via maestra per una vita lunga e felice, l'unica [Via della Salute](#).

Vero è che nell'applicazione pratica dei sette pilastri della Lifestyle Medicine il paziente può incontrare delle naturali difficoltà, soprattutto nell'alimentazione (Gluck et al., 2004) e nella gestione dello stress quotidiano (Buckley e Schatzberg, 2005a-b).

Sappiamo bene che i ritmi di vita tipici di noi uomini della società moderna sono molto sostenuti e che gli infiniti stimoli a cui siamo sottoposti comportano un aumento della richiesta di alcuni fattori nutritivi che sostengono il metabolismo del SNC. Di contro,

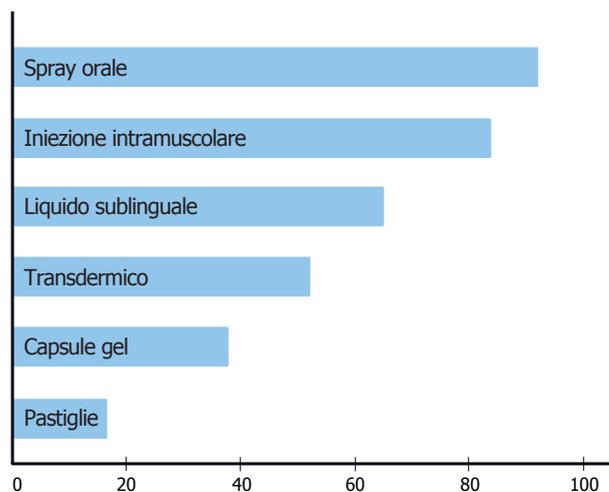
minuscolo?

il cibo a nostra disposizione, complice anche la superficialità con la quale lo scegliamo, è spesso più povero di quello che avevano sulle loro tavole i nostri nonni.

Un valido aiuto nel colmare tali lacune nutrizionali, in cui spesso m'imbatto nel lavoro clinico e che, se trascurate, possono sfociare in patologie anche di rilevante importanza, mi è stato donato dai nutraceutici prodotti dall'azienda americana NuScience e contraddistinti con il marchio Cellfood®.

Suona strano sentir parlare di deficit di micronutrienti in un momento storico in cui vi è sovrabbondanza di cibo, eppure una delle piaghe della società moderna è rappresentata dall'obesità. Difatti proprio la minore concentrazione di fattori nutritivi essenziali, quali vitamine, sali minerali e fibre, è una delle cause principali della sovralimentazione.

La caratteristica di tali nutraceutici è la quasi totale assimilabilità complice la forma di soluzione colloidale con nutrienti dal diametro di 4-7 nanometri, ionici e caricati negativamente, che a causa del fenomeno del movimento di Brown rimangono sospesi nella fase disperdente. Anche la maggior parte dei fluidi corporei, come il sangue e la linfa, sono colloidali e caricati negativamente, consentendo ai prodotti Cellfood® di essere assunti come un normale fluido corporeo che permette al contenuto nutritivo di passare immediatamente attraverso le membrane percettive di bocca, gola ed esofago ed entrare direttamente nel flusso sanguigno, cosa che normalmente non accade per i nutraceutici in forma solida, come capsule e compresse, riducendone l'efficacia (figura 5.8.1) e costringendo l'utente ad aumentarne le dosi per sentire i benefici, riducendo in tal modo il rapporto costo-beneficio.



**Figura 5.8.1** – Grafico percentuali di assimilabilità delle diverse forme farmaceutiche. (Modificata da: *Physicians' Desk Reference Journal*, 48th ed., 1994, p. 1331)

Questa caratteristica e la comodità di trasporto delle singole confezioni di questi nutraceutici mi hanno fatto pensare all'importante contributo che tali prodotti avrebbero potuto fornire ai miei pazienti stressati.

## Lo stress

La letteratura scientifica descrive lo *stress* come una forma di adattamento dell'organismo – dalla definizione GAS *General Adaptation Syndrome* di Hans J. Seyle – a degli stimoli chiamati *stressors* (Seyle, 1950). Lo *stressor* può genericamente essere definito come un elemento in grado di alterare lo stato di equilibrio dell'organismo e può assumere le forme più diverse, appartenere alle categorie più disparate: può essere infatti di natura psicosociale o prettamente fisica, tuttavia questa distinzione è praticamente irrilevante nei meccanismi di reazione dell'organismo (Seyle, 1976).

Quello che attualmente è considerato sostanzialmente un dato di fatto ha costituito a suo tempo una delle caratteristiche più inaspettate dello *stress*: indipendentemente dalla tipologia dello stimolo, sia esso un grave sforzo fisico o la preoccupazione per un esame, i meccanismi di attivazione risultano essere straordinariamente simili. Le reazioni agli *stressors* sono determinate dall'attivazione del sistema nervoso e di quello endocrino; in entrambi i casi la percezione degli *stressors* ha sede nel cervello, da cui si dipartono i segnali mediatori dello *stress* (Luo, 1994; Lawrence, 1996). A livello endocrino, la reazione allo *stress* si estrinseca attraverso l'attivazione dell'asse HPA (*Hypothalamic-Pituitary-Adrenal*, ipotalamo-ipofisi-surrenali), che ha come ultima conseguenza la secrezione di glucocorticoidi a opera della corteccia surrenale, mentre a livello nervoso gli *stressors* comportano l'attivazione del sistema nervoso simpatico (Takahashi, 2005). Stando così le cose, non stupisce che la letteratura abbia documentato, e continui a documentare, le ricadute determinate dall'attivazione prolungata delle reazioni allo *stress* sullo stato di salute generale (Gaillard, 2003). L'aumento di glucocorticoidi circolanti, la perdita della loro ritmicità circadiana e l'eccessiva attivazione del sistema nervoso simpatico costituiscono già di per sé fattori di rischio diretti o indiretti per disturbi ad altissima incidenza, quali obesità e ipertensione. Prima di arrivare a manifestazioni evidenti, l'attivazione persistente della risposta agli *stressors* si associa all'insorgere di MUS e, quando questi fenomeni non siano controllati e curati, il rischio di incorrere in patologie conclamate (solitamente ai danni del sistema più a rischio per lo specifico paziente) aumenterà conseguentemente (Epstein et al., 2006).

In base alle istanze della comunità scientifica, quindi, i pazienti affetti da MUS andrebbero analizzati attentamente, al fine di precisare la genesi della sintomatologia e porre in essere le strategie terapeutiche più opportune (Ringsberg e Krantz, 2006).

## L'esperienza sul campo

Grazie all'esperienza di ricerca e clinica nel campo delle neuroscienze applicate alla medicina dello stile di vita, supportata ampiamente dalla letteratura scientifica, abbiamo verificato la presenza frequente nei soggetti stressati della condizione di *stress ossidativo cerebrale* (Gemma et al., 2007). Il cervello consuma energia con un tasso 10 volte più alto del resto del corpo per grammo di tessuto. Se poniamo il consumo medio di potenza di un adulto normalmente intorno a 100 watt, il consumo del cervello equivale a circa 20 W (50 W nel bambino piccolo). Un quinto del sangue pompato dal cuore lo attraversa. Se l'apporto di ossigeno viene interrotto per pochi secondi, si perde immediatamente conoscenza, il prolungarsi di questa condizione anche solo per qualche minuto arreca un danno irreversibile al tessuto nervoso (in particolare alla corteccia cerebrale) sino a poter condurre alla morte.



zione intra-neuronale della vitamina B12 allo stato metabolicamente attivo ed è interessante notare anche come la carenza di folati sia un'ulteriore caratteristica dei pazienti stressati, sostenendo ulteriormente il concetto di importanza della degradazione dei folati (figura 5.8.2) (Mattson e Shea, 2003). Difatti i risultati della ricerca confermano uno stato di attivazione immunitaria cronica nei pazienti con AD. Elevate concentrazioni di omocisteina sono correlate al grado di attivazione immunitaria misurata mediante, ad esempio, le concentrazioni di neopterina. Questa associazione si trova anche in altre condizioni cliniche con iperomocisteinemia. L'attivazione delle cellule immunocompetenti come linfociti T e macrofagi è associata con la produzione di grandi quantità di composti ossidanti, indicando stress ossidativo. Lo sfondo immunopatogenetico dello stress ossidativo con conseguente impoverimento vitaminico, e quindi iperomocisteinemia, è pertanto molto probabile e confermerebbe il concetto proposto dal lavoro magistralmente condotto da McCaddon et al. (2002).

### Il protocollo di base

La possibilità di protocollare l'assunzione di micronutrienti è un compito arduo, sappiamo bene di essere tutti molto diversi e che ognuno di noi reagisce in maniera del tutto personale agli eventi che naturalmente occorrono nella vita di tutti i giorni; allo stesso modo ogni organismo consuma "carburante" in maniera propria pur essendo possibile censire una media strutturabile su parametri come massa corporea, sesso, età ecc.

Ed è proprio su questi dati medi che, ritenendo utile fornire al clinico uno strumento pratico, abbiamo stilato una tabella di riferimento su cui strutturare un protocollo di assunzione personalizzato al paziente. Abbiamo preso in esame alcuni prodotti della linea Cellfood®, specificamente quelli che quotidianamente impieghiamo nel trattamento dei nostri pazienti.

I prodotti in questione sono il SAME, a base appunto di S-adenosilmetionina, coenzima coinvolto nel trasferimento di gruppi metile, e Cellfood® Soluzione base; il Cellfood® Multivitamin a base di vitamine, tra cui altri cofattori del ciclo della metilazione come acido folico, vitamina B12, vitamina B6, oltre a Cellfood® Soluzione base (si rimanda il lettore alla bibliografia per letture di approfondimento in materia). L'uso di tali nutraceutici confortato dagli evidenti risultati nella gestione dello stress da parte dei nostri pazienti ci ha permesso di ottimizzare e affinare i dosaggi e le tecniche di assunzione degli stessi.

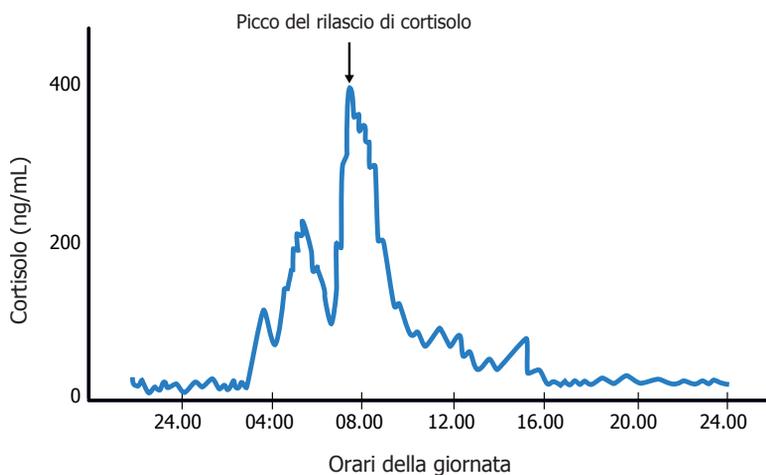
Queste le modalità di assunzione, a nostro avviso, ottimali:

- **CELLFOOD® SAME**
  - quantità gocce per assunzione: da 8 a 12 due volte die;
  - modalità: sublinguale, trattenendo le gocce per almeno un minuto sotto la lingua;
  - orari di assunzione: ore 11.00 e ore 18.00.
- **CELLFOOD® Multivitamin**
  - quantità puff per assunzione: da 3 a 7 due volte die;
  - modalità: sublinguale, trattenendo le gocce per almeno un minuto sotto la lingua;
  - orari di assunzione: subito prima di colazione e di cena.

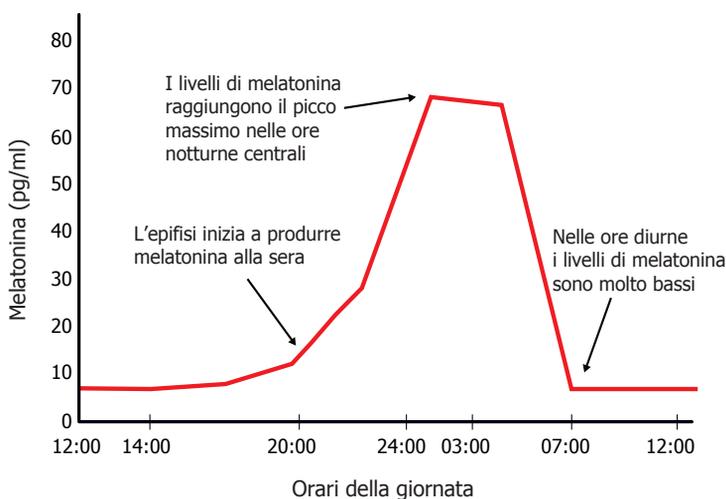
riusciamo  
ad allunga-  
re di qual-  
che rigo?

Com'è noto, il mattino è il tempo dell'accelerazione mentre durante la notte l'organismo è impegnato nell'auto-rigenerazione (Backhaus et al., 2004). Grazie alla cronobiologia siamo ormai a conoscenza dell'effetto di misure terapeutiche per il nostro bioritmo ed è per questo che si ritiene opportuna l'assunzione del Multivitamin subito prima di colazione e di cena, mentre per il SAME è consigliata nello specifico alle ore 11.00, in concomitanza del primo calo fisiologico di secrezione di cortisolo da parte delle surreni (figura 5.8.3), e alle ore 18.00, in concomitanza con l'inizio di secrezione di melatonina da parte dell'epifisi (figura 5.8.4).

Entrambi le tecniche contribuiscono alla modulazione dello stress.



**Figura 5.8.3** – Ritmo circadiano della secrezione di cortisolo. (Abudu, 2009)



**Figura 5.8.4** – Ritmo circadiano della secrezione di melatonina: andamento dei livelli plasmatici di melatonina nell'arco delle 24 ore. (Pandi-Perumal et al., 2007)

Molti sono oramai gli studi sia clinici che sperimentali che avallano la tesi che un'adeguata supplementazione di folati sia capace di bloccare e spesso di far regredire il processo aterosclerotico, parallelamente a una significativa riduzione dell'incidenza sia dello stroke che dell'infarto cardiaco; inoltre dosi integrative di folati hanno trovato favorevole impiego nella prevenzione delle restenosi coronariche come pure nell'aumento della funzionalità endoteliale in caso di malattia coronarica.

È ben noto come la progressiva perdita fisiologica dei gruppi metilici  $\text{CH}_3$  con l'avanzare dell'età sia stata posta in forte correlazione con la durata della vita nell'uomo e per tale motivo esiste la forte necessità di operarne un adeguato recupero a livello metabolico (Sibrian-Vazquez et al., 2010): Cellfood® SAmE e Cellfood® Multivitamin sono, a nostro avviso, i preparati ideali a tal fine, capaci di garantire un apporto ben bilanciato di tutti i cofattori vitaminici atti a favorire un'efficace processo di rimetilazione o transulfurazione, in modo da riconvertire quanto più possibile l'omocisteina negli amminoacidi atossici e funzionali quali la metionina e la cisteina, e al tempo stesso fornire un apporto adeguato di micronutrienti finalizzati a un immediato e corretto utilizzo nel processo fisiologico di rigenerazione cellulare (Williams e Schalinske, 2007).

## Bibliografia (5.1)

### Il controllo biochimico del ciclo di metilazione cellulare

- Andreotti F, Burzotta F, Mazza A (1999). Homocysteine and arterial occlusive disease: concise review, *Cardiologia* 44, 341-5.
- Arnesen E, Refsum H, Børnaa KH, et al. (1995). Serum total homocysteine and coronary artery disease, *Int J Epidemiol* 24, 704-709.
- Bellamy MF, McDowell IF, Ramsey MW, et al. (1998). Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults, *Circulation* 98, 1848-1852.
- Bodamer OA, Scaglia F (1999), Sublingual therapy for cobalamin deficiency, *Lancet* 354 (9189), 1562.
- Bollani G, Ferrari R, Bersatti F, et al. (1999). Homocysteine in families with frequent acute myocardial infarction or sudden death in young age, *Cardiologia* 44, 75-81.
- Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, et al. (1995). A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes, *JAMA* 274, 1049-1057.
- Brattström L, Wilcken DEL, Öhrvik J, et al. (1999). Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not vascular disease. The results of a meta-analysis, *Circulation* 98, 2520-2526.
- Cattaneo M (1999). Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis, *Thromb Haemost* 81, 165-176.
- Chalmers RA, Bain MD, Costello I (2000). Oral cobalamin therapy, *Lancet* 355 (9198), 148.
- D'Angelo A, Selhub J (1997). Homocysteine and thrombotic disease, *Blood* 90, 1-11.
- Delpre G, Stark P, Niv Y (1999), Sublingual therapy for cobalamin deficiency as an alternative to oral and parenteral cobalamin supplementation, *Lancet* 354 (9180), 740-1.
- Dudman NPB, Guo XW, Gordon RB, et al. (1996). Human homocysteine catabolism: three major pathways and their relevance to development of arterial occlusive disease, *J Nutr* 126, 1295 S-1300 S.
- Durga J. et al. (2007). Folic acid supplementation for 3 years significantly improved domains of cognitive function that tend to decline with age, *Lancet* 369 (9557), 166-7.

Per Paola:  
ANDIAMO  
IN PAGINA  
NUOVA?

le bibliografie  
sono ancora in  
fase di editing

- Falk E, Zhou J, Moller J (2001). Homocysteine and atherothrombosis, *Lipids* 36, S3-11.
- Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, et al. (1998). Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphism, and B vitamins. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study, *Circulation* 98, 204-210.
- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. (1997). Plasma homocysteine as a risk factor vascular disease. The European Concerted Action Project, *JAMA* 277, 1775-81.
- Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration (1998). Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials, *BMJ* 316, 894-898.
- Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ et al. (2006). Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Investigators. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease, *N Engl J Med* 354 (15), 1567-77. Erratum in: *N Engl J Med* 355 (7), 746.
- Malinow MR, Bostom AG, Krauss RM (1999). Homocyst(e)ine, diet and cardiovascular disease. A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation* 99, 178-182.
- Mazza A, Bossoni E, Mazza F, et al. (2005). Reduced serum homocysteine levels in type 2 diabetes, *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 15 (2), 118-24.
- Mazza A, Motti C, Nulli A, et al. (1999). Serum homocysteine, MTHFR gene polymorphism and carotid intimal-medial thickness in NIDDM subjects, *J Thromb Thrombolysis* 8, 207-12.
- Mazza A, Motti C, Nulli A, et al. (2000). Lack of association between carotid intima-media thickness and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism or serum homocysteine in non insulin dependent diabetes mellitus, *Metabolism* 49, 718-23b.
- McCully KS (1969). Vascular pathology of homocysteinemia: implications for pathogenesis of atherosclerosis, *Am J Pathol* 56, 111-128.
- McCully KS (1997). *The Homocysteine Revolution*. New Canaan, CT: Keats Publishing.
- McLean RR, Jacques PF, Selhub J, et al. (2004). Homocysteine as a predictive factor for hip fracture in older persons, *N Engl J Med* 350 (20), 2042-9.
- Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, et al. (1997). Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease, *N Engl J Med* 337, 230-236.
- Ripa R, Ripa S (2003). Omocisteina: un fattore di rischio cardiovascolare trascurato, *Progress in Nutrition*, vol. 5, n. 3, 248-261.
- Robinson K, Arheart K, Refsum H, et al. (1998). For the European COMAC Group: Low circulating folate and vitamin B6 concentrations. Risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease, *Circulation* 97, 437, 443.
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J, et al. (2002). Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease, *N Engl J Med* 346 (7), 476-83.
- Sharabi A, Cohen E, Sulkes J, et al. (2003). Replacement therapy for vitamin B12 deficiency: comparison between the sublingual and oral route, *Br J Clin Pharmacol* 56 (6), 635-8.
- Szyf M (2005). Therapeutic implications of DNA methylation, *Future Oncol* 1 (1), 125-135.
- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, et al. (1993). Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications, *Clin Chem* 39, 1764-1779.
- Wang SY, Lin HS (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J Agric Food Chem*; 48 (2), 140-6.
- Welch GN, Loscalzo J (1998). Homocysteine and atherothrombosis, *N Engl J Med* 338, 1042-1050.
- Woo KS, Chook P, Lolin YI, et al. (1997). Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans, *Circulation* 96, 2542-2544.

## Bibliografia (5.2)

### Il ruolo del glicocalice

- Albergati FG, Bacci PA (2005). *La matrice extracellulare. Struttura, ruolo e funzioni nella clinica*, Arezzo, Minelli.
- Coyle M (2004). *Efficacy assessment of Cellfood® by means of d-ROMs test*, NuLife Sciences Company, Massachusetts, USA.
- Curri SB (1999). Disfunzioni della matrice a livello del microcircolo, *Medicina Funzionale* 4, 2-3.
- Greenpeace Italia (2002). *Diossine e metalli (piombo, cadmio, cromo) nel latte vaccino in prossimità di impianti di incenerimento*. [www.greenpeace.org/italy/it/ufficiostampa](http://www.greenpeace.org/italy/it/ufficiostampa) (marzo 2014).
- Guyton AC (2011). *Textbook of Medical Physiology* (12th ed.), Philadelphia, WB Saunders [trad. it. *Guyton e Hall. Fisiologia medica*. 12a ed. Elsevier, Milano 2012].
- Heine H (1999), *Manuale di Medicina Biologica* (2ª ed.), Milano, Guna.
- Iorio EL (2003). Deutrosulfazyme® (Cellfood®). Overview clinico-farmacologica, *Atti della International Conference Safety Evaluation of Complementary and Alternative Medicine*, Empoli, 24-5 ottobre 2003.
- Latini G, Cocci Grifoni R, Mariani MM, Passerini G (2005). Multiple Chemical Sensitivity as a result of exposure to heterogeneous air pollutants. In: Aral MM, Brebbia CA, Maslia ML and Sinks T (Eds), *Environmental Exposure and Health*, Southampton, WIT Press, pp. 65-74 (ISBN 1-84564-029-2).
- Levine S, Parris MK (1986). Antioxidant Adaptation. Immunity, Cancer, Oxygen, and Candida Albicans, *Let's Live Magazine*, Aug 1986.
- Levin S, Byers SV (1987). Environmental illness: a disorder of immune regulation, *Occup Med* 2, 669-681.
- Mariani MM, Fulgenzi A, Zanella SG, et al. (2012). A case of multiple sclerosis improvement following removal of heavy metal intoxication: Lessons learnt from Matteo's case, *Bio-metals* 25 (3), 569-76. doi: 10.1007/s10534-012-9537-7 [ePub 2012, Mar 22].
- Mariani MM (2007a). Body burden: la nostra zavorra corporea. Cause di accumulo, effetti e rimedi, *Atti delle seconde Giornate Italiane Mediche dell'Ambiente. Inquinamento ambientale e danni alla salute: la pandemia silenziosa*, Arezzo 30 novembre 2007.
- Mariani MM (2007b). Hypoxia as a cause for oxidative stress. possibilities of intervention through a detoxifying method, *Atti del secondo Congresso Internazionale di Medicina Preventiva e Healthy Aging*, Milano, 13 aprile 2007.
- Mariani MM (2007c). Metalli tossici e bioaccumulo. *Atti del convegno sulla terapia chelante con edta*, Fond. IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, Università degli Studi di Milano, 30 marzo 2007.
- Mariani MM (2005). Effetti sulla salute dell'accumulo di sostanze tossiche, *Regioni & Ambiente*, n. 5, maggio 2005, 13-15.
- Milani L (2004). Terapia dell'invecchiamento della matrice: la ricarica dell'orologio biologico, *La Medicina Biologica*, n. 4, 17-25.
- Passerini G, Cocci Grifoni R, Mariani MM (2005). *Environmental pollutants and human diseases: diagnosis and treatment Environmental Health Risk III*, Southampton, WIT Press, 437-445 (ISBN 1-84564-026-8) ISSN, 1747-4485.
- Pischinger A, Heine H (2004). *Das System der Grundregulation*, 9ª ed., Heidelberg, Karl F. Haug Fachbuchverlag [trad. it. a cura di H Heine: *Matrice e regolazione della matrice. Base per una teoria olistica della medicina*, SIMF-HAUG, 1996].
- Reckeweg HH (1988), *Omotossicologia. Prospettiva per una sintesi della medicina*, Milano, Guna.
- Storey EL (1982), *Beyond Belief*, Feedback Books.

Van Heerden J (2001), *Studio sugli effetti del Cellfood® su atleti professionisti*, Università di Pretoria, Istituto dello Sport (Sud Africa).

Wang M, Wang T, Liu S, et al. (2003). The expression of matrix metalloproteinase-2 and-9 in human gliomas of different pathological grades, *Brain Tumor Pathol* 20 (2), 65-72.

## Bibliografia (5.3)

### Il ruolo della matrice extracellulare

Agrifoglio G, Montorsi W, Donadi GC (1990). *Flebologia*, Milano, Masson.

Albergati F, Bacci PA (1998). Valutazione dell'attività microcircolatoria del "Lyndiaral" in pazienti affette da PEF, *La Medicina Funzionale* 3, 23-29.

Albergati F, Bacci PA, et al. (1999). Valutazione degli effetti microcircolatori dopo terapia della matrice extracellulare in pazienti affette da flebolinfedema agli arti inferiori, *Atti del primo Congresso Nazionale Medicina Estetica SMIEM*, Milano 1999, p. 20.

Albergati FG, Bacci PA (2004). *La matrice extracellulare*, Arezzo, Minelli.

Allegra C, Pollari G, Antonini V, Curri SB (1986). Pannicolopatia edematofibrosclerotica, *Minerva Mesoterapica* 1.

Bacci PA (1998). Prise en charge de l'oedeme de l'insuffisance veineuse chronique, *Angiology Today* 34, 2-4.

Bacci PA (1997). Il lipolinfedema: riflessioni e osservazioni cliniche, *Flebologia Oggi* 2 (1), 10-21.

Bacci PA (1998). Il cosiddetto lipolinfedema, *Flebologia Oggi* 2 (1), 27-32.

Bacci PA (2000). Le celluliti, Arezzo, Alberti.

Bacci PA (2001). Cellulitis Study, *Atti dell'International Congress of Phlebology* UIP, Roma, 2001, Sept 16.

Bacci PA (2003). Valutazione clinica controllata dell'efficacia della mesoterapia con prodotti omeofitoterapici nel trattamento della cosiddetta lipodistrofia. In: Bacci PA, Mariani S, *La flebologia in pratica*, Arezzo, Alberti & C., pp. 114-119.

Bacci PA (2003). Valutazione clinica controllata delle variazioni dello stress ossidativo con integrazione alimentare alcalinizzante. In: Bacci PA, Mariani S *La flebologia in pratica*, Arezzo, Alberti & C., pp. 123-131.

Bacci PA (2003). Valutazione clinica controllata in doppio cieco di prodotti fitocomposti nel trattamento della cosiddetta cellulite. In: Bacci PA, Mariani S, *La flebologia in pratica*, Arezzo, Alberti & C., pp. 92-111.

Bacci PA, Allegra C, Mancini S, et al. (2004). Randomized, placebo controlled double blind clinical study on efficacy of a multifunctional plant complex in the treatment of the so called cellulitis, *Journal of Aesthetic Surgery and Dermatology Surgery* 5 (1).

Bacci PA, Mancini S (2009). *Manuale di Flebologia*, Siena, Laris.

Bacci PA, (2012). *Cellulitis 2012*, Officine Editoriali Oltrarno OeO, Firenze.

Benedetti S, et al. (2011). The antioxidant protection of Cellfood against oxidative damage in vitro, *Food Chem Toxicol*, doi:10.1016/j.fct.2011.06.029

Bilancini S, Lucchi M (1989). Approccio al lipedema, *Linfologia* 1, 24-26.

Bilancini S, Lucchi M (1989). Proposition de classification des grosses jambes. *Plebologie* 42 (1), 151-156.

Bjorntorp P (1978). The fat cells, a clinical view. In: Bray GA (ed.), *Recent advances in Obesity Research*, vol. 2, London, Newman.

Bollinger A, Partsch H, Wolfe JHN (Eds.) (1985). *The initial Lymphatics*, Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, pp. 117-130.

Campisi C (1997). Il linfedema, aspetti attuali di diagnosi e terapia, *Flebologia Oggi* 1, 27-41.

- Casley-Smith JR, Casley-Smith Judith R (1986). *High proteins oedemas and the benzopyrones*, Sidney, JB Lippincott Company.
- Curri SB (1976). Aspect morphohistochimiques du tissue adipeux dans la dermohypoderose cellulitique, *J Med Esth* 5,183.
- Curri SB (1984). Linfedema, lipedema, liposclerosi, una questione nosologica, *La Medicina Estetica* 8, 10.
- Curri SB (1986). *Microangiologia*, Milano, Inverni della Beffa.
- Curri SB (1990). Liposclerosi e microcircolo, *La dermoestetica* 1, 6-7.
- Izzo M (2001). Stress ossidativo, radicali liberi e alterazioni matriciali nel processo di invecchiamento, *Il viso giovane*, 5-7 ottobre.
- Izzo M (2004). Matrice e stress ossidativo. *Atti del VIII Congresso Nazionale CIF*, Roma, 6-9 ottobre 2004.
- Leduc A (1980). *Le drainage lymphatique: Theorie et pratique*, Milano, Masson.
- Loscalzo J (2001). Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis, *Circulation Research* 88 (8), 756.
- Pischinger A (1996). *Matrice e regolazione della matrice*, Milano, SIMF-HAUG.
- Reinhartz D (1980). *Veins, Lymphatiques, Interstitium*, Courbevoie, Boot-Dacour.
- Zamboni P, Izzo M, Fogato L, et al. (2003). Urine hemosiderin: a novel marker to assess the severity of chronic venous disease, *J Vasc Surg* 37 (1), 132-6.

## Bibliografia (5.4)

### La tossicità da alluminio e il silicio colloidale

- Altschuler E (1999). Aluminium containing antacids as a cause of idiopathic Parkinson's disease, *Medical Hypotheses* 53 (1), 22-23.
- Amirah MN, Afiza AS, Faizal WIW et al. (2013). Human health risk assessment of metal contamination through consumption of fish, *Journal of Environmental Pollution and Human Health* 1 (1), 1-5.
- Chappell LT (1997). Application of EDTA chelation therapy, *Alternative Medicine Review* 2 (6), 426-432.
- Crinnion WJ (2009). The benefits of pre- and post-challenge urine heavy metal testing, *Altern Med Rev* 14 (1), 3-8.
- Exley C (2014). What is the risk of Aluminium as a neurotoxin?, *Expert Rev of Neurother* 14 (6), 589-591.
- Exley C, Begum A, Woolley MP et al. (2006). Aluminium in tobacco and cannabis and smoking related diseases, *The American Journal of Medicine* 119 (3), 276 e9-11.
- Exley C, Korchazhkina O, Job D et al. (2006). Non-invasive therapy to reduce the body burden of aluminum in Alzheimer's disease, *J Alzheimers Dis* 10 (1), 17-24.
- Exley C, Mamutse G, Korchazhkina O (2006). Elevate urinary excretion of aluminium and iron in the multiple sclerosis, *Multiple Sclerosis* 12 (5), 533-540.
- Kawahara M, Kato-Negishi M (2011). Link between aluminium and the pathogenesis of Alzheimer's disease. The integration of the aluminium and amyloid cascade hypothesis, *Int J Alzheimers Dis*, Mar 8, art. 276393.
- Madrigal-Santillan E, Madrigal-Bujaidar E, Álvarez-González I et al. (2014). Review of natural products with hepatoprotective effects, *World J Gastroenterol*, Oct 28, 20 (40), 14787-14804.
- Morris G, Anderson G, Dean O et al. (2014). The Glutathione System: a new drug target in neuroimmune disorders, *Mol Neurobiol* 50, 1059-1084.

- Passerini G, Cocci Grifoni R, Mariani MM (2005). Environmental pollutants and human diseases: diagnosis and treatment, *Environmental Health Risk III*, Southampton, WIT Press, 437-445.
- Smith AH, Lingas EO, Rahman M (2000). Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency, *Bulletin of the World Health Organization* 78 (9), 1093-1103.
- Zanella SG, Roberti di Sarsina P (2013). Personalization of multiple sclerosis treatments: using the chelation therapy approach, *Explore (NY)* 9 (4), 244-248.

## Bibliografia (5.5)

### **Nuovi paradigmi in odontoiatria: la tossicità da fluoro, da amalgama, metalli endorali e denti devitalizzati**

- Acerra L (2000). *Fluoro: pericolo per i denti, veleno per l'organismo*, Diegaro di Cesena, Macro.
- Blaxill MF, Redwood L, Bernard S (2004). Thimersal and autism, *Medical Hypothesis* 62 (5), 788-794. doi.org/10.1016/j.mehy.2003.11.033
- Damm DD, Bouquot JE, Neville BW, Allen CM (2001). *Oral & Maxillofacial Pathology*, 2nd ed., Philadelphia, WB Saunders.
- Facecchia R (2009). *Esposizione cronica al mercurio*, Palermo: Nuova Ipsa.
- Freedendfeld SH (). How much mercury is absorbed from a typical "silver" amalgam. www.stocktonfp.com/new2014/educational/articles/how-much-mercury-absorbed-typical-%E2%80%9Csilver%E2%80%9D-amalgam
- Godfrey M (1996). Candida, dysbiosis and amalgam, *Journal of Advancement in Medicine* 9 (2), 115-120.
- Hakansson B, Yontchev E, Vannerberg NG, Hedegård B (1986). An examination of the surface corrosion state of dental fillings and constructions. A laboratory investigation of the corrosion behaviour of dental alloys in natural saliva and saline solutions, *J Oral Rehabil* 13, 235-246.
- Kern JK, Geier DA, Bjørklund G, King PG, Homme KG, Haley BE, Sykes LK, Geier MR (2014). Evidence supporting a link between dental amalgams and chronic illness, fatigue, depression, anxiety, and suicide, *Neuro Endocrinol Lett* 35 (7), 537-52.
- Huggins HA (1989). *È tutto nella vostra testa: malattie causate da otturazioni contenenti argento/mercurio*, Bologna, Andromeda.
- Mosca A, Villa L, Villa F, Mabellini M, Lazzari C (1993). Valutazione della tossicità dei restauri dentali in amalgama mediante misurazione dei potenziali elettrici, *Rivista Italiana di Omotossicologia* 2, 33-7.
- Nieuwkoop AJ, Franks WT, Rehbein K, Diehl A, Akbey Ü, Engelke F, Emsley L, Pintacuda G, Oschkinat H (2015). Sensitivity and resolution of proton detected spectra of a deuterated protein at 40 and 60 kHz magic-angle-spinning. *J Biomol NMR* 61 (2), 161-71, doi: 10.1007/s10858-015-9904-0.
- Olsson S, Berglund A, Bergman M (1994). Release of elements due to electrochemical corrosion of dental amalgam, *J Dent Res* 73 (1), 33-43.
- Petrucci G (2004). *I pericoli del fluoro*, Diegaro di Cesena, Macro.
- Price WA (2008). *Nutrition and Physical Degeneration* (8th ed.), Lemon Grove (CA), Price Pot-tenger Nutrition Foundation.
- Stern AH (2005). A review of the studies of the cardiovascular health effects of methylmercury with consideration of their suitability for risk assessment. *Environ Res* 98 (1), 133-142.
- Stern AH, Smith AE (2003). An assessment of the cord blood: maternal blood methyl mercury ratio: implications for risk assessment, *Environ Health Perspect* 111 (12), 1465-1470.

- Störtebecker P (1989). Direct transport of mercury from the oro-nasal cavity to the cranial cavity as a cause of dental amalgam poisoning, *Swedish Journal of Biological Medicine* 3, 8-24.
- Strunecká A, Strunecký O, Patocka J (2002). Fluoride plus aluminum: useful tools in laboratory investigations, but messengers of false information, *Physiol Res* 51 (6), 557-64.
- Varner JA, Jensen KF, Horvath W, Isaacson RL (1998). Chronic administration of aluminum-fluoride or sodium-fluoride to rats in drinking water: alterations in neuronal and cerebrovascular integrity, *Brain Res.* 784 (1-2), 284-98.
- Wilhelm M, Jaeger DE, Schüll-Cablitz H, Hafner D, Idel H (1996). Hepatic clearance and retention of aluminium: studies in the isolated perfused rat liver, *Toxicol Lett* 89 (3), 257-63.
- Verzella G, Verzella F (2008). *Uscire dall'autismo: un approccio biologico e medico*, Santarcangelo di Romagna, Maggioli.
- Wurtman RJ (1985). Alzheimer's disease, *Scientific American* 252 (1), 62-6, 71-4.

## Bibliografia (5.6)

### Prevenzione e cura dell'ipotiroidismo

#### *Danni indotti da diete ipocaloriche*

- Chan JL, et al. (2003). The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short term starvation in healthy man, *J of Clin Invest* 111.
- Douyon L, et al. (2002). Effect of obesity and starvation on thyroid hormone, growth hormone, and cortisol secretion, *Endocr Metab Clin North Am* 31. Il trattamento dell'obesità con diete ipocaloriche causa un calo dell'FT3 e del GH, mentre induce un aumento del reverse-T3. In altre parole: una dieta ipocalorica induce calo muscolare e rallentamento tiroideo.
- Schwartz MW, et al. (1997). Neuroendocrine responses to starvation and weight loss in Zucker obese rats, *NEJM* 336. Abbassamento del metabolismo basale, caduta dei livelli di leptina, soppressione della fertilità, cambio di "carburanti" e attivazione di percorsi catabolici.
- Wadden TA, et al. (1990). Long-term effects of dieting on resting metabolic rate in obese outpatients, *JAMA* 264. Con diete da 1220 e da 420 kcal il metabolismo basale dei pazienti calava in 5 settimane il doppio della percentuale di peso persa. Ovvero: calo di peso del 10% = calo del metabolismo basale del 20%!

#### *Segnali leptinici*

- Andrico S, et al. (2001). Leptin in functional hypothalamic amenorrhoea, *Human Reproduction* 16. Bassi livelli di leptina correlano con bassi livelli di FSH e LH: ovvero se non secerno leptina tutto l'asse della fertilità ne soffre.
- Chu NF, Stampfer MJ, Spiegelman D, et al. (2001). Dietary and lifestyle factors in relation to plasma leptin concentrations among normal weight and overweight men, *Int J Obes Relat Metab Disord* 25 (1), 106-14. Il recupero della sensibilità leptinica è possibile con anche solo 3 ore a settimana di attività fisica.
- De Lartigue G, et al. (2011). Diet-induced obesity leads to the development of leptin resistance in vagal afferent neurons, *Am J Physiol Endocrinol Metab* 301 (1), E187-95. Basi molecolari della resistenza leptinica, come conseguenza e non causa dell'obesità.
- Enriori PJ, et al. (2007). Diet-induced obesity causes severe but reversible leptin resistance in arcuate melanocortin neurons, *Cell Metab* 5 (3), 181-94. Basi molecolari della resistenza leptinica, distinzione in tre tappe per raggiungere una condizione di leptino-resistenza.

- Lechan RM, et al. (2006). The TRH neuron: a hypothalamic integrator of energy metabolism, *Progr Brain Res* 153. (Neuroni responsivi alla leptina nel nucleo arcuato dell'ipotalamo inviano segnali monosinaptici ai neuroni TRH secernenti del nucleo paraventricolare. In altre parole: se secerno leptina, l'ipotalamo attiva con forza la tiroide, inducendo dimagrimento. Questo lavoro mostra con evidenza come un corretto stimolo leptinico, derivante quindi da una piena normocaloricità, sia in grado di indurre dimagrimento: un calcio nei denti a tutti coloro che dopo il 2006 continuano a credere che si dimagrisca solo riducendo le calorie assunte!)
- Leroy P, Desselin S, Villageois P, et al. (1996). Expression of ob gene in adipose cells. Regulation by insulin, *J Biol Chem* 271. L'insulina stimola produzione di leptina attraverso iperpressione del gene ob: significa che resistenza insulinica = resistenza leptinica.
- McGarry JD (2002). Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes, *Diabetes* 51 (1), 7-18. Leptino resistenza negli obesi spegne il segnale leptinico naturale correlato al cibo. Inoltre la leptino resistenza induce inevitabilmente insulino resistenza.
- Page KA, et al. (2013). Effects of fructose vs. glucose on regional cerebral blood flow in brain regions involved with appetite and reward pathways, *JAMA* 309, 1773.
- Richard D, et al. (1999). Role of CRH in the regulation of energy balance, *Curr Opin in Endocr Diab* 6. Attraverso l'asse leptina-POMC.
- Roemmich JN, et al. (1999). Evidence supporting an adipo-leptin-GH axis in obesity related hypsomatotropism, *The Endocrinologist* 9. Bassa leptina o resistenza leptinica provocano caduta nei livelli di GH, l'ormone della crescita.
- Schwartz MW, et al. (1997). Neuroendocrine responses to starvation and weight loss in Zucker obese rats, *NEJM* 336. Abbassamento del metabolismo basale, caduta dei livelli di leptina, soppressione della fertilità, cambio di fonti energetiche con percorsi catabolici a carico della massa magra.
- Takeoka K, Hidaka Y, Hanada H, et al. (2003). Increase in serum levels of autoantibodies after attack of seasonal allergic rhinitis in patients with Graves'disease, *Int Arch Allergy Immunol* 132 (3), 268-276.
- Zhang X, et al. (2008). Hypothalamic NF- $\kappa$ B links overnutrition to energy imbalance and obesity, *Cell* 135 (1), 61-73.
- Zhang Y, Friedman JM, et al. (1994). Positional cloning of the mouse ob-gene and its human homologue, *Nature* 372. La scoperta della leptina.

#### *Adeguata quantità di proteine in ogni pasto*

- Halton TL (2004). The effects of high protein diets on thermogenesis satiety and weight loss: a review, *J Am Coll Nutr* 23.
- National Academy of Sciences (2005). *Dietary reference intake for energy, carbohydrates, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, proteins and aminoacids*, Washington, The National Academies Press, www.nap.edu
- Piccoli A, et al. (1995). Bivariate normal values of the bioelectrical impedance vector in adult and elderly populations, *Am J Clin Nutr*, 61 (2): 269-70.
- Polson DA, et al. (2004). Macronutrient composition of the diet differentially affects leptin and adiponutrin mRNA expression in response to meal feeding, *J Nutr Bioch* 15. Con dieta ricca di zucchero la leptina sale immediatamente e rapidamente diminuisce. Con un pasto ricco di proteine la leptina rimane elevata a lungo e non cala: effetti sulla sazietà e sul metabolismo.

### Farmaci

- Smith R (2002). In search of "non-disease", *BMJ* 324 (7342), 883-885. L'articolo che definisce 200 "non malattie" tra quelle di solito considerate tali.
- Taylor PN, Iqbal A, Minassian C, et al. (2014). Falling threshold for treatment of borderline elevated thyrotropin levels-balancing benefits and risks: evidence from a large community-based study, *JAMA Intern Med* 174 (1), 32-9. Possibili effetti negativi dell'aumento di prescrizione di tiroxina.
- Waknine Y (2012). Pharma Company-Sponsored Studies Biased: Meta-analysis, *Medscape Medical News*, [www.medscape.com](http://www.medscape.com). Una metanalisi documenta come gli studi pubblicati e finanziati dall'industria farmaceutica siano molto più "rosei" rispetto ai dati che emergono da metanalisi più complete sugli stessi farmaci. Il dato non sorprende.

### Movimento fisico e attivazione metabolica

- American College of Sports Medicine (2006). *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.
- Aronson D, et al. (2004). The association between cardiorespiratory fitness and C-reactive protein in subjects with the metabolic syndrome, *J Am Coll Cardiol* 44. Effetto antinfiammatorio dell'attività fisica.
- Befroy DE, Petersen KF, Dufour S, et al. (2008). Increased substrate oxidation and mitochondrial uncoupling in skeletal muscle of endurance-trained individuals, *Proc Natl Acad Sci USA* 105 (43), 16701-6. 54% di incremento metabolico nel muscolo di sportivi rispetto a sedentari, anche a riposo.
- Bramble D, Liebermann D (2004). Born to run: endurance running and the evolution of Homo, *Nature* 432.
- De Giacomi G, Perra A, Bertozzi N, et al. (2005). La valutazione dello Studio PASSI (Progressi delle Aziende Sanitarie per la Salute in Italia), *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 18 (11), inserto BEN.
- Fletcher GF, et al. (2001). Exercise standards for testing and training: a statement for health-care professionals from the American Heart Association, *Circulation* 104.
- Hill JO, Wyatt HR (2005). Role of physical activity in preventing and treating obesity, *J Appl Physiol* 99, 765-770.
- Kraemer RR, Chu H, Castracane VD (2002). Leptin and exercise, *Experimental Biology and Medicine*, 227, 701-708.
- Noland RC (2003). Acute endurance exercise increases skeletal muscle UCP3 gene expression in untrained humans, *Metabolism* 52.
- Spinelli A, Lamberti A, Baglio G, et al. (2009). *Okkio alla salute: sistema di sorveglianza su alimentazione e attività fisica nei bambini della scuola primaria. Risultati 2008*. Roma, Istituto Superiore di Sanità (Rapporti ISTISAN 09/24).
- Tremblay A (2004). Impact of exercise intensity on body fatness and skeletal muscle metabolism, *Metabolism* 43.

## Bibliografia (5.7)

### Dimagrimento localizzato, attività fisica e ossigeno

- Angelozzi A, Botta G, Spattini M (2013). *Variazione della composizione corporea e valutazione della localizzazione del grasso in relazione ai livelli di testosterone, cortisolo e 17 beta estradiolo*, Università degli Studi di Milano, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, [www.massimospattini.it](http://www.massimospattini.it).

- Dussini N, Martino R, Neri M, et al. (1994). Multifactorial analysis of circuit-training induced regional fat reduction, *Eur J Physiol* 424, R159-R188.
- Farinatti PT, Castinheiras Neto AG (2011). The effect of between-set rest intervals on the oxygen uptake during and after resistance exercise sessions performed with large – and small – muscle mass, *J Strength Cond Res* 25 (11), 3181-90.
- Hansen K, Shriver T, Schoeller D, et al. (2005). The effects of exercise on the storage and oxidation of dietary fat, *Sports Med* 35 (5), 363-73.
- Katch FI, McArdle WD (1993). *Introduction to Nutrition, Exercise, and Health*, 4th ed., Philadelphia, Lea & Febiger.
- Luzi P, Spattini M (2013), *Dimagrimento localizzato: Studio clinico controllato*. Università di Milano, Interfacoltà Agraria, Medicina e Chirurgia, [www.massimospattini.it](http://www.massimospattini.it).
- Paoli M, Neri M (2010). *Principi di metodologia del fitness*, Erika, pp. 260-262.
- Sofer S, Eliraz A, Kaplan S, et al. (2011). Greater weight loss and hormonal changes after 6 months diet with carbohydrates eaten mostly at dinner, *Obesity (Silver Spring)* 19 (10), 2006-14.
- Spattini M (2012). *La DietaCOM e il dimagrimento localizzato*, Milano, Tecniche Nuove, pp. 271-272.
- Spattini M (2014). *La DietaCOM in pratica*, Milano, Tecniche Nuove.
- Stallknecht B, Dela F, Helge JW, et al. (2007). Are blood flow and lipolysis in subcutaneous adipose tissue influenced by contractions in adjacent muscles in humans?, *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292(2): E394-9. [ePub 2006, Sept 19].
- Vignoli R (2014), *Adiposità localizzata (nuovi orizzonti nella terapia)*. [www.abodybuilding.com/vignoli1.htm](http://www.abodybuilding.com/vignoli1.htm).
- Vedi anche *Wikipedia*, alla voce "Spot Reduction".

## Bibliografia (5.8)

### La medicina dello stile di vita: dall'esperienza empirica all'evidenza scientifica

- Abudu N (2009). Screening Methods for the Diagnosis of Cushing's Syndrome, *Warde Medical Laboratory* 20 (3).
- Backhaus J, Junghanns K, Hohagen F (2004). Sleep disturbances are correlated with decreased morning awakening salivary cortisol, *Psychoneuroendocrinology* 29 (9), 1184-91.
- Buckley TM, Schatzberg AF (2005a). Aging and the role of the HPA axis and rhythm in sleep and memory-consolidation, *Am J Geriatr Psychiatry*, May, 13 (5), 344-52.
- Buckley TM, Schatzberg AF (2005b). On the interactions of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and sleep: normal HPA axis activity and circadian rhythm, exemplary sleep disorders, *J Clin Endocrinol Metab*, May, 90 (5), 3106-14.
- Cohen LH, Pane N, Smith HS (1997). Complexity of the Interpersonal Self and Affective Reactions to Interpersonal Stressors in Life and in the Laboratory, *Cognitive Therapy and Research* 21 (4), 387-407.
- Davidson RJ, Kabat-Zinn J, Schumacher J, Rosenkranz M, Muller D, Santorelli SF, Urbanowski F, Harrington A, Bonus K, Sheridan JF (2003). Alterations in brain and immune function produced by mindfulness meditation, *Psychosomatic medicine* 65 (4), 564-570.
- Davison G, Kehaya C, Wyn Jones A (2014). Nutritional and Physical Activity Interventions to Improve Immunity, *Am J Lifestyle Med*, Nov. 25, 1559827614557773, doi: 10.1177/1559827614557773.
- Donovan RJ, Anwar-McHenry J (2014). Act-Belong-Commit: Lifestyle Medicine for Keeping Mentally Healthy, *Am J Lifestyle Med*, June 2, 1559827614536846, doi: 10.1177/1559827614536846.
- Epstein RM, Shields CG, Meldrum SC, Fiscella K, Carroll J, Carney PA, Duberstein PR (2006). Physicians' responses to patients' medically unexplained symptoms, *Psychosom Med* 68 (2), 269-76.

- Gaillard RC (2003). Interactions between the immune and neuroendocrine systems: clinical implications, *J Soc Biol* 197 (2), 89-95.
- Gemma C, Vila J, Bachstetter A, Bickford PC (2007). Oxidative Stress and the Aging Brain: From Theory to Prevention. In: Riddle DR (ed.), *Brain Aging: Models, Methods, and Mechanisms*, Boca Raton (FL), CRC Press, chapter 15.
- Gluck ME, Geliebter A, Hung J, Yahav E (2004). Cortisol, hunger, and desire to binge eat following a cold stress test in obese women with binge eating disorder, *Psychosom Med*, Nov.-Dec., 66 (6), 876-81.
- Harris MA, Oelbaum R, Flomo D (2007). State of the Art Reviews: Changing and Adhering to Lifestyle Changes: What Are the Keys?, *Am J Lifestyle Med*, May, 1, 214-219, doi: 10.1177/1559827606298979.
- Joseph RP, Daniel CL, Thind H, Benitez TJ, Pekmezi D (2014). Applying Psychological Theories to Promote Long-Term Maintenance of Health Behaviors, *Am J Lifestyle Med*, Oct. 27, 1559827614554594, doi: 10.1177/1559827614554594.
- Kokkinos P (2014). Physical Fitness Evaluation, *Am J Lifestyle Med*, Jan. 20, 1559827613520128, doi: 10.1177/1559827613520128.
- Krüger K, Mooren FC, Eder K, Ringseis R (2014). Immune and Inflammatory Signaling Pathways in Exercise and Obesity, *Am J Lifestyle Med*, Oct. 27, 1559827614552986, doi: 10.1177/1559827614552986.
- Luo Lu (1994). University transition: major and minor life stressors, personality characteristics and mental health, *Psychological Medicine* 24 (1994), pp 81-87. doi: 10.1017/S0033291700026854.
- Mattson MP, Shea TB (2003). Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders, *Trends in Neurosciences* 26 (3), 137-146.
- McCaddon A, Regland B, Hudson P, Davies G (2002). Functional vitamin B<sub>12</sub> deficiency and Alzheimer disease, *Neurology* 58 (9), 1395-1399.
- Moreno JP, Johnston CA (2014). Smoking Cessation. The Issue of Behavioral Resistance, *Am J Lifestyle Med*, Dec. 25, 1559827614562725.
- Obeid R, Herrmann W (2006). Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia, *FEBS Lett* 580 (13), 2994-3005.
- Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Spence DW, Cardinali DP (2007). Role of the melatonin system in the control of sleep: therapeutic implications, *CNS Drugs* 21 (12), 995-1018.
- Ringsberg KC, Krantz G (2006). Coping with patients with medically unexplained symptoms: work-related strategies of physicians in primary health care, *J Health Psychol* 11(1), 107-116.
- Rippe JM, Angelopoulos TJ (2007a). The American Journal of Lifestyle Medicine: A Forum, a Vision, and a Mandate, *Am J Lifestyle Med*, Jan.-Feb., 1, 7-9, doi: 10.1177/1559827606295219.
- Rippe JM, Angelopoulos TJ, Zukley L (2007b). Lifestyle Medicine Strategies for Risk Factor Reduction, Prevention, and Treatment of Coronary Heart Disease: Part II, *Am J Lifestyle Med*, Mar.-Apr., 1, 79-90, doi: 10.1177/1559827606297759.
- Selye H (1950). Stress and the general adaptation syndrome, *Br Med J*, Jun 17, 1 (4667), 1383-92.
- Selye H (1975). Confusion and controversy in the stress field, *J Human Stress*, Jun, 1 (2), 37-44.
- Selye H (1975). Stress and distress, *Compr Ther*, Dec, 1 (8), 9-13.
- Selye H (1976). Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions, *Can Med Assoc J*, Jul 3, 115 (1), 53-6.
- Selye H, Fortier C (1950). Adaptive reaction to stress, *Psychosom Med*, May-Jun, 12 (3), 149-57.
- Selye H, Horava A (1953). Stress, *Tidsskr Nor Laegeforen*, Mar 1, 73 (5), 195.
- Sibrian-Vazquez M, Escobedo JO, Lim S, Samoei GK, Strongin RM (2010). Homocystamides promote free-radical and oxidative damage to proteins, *Proc Natl Acad Sci USA* 107 (2), 551-4.

- Takahashi T, Ikeda K, Ishikawa M, Kitamura N, Tsukasaki T, Nakama D, Kameda T (2005). Anxiety, reactivity, and social stress-induced cortisol elevation in humans, *Neuro Endocrinol Lett* 26 (4), 351-4.
- Terre L (2011). Multiple Health Behavior Change: Game On or Time Out?, *Am J Lifestyle Med*, May-June, 5, 229-231.
- Tunbridge EM, Harrison PJ, Warden DR, Johnston C, Refsum H, Smith AD (2008). Polymorphisms in the Catechol-O-Methyltransferase (COMT) Gene Influence Plasma Total Homocysteine Levels, *Am J Med Genet, Part B*, 147B, 996-999.
- Walker B, Holling CS, Carpenter SR, Kinzig A (2004). Resilience, adaptability and transformability in social-ecological systems, *Ecology and Society*, 131.252.97.79.
- Weick KE, Sutcliffe KM (2006). Mindfulness and the quality of organizational attention, *Organization Science*, pubsonline.informs.org.
- Williams KT, Schalinske KL (2007). New insights into the regulation of methyl group and homocysteine metabolism, *The Journal of nutrition* 137 (2), 311-314.

# La storia continua...

Paola, inseriamo gli autori in ordine alfabetico (senza il numero di paragrafo) come per altri capitoli, ripetendoli poi ad ogni titolo?

### 6.1 Warburg aveva ragione!

Franco Canestrari

Per *tumore* (dal latino *tumor*, "rigonfiamento") o *neoplasia* (dal greco *néos*, "nuovo", e *plásis*, "formazione") si intende "una massa abnormale di tessuto che cresce in eccesso e in modo sordoordinato rispetto ai tessuti normali, e persiste in questo stato dopo la cessazione degli stimoli che hanno indotto il processo".

L'organismo umano è costituito da circa 200 diversi tipi di cellule che si caratterizzano per le loro peculiari funzioni. Una minima parte di esse (circa il 10%) sono "immortali", mentre le altre si rinnovano continuamente; alcune cellule (ad esempio quelle del sangue) si rinnovano nel giro di giorni o settimane, altre vivono per anni prima di esaurire il loro ciclo. Ogni giorno nascono circa mille miliardi di nuove cellule e altrettante ne muoiono. Un equilibrio dinamico che non dovrebbe essere spezzato. Sfortunatamente però, durante il suo ciclo vitale, una cellula subisce numerose aggressioni; se l'organismo non è in grado di contrastare efficacemente questi attacchi, la cellula può sfuggire al controllo e accumulare *mutazioni* (le cosiddette alterazioni genetiche) che interferiscono con i processi di proliferazione e di morte causando problemi a livello di omeostasi cellulare. A questo punto tale cellula può riprodursi creando cellule sempre più instabili che finiranno per generare un tessuto tumorale. È importante però fare una distinzione, poiché alcune neoplasie proliferano, ma non si diffondono ad altri tessuti, mentre in altre alla proliferazione si aggiunge la migrazione di alcune loro cellule che si dissociano dal tessuto tumorale e iniziano una migrazione verso tessuti vicini o verso zone dell'organismo più distanti. Questa *capacità di migrazione* è ciò che, fondamentalmente, distingue i tumori maligni (i *cancri*) da quelli benigni. In altre parole: un tumore benigno rimane confinato all'organo nel quale ha iniziato il suo sviluppo, si espande, in genere in modo decisamente lento, e può comprimere i tessuti vicini, danneggiandoli e creando problemi funzionali, ma non ha capacità infiltrative; un tumore maligno invece cresce, solitamente in modo rapido, infila i tessuti vicini, li invade e inoltre può, attraverso le vie linfatiche e quelle sanguigne, colonizzare altri organi (processo di *metastatizzazione*). Le cellule

anticipato,  
come da ac-  
cordi con dr  
Iorio

che hanno abbandonato la loro sede di origine (dando luogo alle cosiddette *metastasi*) vengono anche denominate *cellule colonizzatrici*. Tutti i tumori, siano essi benigni o maligni, hanno due componenti di base: (a) cellule neoplastiche clonali che costituiscono il parenchima tumorale e (b) uno stroma di sostegno costituito da tessuto connettivo, vasi sanguigni, macrofagi e linfociti. Benché a determinare il comportamento del tumore e le sue conseguenze patologiche siano fondamentalmente le cellule neoplastiche, la loro crescita ed evoluzione dipendono dallo stroma perché è indispensabile un adeguato apporto di sangue affinché le cellule tumorali sopravvivano e si replichino. Il tessuto connettivo stromale fornisce invece il supporto strutturale essenziale per le cellule in accrescimento (Robbins e Cotran, 2010). Le mutazioni necessarie che una data cellula deve accumulare per dare origine a un cancro sono le seguenti, e sono comuni a tutti i tipi di cancro:

- acquisizione dell'autonomia moltiplicativa per sopravvenuta incapacità a sottostare ai meccanismi regolatori della proliferazione cellulare;
- assenza di inibizione dipendente dalla densità (le cellule normali si moltiplicano fino a una definita densità cellulare, raggiunta la quale diventano quiescenti);
- ridotta capacità di adesione con altre cellule o componenti tissutali;
- assenza di matrice extracellulare (spesso digerita da *proteasi*) che favorisce l'invasione di *tessuti* normali adiacenti;
- *angiogenesi*: formazione di nuovi vasi sanguigni per fornire ossigeno e fattori nutritivi alle cellule tumorali;
- riduzione o perdita della capacità differenziativa;
- acquisizione della capacità di *replicazione* illimitata per effetto dell'espressione della *telomerasi* o con sistemi alternativi chiamati "ALT" (Alternative Lengthening of Telomeres);
- riduzione o perdita della possibilità di andare incontro a morte cellulare programmata (*apoptosi*);
- perdita della cosiddetta inibizione da contatto.

Per diventare mobili e liberarsi del tumore iniziale, le cellule tumorali hanno bisogno di aiuto da parte di altre cellule presenti nel loro ambiente. Molte cellule sono state implicate in questo processo, incluse cellule del sistema immunitario e quelle del tessuto connettivo. Altri collaboratori delle metastasi sono le piastrine, le cellule del sangue la cui normale funzione è quella di promuovere la coagulazione del sangue. Il ruolo esatto svolto dalle piastrine è stato sempre poco chiaro, ma un recente studio (Gay e Habermann, 2011) dimostra che queste cellule emettono segnali chimici che inducono le cellule tumorali a diventare più invasive e a stabilirsi in un nuovo sito. Di fronte all'attacco tumorale, le piastrine possono promuovere lo sviluppo e la strutturazione del microcircolo, ma l'influenza maggiore è data probabilmente dal supporto che le piastrine danno al tumore per l'ingresso nel circolo sanguigno. In questo ambiente dinamico e in relazione alle loro specifiche caratteristiche, le piastrine possono promuovere la progressione ematogena tumorale completando le proprietà adesive del tumore e modulando la protezione delle cellule immunitarie deputate al controllo dell'organismo.

Il termine *cancro* è segnato, nei nostri tempi, da un marchio di terribilità, quasi esprime un mito di peccato e perdizione o un imminente significato di espiazione di

oscuere colpe dell'umanità; si evita persino di farne il nome, indicandolo in via allusiva. Si dice che, a onta di tanti studi sull'argomento, i risultati ottenuti in questi anni siano stati in parte deludenti pur avendo cercato di giungere al centro del labirinto dove ha sede il "mostro" (Franzini, 1994). Fra tutti i pericoli che dobbiamo fronteggiare, il cancro costituisce una reale minaccia: esso è infatti in grado di interessare una persona su tre prima dei 75 anni e una su quattro può soccombere in seguito alle complicazioni a esso correlate. Il cancro è onnipresente e multiforme; nelle società occidentali, in cui la popolazione è sostanzialmente sana, ricca e longeva, l'insorgenza costante di neoplasie rappresenta una delle sfide più ardue per la comunità scientifica.

Si dice spesso che ogni tumore è unico, ogni individuo vive la sua battaglia contro questa malattia, affrontando la sfida più difficile in maniera individuale, ma, se ci soffermiamo su questo punto, troviamo una possibile spiegazione se pensiamo alla domanda: chi siamo o cosa siamo noi? La risposta è che siamo una comunità di cellule che si sono messe insieme a formare "una statalizzazione di cellule", come la chiama Enderlein (Alix, 2005), dopo aver maturato la strategia, lungo milioni di anni, sulle migliori modalità di sopravvivere, ma non dimenticando di essere state in tempi remotissimi organismi unicellulari. La cellula attuale è il risultato dell'evoluzione di una cellula primitiva, apparsa sulla Terra circa 3,5 miliardi di anni fa, che somigliava più a un batterio che a quella che conosciamo oggi.

A tal proposito, parlando oggi di DNA mitocondriale facciamo riaffiorare l'idea della remota colonizzazione della cellula da parte dei batteri che poi evolutivamente hanno dato origine ai mitocondri. Su queste basi si pensa che ogni cellula del corpo possa contenere in memoria le informazioni complete di tutto il sistema, e a tal fine bisogna pensare a una trasmissione di informazioni.

L'organismo potrebbe inviare informazioni sbagliate, attraverso quelle che oggi definiamo le *molecole informative*, che hanno fornito le basi del nuovo paradigma della Medicina informazionale. In questo caso una parte di cellule della comunità non risponde più al direttore dell'orchestra secondo quella che il fisiologo Denis Noble (2009) chiama "la musica della vita". Queste cellule senza un controllo generale sono indotte a errori, almeno secondo la nostra interpretazione e magari non si potrebbero ritenere errori in una logica evolutiva.

Anatoly Lichtenstein (2008) propone una ipotesi medica nella quale il cancro viene visto in relazione a un "*cambiamento di paradigma*" rispetto all'attuale considerazione di essere il prodotto di un limitato disegno di un organismo multicellulare e della sua intrinseca fallibilità.

Nel nuovo paradigma della carcinogenesi si ipotizza un fenomeno biologico altamente conservato: "una morte programmata dell'organismo".

A supporto di questa teoria ci sono i seguenti punti:

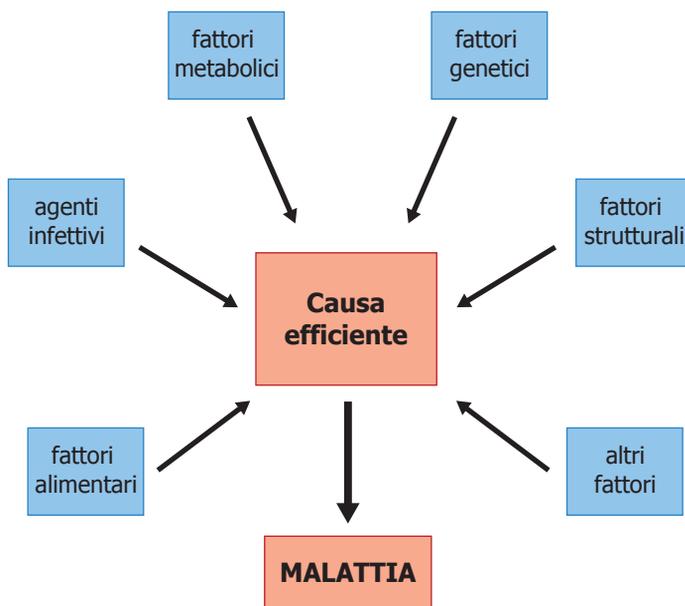
- a) le modificazioni epigenetiche portano alla precoce comparsa del cancro simultaneamente in molte cellule secondo una logica deterministica;
- b) il concetto delle cellule staminali neoplastiche suggerisce per il cancro non solo una vaga *trasformazione* ma una vera *differenziazione*;
- c) le relazioni tumore/ospite sono interpretate come antagoniste ma in realtà sono sinergiche secondo quella che oggi chiamiamo la "visione olistica";

- d) la morte del soggetto per il cancro è predeterminata apparentemente a causa delle specifiche attività "killer" delle cellule neoplastiche;
- e) la conservazione evolutiva indica che il tumore insorge con un vantaggio generale che si può spiegare come successo evolutivo.

Mutano quindi le più comuni logiche cellulari nell'ambito dell'oncologia, quali:

- incapacità di rinnovarsi costantemente almeno per le cellule dell'organismo in grado di farlo, a tale proposito i filosofi hanno detto: "Non esiste nulla di più durevole del cambiamento";
- evasione dal suicidio benefico, l'apoptosi, una forma di eutanasia cellulare utilizzata normalmente da quelle cellule che hanno accumulato danni intracellulari non riparabili;
- elusione dei controllori dell'organismo come le cellule NK del sangue.

Sono comunque errori commessi dalle nostre stesse cellule, sicuramente facilitati dai vari fattori di rischio, e altre concause, che comunque portano a ritenere endogena l'origine del cancro. Per arrivare alla malattia è comunque necessario superare il cosiddetto valore soglia di tutti gli elementi concorrenti (figura 6.1.1) e bisogna considerare anche i fattori di rischio, come nel caso del cancro.



**Figura 6.1.1** – Le malattie sono generalmente eventi multifattoriali e si manifestano quando l'integrale dei loro effetti supera una soglia (sporadicità)

Tutto ciò ci riconduce agli importanti interrogativi che cita Mel Greaves (2003), al quale rimandiamo il lettore per ragioni di spazio, riportando il principale di questi: *Perché esiste il cancro?* Pur non riuscendo a dare una risposta plausibile a questo quesito possiamo oggi affermare che disponiamo di alternative in grado di contrastarlo quali: la diagnosi precoce, le terapie naturali e no, ma soprattutto, sulla base degli insuccessi, la prevenzione che rappresenta l'obiettivo fondamentale sul quale far convergere gli sforzi scientifici.

### Una visione olistica

Apriamo questo paragrafo con una affermazione del grande fisico Niels Bohr: *“Il contrario di una corretta affermazione è la falsa affermazione. Ma l'opposto di una profonda verità potrebbe essere un'altra profonda verità”*. Molti fattori confluiscono in una visione olistica del cancro e andrebbero studiati e valutati, tra questi ricordiamo:

- lo stato infiammatorio del soggetto;
- la componente psichica e specialmente la presenza di una condizione depressiva;
- la funzionalità del microbiota intestinale e le sue relazioni con il sistema immunitario locale e generale;
- le abitudini alimentari e gli stili di vita;
- la qualità del sonno;
- altri fattori compreso quello che oggi viene definito PNEI, un sistema che presiede e coordina la componente psico-neurologica, quindi le funzioni superiori del soggetto, con quella più operativa, la componente endocrino-immunologica.

Il cancro è una malattia multifattoriale a tappe. In ognuna di queste fondamentali tappe l'organismo ha a disposizione risorse che consentono l'espulsione del cancerogeno, la riparazione dei segmenti danneggiati di DNA, la liquidazione della cellula che non può autoripararsi, fino al controllo della diffusione metastatica di un tumore primitivo. Gli stili di vita influenzano ognuna di queste tappe, come messo bene in evidenza da Francesco Bottaccioli, figura di riferimento della Psico-Neuro-Endocrino-Immunologia (Bottaccioli, 2005).

Quindi bisogna ragionare in termini di “puzzle”, dove l'immagine è definita solamente in presenza di una giustapposizione dei singoli pezzi e con la stessa logica potrebbe essere rappresentata la funzionalità dell'intera comunità cellulare, costituita da oltre 200 tipi diversi di cellule, ognuna con una specifica funzione e specializzazione all'interno della comunità. A questi aspetti generali si affiancano quelli più specifici come il ruolo degli oncogeni e oncosoppressori, i telomeri e la telomerasi (quest'ultimo enzima viene riespresso nelle cellule neoplastiche, pertanto alcuni farmaci vengono appunto definiti inibitori delle telomerasi), i fattori di crescita, i microRNA, la perdita dell'inibizione da contatto (una caratteristica dei tumori), la logica delle cellule staminali tumorali e la loro resistenza ai chemioterapici, il ruolo dello stress ossidativo (anche per questi aspetti si rimanda ai testi specifici).

Ritornando a Bohr, l'illustre fisico si è soffermato a lungo sulla paradossale abilità della natura di combinare l'incompatibile. Nel cancro vi sono due ipotesi a confronto: *“il cancro è una malattia dei geni”* e quindi la sua origine è riconducibile alle mutazioni geniche, oppure *“il cancro è una malattia della regolazione dei geni”* e quindi è dovuta a

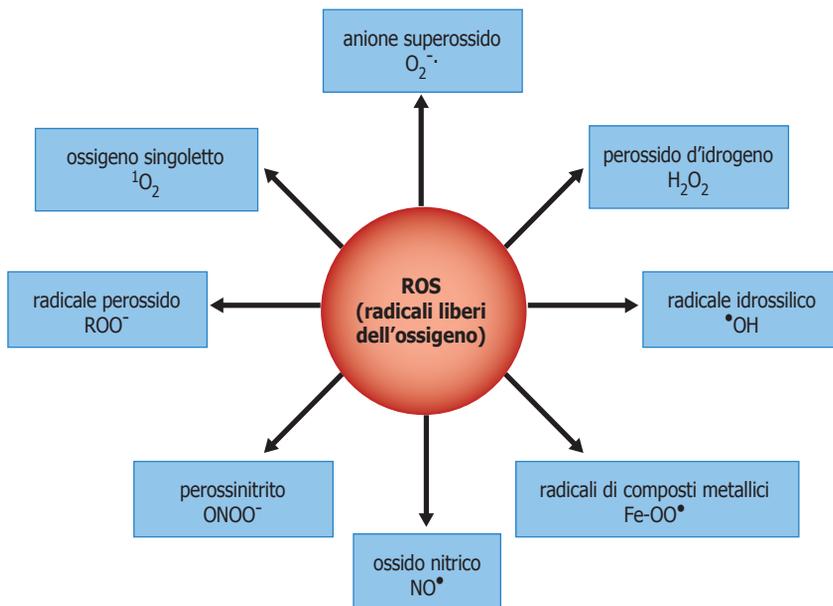
cambiamenti delle strutture deputate al controllo genico. Con la scoperta degli *onco-geni*, la visione, da parte dei genetisti, della carcinogenesi come Evoluzione Darwiniana mediante numerosi cicli "step-by-step" di mutazioni selettive ha trionfato. Questo rimane comunque un aspetto complesso da studiare e dimostrare mediante il metodo esperimento/errore.

Lo sviluppo del tumore è preceduto da una fase "multi-step" di trasformazione, seguono stadi successivi di progressione e, nel caso di insuccesso delle terapie, *l'exitus*. L'ordine degli eventi è in una certa misura prevedibile: aggressività del tumore, inefficacia delle difese del soggetto, riduzione della forza vitale, sindrome paraneoplastica e morte. Recenti esperimenti suggeriscono che la trasformazione maligna è un processo altamente cooperativo con sinergie a vari livelli della regolazione. Questa aspettativa è correlabile con i dati circa l'importante ruolo dell'epigenetica nella carcinogenesi, scoperta che non solo aggiunge un'altra complicazione a un meccanismo già complesso, ma fa qualcosa di più: aggiunge l'opposizione di Bohr dell'incompatibile: *il Caos e l'Ordine*. Infatti, la mutazione è un evento caotico, raro, casuale, anche se alcune deviazioni dalla casualità assoluta possono esistere, e avviene in cellule singole (sono monoclonali). L'epigenetica, al contrario, è una forma di realizzazione dell'Ordine, che riguarda l'intero genoma, e opera grazie a processi complessi (metilazione del DNA, modifica della cromatina, regolazione dei microRNA); si stabilisce durante l'embriogenesi e si snoda per tutta la vita successiva. Le modificazioni epigenetiche che portano al cancro sono trasmissibili, compaiono precocemente e contemporaneamente in molte cellule (policlonali) e in alcuni casi sembrano rispondere a delle "istruzioni". Il destino di alcuni geni di subire metilazioni durante la trasformazione non è apparentemente accidentale, ma è impresso nel genoma cellulare (Schlesinger et al., 2007). Il grande numero di eventi epigenetici ben coordinati durante la carcinogenesi pone dei dubbi in quanto eventi stocastici e porta a ritenerli programmati (Jones e Baylin, 2007). Significativa è l'evidenza dell'importante ruolo di entrambi i componenti della cancerogenesi: mutagenesi ed epigenetica. Più difficile è capire ciò che è primario e ciò che è secondario. La risoluzione di questo problema darà la possibilità di scoprire se il cancro è un evento casuale o naturale e, in una prospettiva più ampia, quale sia la natura di questo fenomeno biologico. Nuovi dati che emergono dalla letteratura scientifica conducono all'ipotesi di un nuovo paradigma della carcinogenesi, secondo cui il cancro non è un difetto nella normale differenziazione ma piuttosto una differenziazione alternativa delle cellule staminali (Reya et al., 2001) o di cellule progenitrici del cancro (Feinberg et al., 2006). In definitiva si innesca e si attiva un programma criptico che forma un organo speciale (tumore) il quale sfugge alla logica degli altri organi che interagiscono tra loro e rispondono al sistema immunitario. Le cellule tumorali possono anche proteggersi dai danni dello stress ossidativo e diffondersi. Questo farebbe pensare a una loro intrinseca capacità antiossidante e quindi a una loro resistenza agli ossidanti che usualmente sono in grado di danneggiare le cellule normali (Pani et al., 2010); pertanto fornire antiossidanti esogeni al sistema potrebbe teoricamente favorire le cellule tumorali!

### **Il metabolismo della cellula tumorale e l'effetto Warburg**

Prima di affrontare l'argomento "Warburg" è d'obbligo introdurre nella scena l'attore principale, l'ossigeno, in considerazione del fatto che la vita aerobica si è evoluta in modo

tale che la sua mera sopravvivenza dipenda dall'ossigeno molecolare. La fosforilazione ossidativa mitocondriale richiede necessariamente ossigeno per generare energia utile negli aerobi come l'uomo e gli altri mammiferi. L'omeostasi di questi organismi è rigorosamente mantenuta grazie a uno stato ottimale di ossigenazione cellulare e tissutale controllato da complessi meccanismi sensori dell'ossigeno, reazioni a catena che fungono da segnali e processi di trasporto. Nel caso si verifichi una fluttuazione dei livelli di ossigeno che determini un aumento (iperossia) o una diminuzione (ipossia) di ossigeno molecolare, l'organismo si ritroverebbe ad affrontare una crisi che comporterebbe la deplezione delle riserve energetiche, alterazioni dei segnali a cascata, reazioni/eventi ossidativi e morte cellulare o danno tissutale. L'ossigeno molecolare è attivato da meccanismi sia enzimatici che non enzimatici e convertito in specie radicaliche altamente reattive (ROS) (Kulkarni et al., 2007) (figura 6.1.2).

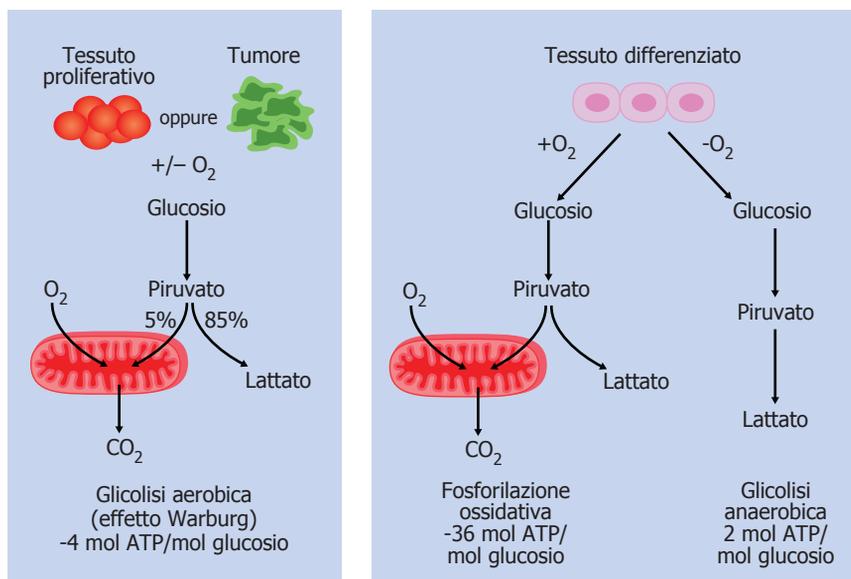


**Figura 6.1.2** – Le diverse specie di ROS derivanti dall'ossigeno molecolare. (Modificata da: Kulkarni et al., 2007)

La rivalutazione dell'effetto "Warburg" nei tumori è come il ritrovamento della strada maestra per un viandante o la rotta per il navigante dopo tanti decenni di attenzione alla ricerca di nuove strategie terapeutiche e rappresenta la riscoperta del ruolo fondamentale della biochimica della cellula neoplastica e del suo ambiente circostante, la matrice extracellulare, che ha visto in Pischinger uno dei massimi esperti (Pischinger, 1996). Questo autorevole ricercatore austriaco, professore di Istologia ed Embriologia all'Università di Vienna, già nel 1975 presentò le sue idee circa il "Sistema della Regolazione di Base" percependo la debolezza della teoria di Virchow, che nel lontano 1858 formulò le basi della patologia cellulare. Lo stesso Pischinger nel 1983 si esprime come segue: "Essen-

zialmente il concetto di cellula è soltanto un'astrazione morfologica. Considerato dal punto di vista biologico, non può essere accettato senza l'ambiente vitale della cellula". Alla matrice cellulare arrivano sia le informazioni chimiche per la cellula, quali gli ormoni e i nutrienti, sia quelle nervose (sistema vegetativo), le cui fibre finiscono libere nella matrice. Inoltre, in qualità di filtro, la matrice rappresenta il primo emuntorio per esportare le scorie derivanti dal metabolismo cellulare grazie agli intensi scambi vascolari e linfatici. Se tale filtro è danneggiato, gli scambi non avvengono e nel caso della malattia neoplastica vi è il rischio che il tumore venga disseminato non solo per via linfatica ma anche per via ematica, attraverso la vena cava superiore.

Il ruolo fondamentale della matrice è stato anche affrontato dalla Omotossicologia, una branca della medicina non convenzionale che vede in Hans-Heinrich Reckeweg uno dei suoi pilastri (Reckeweg, 1988). Secondo Reckeweg la matrice extracellulare è il commutatore che modula l'alternarsi ciclico dei flussi acido e alcalino dipendenti dal sistema nervoso simpatico e parasimpatico. Lungi da una visione riduttiva della malattia oncologica, che ha sicuramente origine multifattoriale, e visti anche i vani tentativi di coloro che in passato si sono cimentati nel chiarirne l'eziologia (virale, immunitaria, genetica, tossica, alimentare, ambientale ecc.), il dato certo è che in carenza di ossigeno il metabolismo della cellula neoplastica viene modificato in fermentazione, via metabolica normalmente poco utilizzata dalle cellule dei mammiferi, uomo compreso. Cosa pensate che faccia una cellula che riceve cronicamente troppo poco ossigeno, prima di andare incontro a morte? La cellula "ricorda" che, prima dello sviluppo della respirazione, viveva proprio grazie alla fermentazione; questo è un concetto importante per comprendere la degenerazione neoplastica, infatti, in caso di carenza di ossigeno,

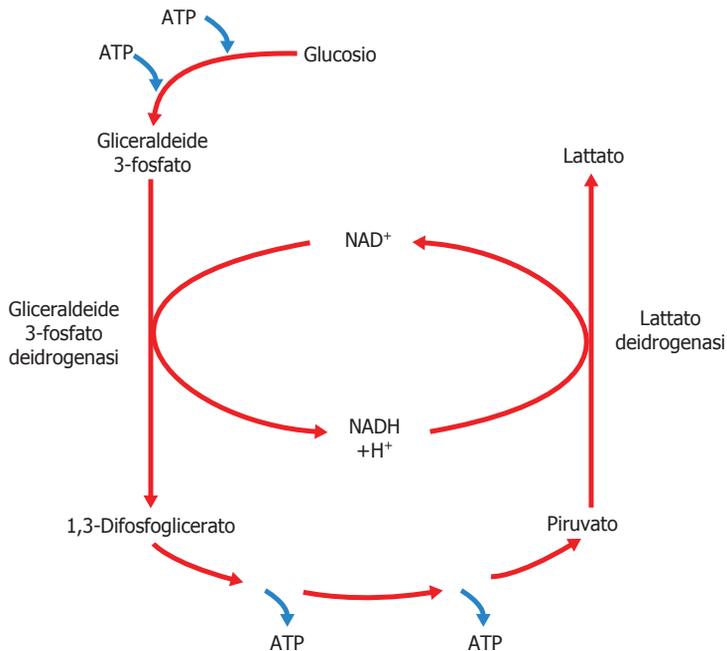


**Figura 6.1.3** – Metabolismo energetico dei tessuti tumorali (a sinistra) e di quelli normali (a destra). (Modificata da: Vander et al., 2009)

il metabolismo della cellula viene modificato in fermentazione. Si ritorna quindi a Warburg che nel 1921 dimostrava che le cellule tumorali esibivano una inusuale richiesta di glucosio con concomitante alta produzione di acido lattico, pur in presenza di ossigeno. Questa condizione è nota come *glicolisi aerobica o effetto Warburg*.

Infatti, una delle principali particolarità della maggior parte dei tessuti tumorali è il loro metabolismo energetico legato al glucosio: le cellule cancerose utilizzano preferenzialmente la glicolisi aerobica per la produzione di energia, anche in presenza di ossigeno (Michelakis et al., 2008). Le cellule non cancerose invece metabolizzano il prodotto finale della via glicolitica, il piruvato, nei mitocondri, attraverso il ciclo di Krebs e la fosforilazione ossidativa, pathway metabolico particolarmente vantaggioso dal punto di vista energetico poiché porta alla produzione di 36 molecole di ATP per molecola di glucosio metabolizzata (figura 6.1.3, a destra). Le cellule tumorali, al contrario, inibiscono la completa ossidazione mitocondriale del piruvato, il quale viene preferenzialmente convertito in lattato (figura 6.1.3, a sinistra) dalla lattatodeidrogenasi (LDH).

L'enzima LDH è di fondamentale importanza per le cellule tumorali poiché consente di ripristinare il livello citosolico di  $\text{NAD}^+$ , necessario in quanto cofattore dell'enzima gliceraldeide-3-fosfato-deidrogenasi (GAPDH),  $\text{NAD}^+$ -dipendente; pertanto i due enzimi svolgono un ruolo chiave nel far sì che la glicolisi proceda (figura 6.1.4).



**Figura 6.1.4** – Cooperazione tra LDH e GAPDH. (Modificata da: Lehninger, 2005)

Il profilo glicolitico tipico delle cellule cancerose porta a una bassa produzione di ATP per ogni molecola di glucosio metabolizzata, perciò le cellule tumorali tendono a up-regolare i trasportatori del glucosio, appartenenti alla famiglia GLUT, in modo da aumentare significativamente l'assorbimento dell'eso nel tentativo di raggiungere un'adeguata resa energetica (Vander et al., 2009).

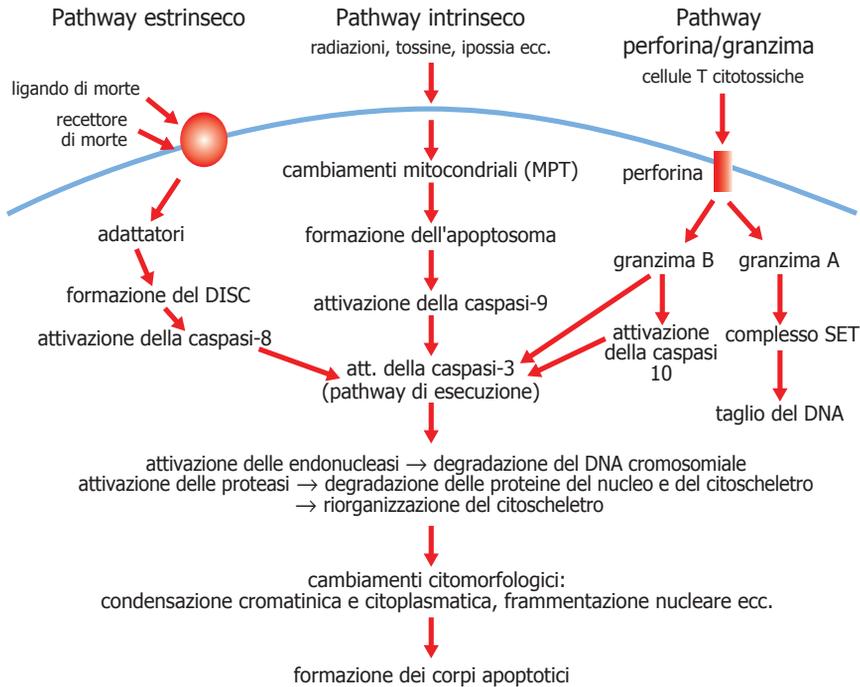
La glicolisi aerobica venne osservata per la prima volta nel 1924 dal premio Nobel Otto Heinrich Warburg, da cui "effetto Warburg" (Warburg et al., 1924), il quale suggerì come tale fenomeno fosse il risultato di una disfunzione mitocondriale che impedisce l'ingresso e quindi l'ossidazione completa del piruvato nei mitocondri.

Ma perché le cellule tumorali, altamente proliferanti e richiedenti energia, dipendono dalla glicolisi aerobica piuttosto che dall'ossidazione del glucosio, energeticamente più vantaggiosa? Lo studio di Gatenby e Gillies offre una spiegazione: gli studiosi affermano che all'inizio della carcinogenesi le cellule trasformate si affidano alla sola glicolisi anaerobica per la produzione di ATP poiché si trovano in un microambiente ipossico. In queste condizioni viene attivato il fattore ipossico HIF-1 che promuove a sua volta l'espressione di diversi trasportatori del glucosio e di enzimi, quali la piruvatodeidrogenasi chinasi (PDK). La PDK è un enzima regolatore che, quando attivo, è in grado di inibire il complesso multienzimatico della piruvatodeidrogenasi (PDH), responsabile della conversione del piruvato in acetil-CoA, limitando così l'ingresso del piruvato nel ciclo dell'acido citrico e quindi la sua ossidazione a livello mitocondriale (Ramsay et al., 2011). Sebbene i tumori, con il tempo, diventino vascolarizzati grazie al processo di neoangiogenesi promosso anche da HIF e non risultino più in uno stato ipossico (se non a volte nella porzione più centrale), il profilo glicolitico persiste. Da ciò Gatenby e Gillies hanno concluso che la glicolisi anaerobica, meccanismo precoce e adattivo delle cellule cancerose contro l'ipossia, conferisca un vantaggio per la sopravvivenza delle cellule tumorali che mantengono tale profilo metabolico anche in presenza di ossigeno (Gatenby e Gillies, 2004).

Di fatto, recenti evidenze suggeriscono che la trasformazione verso un fenotipo glicolitico offra resistenza al processo di morte cellulare programmata (apoptosi): molti degli enzimi coinvolti nella glicolisi sono infatti anche importanti regolatori dell'apoptosi, tra cui l'esochinasi (HK). L'attivazione di HK porta alla soppressione della morte per apoptosi: HK attivata promuove la sopravvivenza cellulare in quanto, traslocando dal citoplasma alla membrana mitocondriale, si lega ai canali anionici voltaggio-dipendenti (VDAC) presenti nella membrana mitocondriale esterna e impedisce l'attivazione di numerose molecole pro-apoptotiche. Non sorprende dunque che l'HK risulti up-regolata in molti tumori (Kim e Dang, 2005).

### **Mitocondri e apoptosi**

L'alterazione della funzione mitocondriale che caratterizza il profilo metabolico glicolitico delle cellule tumorali potrebbe essere determinante nell'indurre in esse resistenza all'apoptosi (Warburg et al., 1924). L'apoptosi è implicata sia nel corretto mantenimento dell'omeostasi che in meccanismi difensivi; si tratta di un processo lento, dispendioso in termini energetici e ben distinto dalla necrosi (Elmore, 2007). La messa in atto del processo apoptotico è in stretta relazione a svariati fattori, tra i quali la natura del segnale di morte, l'intensità e la durata dello stimolo, la disponibilità di ATP e di caspasi, ecc. La morte per apoptosi avviene in genere in singole cellule o in piccoli aggregati cellulari



**Figura 6.1.5** – Rappresentazione schematica dei tre possibili pathways apoptotici (Modificata da: Elmore, 2007)

e le più importanti caratteristiche morfologiche sono: (a) riduzione delle dimensioni della cellula, (b) membrana cellulare intatta, (c) condensazione citoplasmatica e organuli intatti, (d) formazione di estroflessioni sulla superficie cellulare, (e) carioressi (frammentazione nucleare), (f) gemmazione di corpi apoptotici, (g) fagocitosi dei resti cellulari (da macrofagi o cellule adiacenti) e assenza di infiammazione.

I meccanismi alla base dell'apoptosi sono molto complessi e coinvolgono una cascata di segnali molecolari ATP-dipendenti. Due sono le principali vie apoptotiche:

- via estrinseca (o pathway di morte recettoriale);
- via intrinseca (o mitocondriale).

Vi è inoltre un terzo pathway che coinvolge il rilascio di perforina e granzima (B o A) da parte dei linfociti T citotossici (figura 6.1.5).

Le vie estrinseca e intrinseca e il pathway granzima B convergono nella medesima via esecutiva, mediata dal taglio della caspasi-3. Tale enzima, una volta attivato, determina la frammentazione del DNA, la distruzione di proteine citoscheletriche e nucleari, il cross-linking delle proteine, la formazione di corpi apoptotici e l'espressione di ligandi per i recettori delle cellule fagocitarie, cui segue la fagocitosi mediata dai macrofagi o dalle cellule adiacenti. Il pathway perforina/granzima A attiva invece un percorso di morte cellulare parallelo, caspasi-indipendente, tramite rottura a singolo filamento del DNA (Elmore, 2007).

Come mostrato in *figura 6.1.5*, ogni pathway, a eccezione di quello che coinvolge il granzyme A, attiva la propria caspasi iniziatrice (-8, -9, -10), la quale a sua volta porta al clivaggio di un effettore comune: la caspasi-3. Le caspasi sono cisteinproteasi che tagliano il proprio substrato dopo residui di acido aspartico e sono generalmente espresse in forma inattiva a livello citoplasmatico, come pro-caspasi, rappresentando dei veri e propri effettori di apoptosi. Una volta attivate, le caspasi sono in grado di avviare una cascata proteolitica che porta all'attivazione di ulteriori pro-caspasi, amplificando il pathway apoptotico. A oggi, sono state identificate dieci caspasi principali, classificate in iniziatrici (caspasi-2, -8, -9, -10), effettrici (caspasi-3, -6, -7) e infiammatorie (caspasi-1, -4, -5) (Van Cruchten e Van Den Broeck, 2002). Uno dei più importanti bersagli della caspasi-3 è ICAD, inibitore di CAD (DNasi attivata da caspasi). CAD è una endonucleasi,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ -dipendente, che, una volta attivata, innesca la rottura del DNA con conseguente formazione dei tipici frammenti di 180-200 bp; quest'ultimo evento è un processo tardivo che contraddistingue l'apoptosi noto come "DNA ladder" ed è rilevabile mediante analisi elettroforetica (Elmore, 2007). Un'altra caratteristica biochimica che contraddistingue la cellula apoptotica è l'espressione sulla superficie cellulare di markers che determinano il riconoscimento delle cellule apoptotiche da parte dei macrofagi o delle cellule adiacenti (es. fosfatidilserina), permettendo la successiva fagocitosi (Bratton et al., 1997).

La via intrinseca, su cui sarà focalizzata l'attenzione nel seguito di questo capitolo, è altrimenti detta via mitocondriale e implica una corretta funzionalità di tali organelli, la cui disfunzione promuove la resistenza all'apoptosi, tipica delle cellule tumorali.

Il pathway intrinseco è di norma promosso da una vasta gamma di stimoli che producono segnali intracellulari e causano cambiamenti nella membrana mitocondriale interna. Tali cambiamenti si traducono nell'apertura del poro di transizione della permeabilità mitocondriale (MPT), nella perdita del potenziale di membrana del mitocondrio e nel rilascio, nel citosol, di proteine pro-apoptotiche, di norma sequestrate nello spazio intermembrana mitocondriale (Saelens et al., 2004), tra cui il citocromo C. Quest'ultimo, una volta liberato nel citosol, forma un complesso con Apaf-1 (*Apoptotic protease activating factor*) e con la pro-caspasi-9. Questo provoca un cambiamento conformazionale che permette l'assemblaggio con altre proteine andando a formare un complesso eptamerico chiamato apoptosoma. A questo fa seguito l'attivazione della caspasi-9 che, a sua volta, promuove l'attivazione di caspasi effettrici, come la -3, la -6 e la -7, innescando un fenomeno di amplificazione che conduce la cellula al suo inevitabile destino di morte (Elmore, 2007).

Il controllo e la regolazione di questi eventi apoptotici mediati dai mitocondri avvengono attraverso i membri della famiglia di proteine Bcl-2 (Cory e Adams, 2002) per la cui regolazione la proteina oncosoppressore p53 si ritiene svolga un ruolo critico.

Le proteine appartenenti alla famiglia Bcl-2 si dividono in pro-apoptotiche e anti-apoptotiche e tutte regolano la permeabilità della membrana mitocondriale. Tra le proteine anti-apoptotiche vi sono Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w, BAG, mentre tra i membri pro-apoptotici vi sono Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik e Blk. Il probabile principale meccanismo d'azione delle proteine della famiglia Bcl-2 si ritiene sia la regolazione del rilascio del citocromo C dai mitocondri mediante l'alterazione della permeabilità della membrana mitocondriale (Elmore, 2007).

Processi patologici, tra cui il cancro, possono scaturire da anomalie nella regolazione dell'apoptosi; pertanto si ritiene che la sua soppressione giochi un ruolo centrale nello sviluppo e nella progressione di alcuni tipi di cancro (Kerr et al., 1994).

Sono svariati i meccanismi molecolari che le cellule tumorali usano per sottrarsi all'apoptosi, ad esempio mediante up-regolazione di proteine anti-apoptotiche come Bcl-2, down-regolazione (o mutazione) di proteine pro-apoptotiche come Bax (Elmore, 2007) o mediante alterazione della funzione mitocondriale che caratterizza le cellule cancerose. In queste ultime si verifica la soppressione dell'ingresso del piruvato nei mitocondri e quindi il blocco della produzione di acetil-CoA; ciò riduce drasticamente sia il ciclo di Krebs che la catena di trasporto degli elettroni ETC, e quindi anche l'apertura dell'MTP, la depolarizzazione di membrana mitocondriale e l'apoptosi (Michelakis et al., 2008).

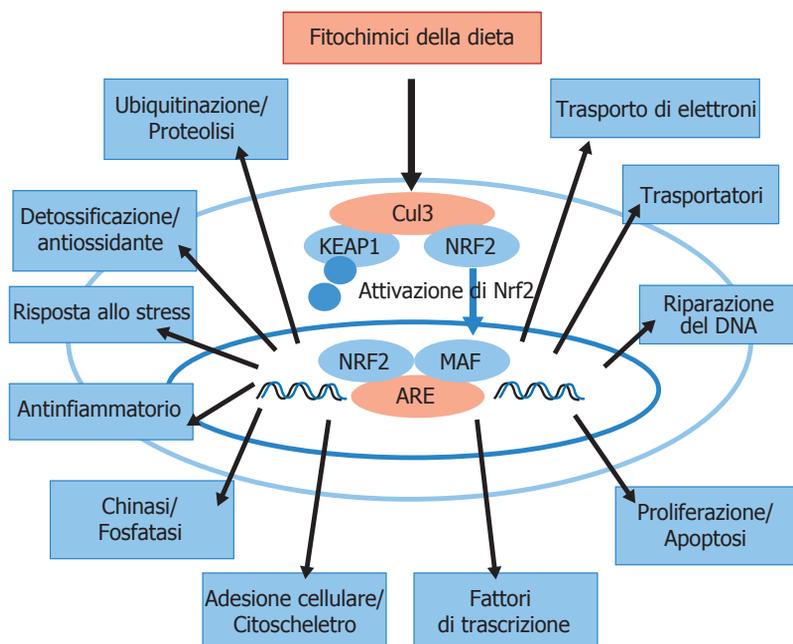
### Terapia biochimica: dal DCA ai modulatori fisiologici

Gli interventi terapeutici anticancro, come già accennato, trovano grandi ostacoli per il fatto che il tumore è di origine multifattoriale e risente enormemente degli stili di vita; inoltre lo stesso processo *multistep* può essere attivato da vari carcinogeni ambientali e da promotori tumorali. Questi carcinogeni possono modulare:

- fattori di trascrizione: NK-kB, AP-1, STAT-3;
- proteine anti-apoptotiche: Akt, Bcl-2, Bcl-XL;
- proteine pro-apoptotiche: caspasi, PARP;
- protein-chinasi: IKK, EGFR, HER2, JNK, MAPK;
- proteine del ciclo cellulare: cicline, chinasi cicline-dipendenti;
- molecole di adesione;
- COX-2;
- fattori di crescita.

È indubbio che conoscere il metabolismo della cellula tumorale e poter interagire a livello metabolico semplificherebbe molto l'intervento terapeutico. Oggi l'evidenza di un "fenotipo tumorale" e la scoperta relativamente recente di una molecola come il dicloroacetato (DCA), utilizzata da oltre 25 anni nel trattamento di malattie mitocondriali infantili e attualmente dimostratasi efficace in campo oncologico poiché in grado di inibire la famiglia della piruvatodeidrogenasi chinasi (PDK 1-4), hanno indotto importanti sviluppi e ampliato il campo terapeutico non solo alle terapie biologiche, a oggi adoperate, ma anche a quelle biochimiche. Si è cominciato a parlare del DCA nel 2007 quando Bonnett et al. (2007), con studi preclinici e clinici, hanno scoperto la sua valenza terapeutica *in vitro*. Successivamente Michelakis et al. (2008) e Papandreou et al. (2011) hanno portato nuove evidenze su questa piccola ma importante molecola antitumorale. Da allora a oggi non sono emerse ulteriori evidenze ma verosimilmente ciò non è dovuto alla mancanza di efficacia ma a motivi che spesso stanno al di fuori dei canoni scientifici!

Altro settore di attuale interesse è quello dei composti fitochimici della dieta come possibili agenti preventivi del cancro o di supporto alle terapie convenzionali come già messo in evidenza nel 2006 da Aggarwal (Aggarwal e Shishodia, 2006), che ha da tempo svolto attività di ricerca in questo settore. I fitochimici possono svolgere questo ruolo secondo diverse modalità:

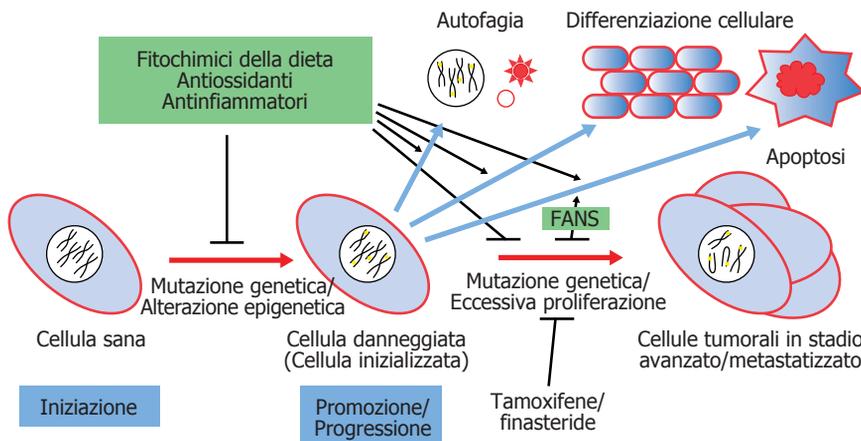


**Figura 6.1.6** – Inibizione della carcinogenesi attraverso l'induzione di enzimi ad azione detossificante e antiossidante mediante Nrf2-Keap1. (Modificata da: Lee et al., 2013)

- bloccando l'iniziazione della carcinogenesi attraverso l'induzione di enzimi detossificanti/antiossidanti via Nrf2-Keap1 (figura 6.1.6);
- inibendo la progressione della carcinogenesi per attivazione della via apoptotica;
- rimuovendo le anomale alterazioni epigenetiche come meccanismo anticancro;
- rimuovendo l'autorinnovamento potenziale delle cellule staminali neoplastiche.

Tenuto conto che la diagnosi precoce del cancro è sempre molto complessa per il fatto che spesso la malattia è asintomatica, queste strategie di tipo dietetico sono comunque importanti sia per il fatto che i composti fitochimici vengono consumati quotidianamente e possono svolgere un ruolo chiave nella chemoprevenzione, sia per la loro possibile azione di supporto a farmaci quali gli antinfiammatori non steroidei (NSAIDs), le statine, tamoxifene e finasteride (Lee et al., 2013) come evidenziato in figura 6.1.7.

Nella prevenzione oncologica sono state suggerite anche diete a basso contenuto di carboidrati (Ho et al., 2011) e diete multivitaminiche (Gaziano et al., 2012) nell'ipotesi che carenze di fattori vitaminici possano essere co-responsabili di rischio mutageno. Tuttavia, oggi vi è la tendenza a pensare che la correzione di un alterato metabolismo energetico nel cancro sia forse l'unica opportunità di un logico intervento terapeutico (Zhang e Yang, 2013). In tal senso si inserisce tutta la logica della riprogrammazione e rimodulazione cellulare e in questo contesto un ruolo chiave è svolto da Cellfood®, come messo in evidenza dai risultati delle ricerche esposti nelle pagine seguenti.



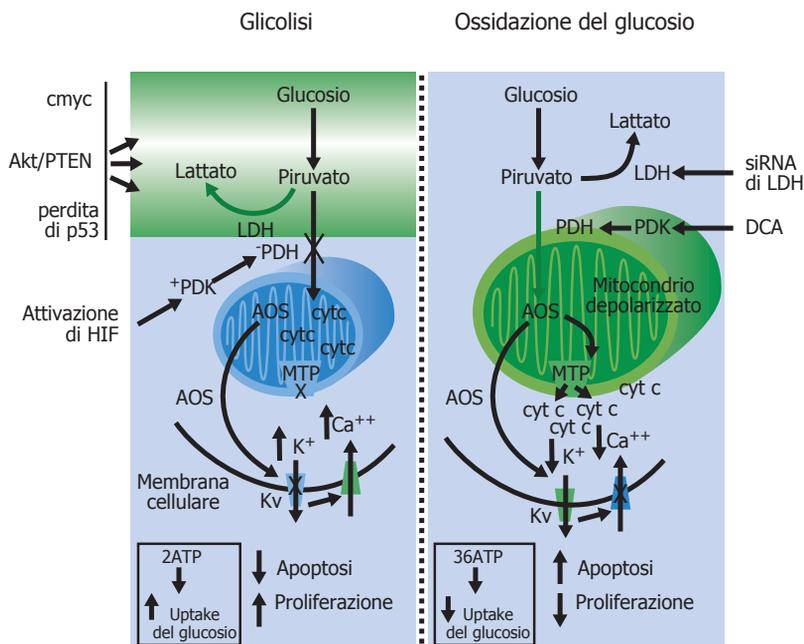
**Figura 6.1.7** – Ruolo chiave svolto dai composti fitochimici nella chemoprevenzione e come supporto a numerosi farmaci. (Modificata da: Lee et al., 2013)

Negli ultimi anni il tradizionale approccio terapeutico alle patologie che possono derivare da squilibri redox e dai conseguenti danni a diversi target molecolari (DNA, proteine e lipidi) si sta aprendo sempre di più al contributo degli integratori antiossidanti. Tra questi vi è l'integratore naturale Cellfood<sup>®</sup>, noto anche come Deutrosulphazyme, che trova applicazione in patologie che vanno dall'invecchiamento cellulare all'insorgenza di disordini cronico-degenerativi, quali aterosclerosi, neurodegenerazione e neoplasie.

Cellfood<sup>®</sup> è una formula altamente concentrata contenente 78 elementi e minerali in forma ionica e colloidale presenti in tracce, combinati con 34 enzimi e 17 aminoacidi, il tutto sospeso in una soluzione di solfato di deuterio. La miscela è ricavata da alghe rosse che vivono in ecosistemi marini incontaminati, i cui elementi vengono estratti criogenicamente e non chimicamente. I minerali contenuti in Cellfood<sup>®</sup> coprono quasi l'intera tavola periodica e comprendono quelli dotati di potenziale azione antiossidante. Gli aminoacidi presenti nella formulazione di Deutrosulphazyme<sup>®</sup> soddisfano quasi interamente la gamma di quelli essenziali per l'adulto e per lo sviluppo del bambino e sono preziosi precursori sia di proteine ad azione strutturale o funzionale che di antiossidanti. Gli enzimi costituiscono un elemento peculiare della formulazione di Deutrosulphazyme<sup>®</sup>: essi catalizzano numerose reazioni e quelli dotati di azione antiossidante contribuiscono a difendere l'organismo dall'attacco delle specie radicaliche dell'ossigeno (ROS).

Come già descritto, le cellule cancerose catabolizzano i nutrienti in un modo differente rispetto alle normali cellule differenziate: le cellule sane traggono energia dal processo di fosforilazione ossidativa mitocondriale attraverso il ciclo di Krebs, mentre le cellule tumorali prediligono la via glicolitica (figura 6.1.8, a sinistra).

Molti farmaci antineoplastici (Wong et al., 2008) e numerosi estratti di origine naturale (Comin-Anduix et al., 2002; Eom et al., 2010) agiscono con diverse modalità per ripristinare la via energetica mitocondriale. In questo contesto Cellfood<sup>®</sup> si pone tra le miscele naturali potenzialmente in grado di determinare lo shift metabolico *in vitro*,



**Figura 6.1.8**– Fenotipo glicolitico, tipico della maggior parte dei tumori solidi, associato a uno stato anti-apoptotico e pro-proliferativo (*a sinistra*); ossidazione del glucosio, tipica della cellula normale, associata a stato apoptotico e antiproliferativo (*a destra*). (Modificata da: Michelakis et al., 2008)

ripristinando la normale attività mitocondriale e rendendo le cellule tumorali di nuovo suscettibili all'apoptosi (*figura 6.1.8, a destra*).

Come descritto ampiamente nei risultati della ricerca, le prove sperimentali condotte su linee tumorali in coltura hanno infatti dimostrato che Cellfood® è in grado di ridurre la proliferazione cellulare attraverso un meccanismo apoptotico, documentato da un'aumentata attività della proteina pro-apoptotica caspasi-3 e dalla frammentazione del DNA, tipica della fase tardiva dell'apoptosi. Con tutta probabilità il pathway apoptotico coinvolto è quello mitocondriale. L'induzione dell'apoptosi da parte di Cellfood® è verosimilmente legata alla perturbazione del metabolismo energetico della cellula tumorale; infatti nelle linee tumorali trattate con Cellfood® è stata osservata una riduzione dell'attività dell'enzima LDH e della quantità di lattato rilasciato nell'ambiente extracellulare rispetto alle cellule non trattate (Catalani et al., 2013). Inoltre Cellfood® si è dimostrato in grado di inibire il fattore ipossico HIF-1, che svolge un ruolo chiave nella regolazione del fenotipo glicolitico, e di ridurre l'espressione del trasportatore di membrana GLUT-1, dimostrando un chiaro ruolo nell'indurre modificazioni a livello metabolico nelle cellule tumorali trattate (Catalani et al., 2013).

## Conclusioni e prospettive future

L'apoptosi è un processo legato alla produzione di energia mitocondriale; è dunque possibile ipotizzare che Cellfood® favorisca la riattivazione della via ossidativa mitocon-

driale, rendendo in questo modo la cellula tumorale suscettibile all'apoptosi. Poiché molti farmaci antitumorali agiscono con diverse modalità per ripristinare la via energetica mitocondriale e indurre apoptosi, nella pratica clinica Cellfood® potrebbe costituire un valido supporto al trattamento antineoplastico e/o come chemopreventivo.

L'obiettivo futuro è quello di approfondire quali siano i meccanismi molecolari operati da Cellfood® focalizzando l'indagine anche a livello mitocondriale.

Inoltre, in collaborazione con l'Istituto Nazionale Tumori Regina Elena di Roma, tra gli obiettivi successivi vi è quello di testare l'efficacia di Cellfood® in associazione con le terapie antineoplastiche comunemente usate nella pratica clinica e confermare quindi *in vivo* le evidenze ottenute *in vitro*.

## 6.2 La ricerca in oncologia

*Serafina Battistelli, Serena Benedetti, Franco Canestrari, Simona Catalani, Rossella Galati, Barbara Nuvoli, Francesco Palma*

### Attività antiproliferativa di Cellfood® in cellule tumorali in coltura

Circa il 60-90% dei tumori è caratterizzato da un profilo metabolico dipendente dalla glicolisi come principale fonte di energia, a prescindere dai livelli di ossigeno (effetto Warburg). Come conseguenza, le cellule tumorali up-regolano, tramite il fattore ipossico HIF-1, il trasportatore del glucosio GLUT-1, e convertono il piruvato (prodotto finale della glicolisi) in lattato a opera dell'enzima lattatodeidrogenasi (LDH), anziché ossidarlo nei mitocondri (Hsu e Sabatini., 2008).

Lo spostamento del metabolismo energetico dai mitocondri (in cui si ha la fosforilazione ossidativa) al citoplasma (in cui avviene la glicolisi) rende la cellula resistente all'apoptosi, una forma di morte cellulare programmata dipendente dalla produzione di energia mitocondriale (Elmore, 2007). Come conseguenza, il fenotipo glicolitico è associato a blocco dell'apoptosi e aumento della proliferazione della cellula tumorale (DeBerardinis et al., 2008).

La modulazione del metabolismo tumorale e dei meccanismi apoptotici da parte dei composti nutraceutici rappresenta quindi una nuova opportunità nella prevenzione e nel trattamento dei tumori (Shanmugam et al., 2011). In questo contesto, recenti studi *in vitro* hanno dimostrato che l'integratore naturale Cellfood®, già caratterizzato per le sue proprietà antiossidanti (Benedetti et al., 2011) e per favorire il metabolismo respiratorio mitocondriale e la produzione di ATP (Ferrero et al., 2011), presenta anche un'efficace azione antiproliferativa in cellule leucemiche in coltura, sia promuovendo un'alterazione del metabolismo della cellula tumorale sia inducendo morte cellulare per apoptosi (Catalani et al., 2013).

Nello studio è stato infatti dimostrato che nelle linee cellulari leucemiche denominate Jurkat (leucemia linfoblastica acuta), U937 (leucemia mieloide acuta) e K562 (leucemia mieloide cronica), la somministrazione di Cellfood® alla concentrazione di 5 µl/ml (corrispondente a un dosaggio di 24 gocce in un bicchiere d'acqua) induce una significativa riduzione della proliferazione cellulare fino a 72 ore di incubazione (*figura 6.2.1*), mentre la crescita di linfociti sani non risulta essere influenzata dal trattamento, indicando che l'azione di Cellfood® è specifica per la cellula tumorale.

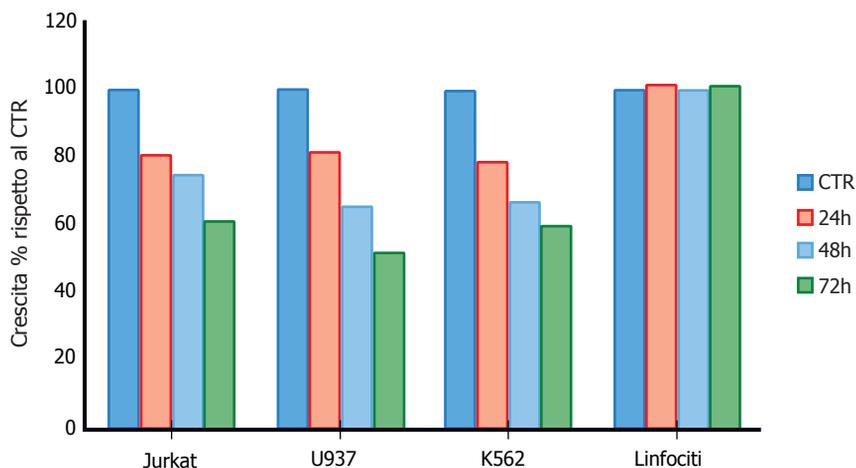
#### NOTA AUTRICE

Riguardo il capitolo 6, gli autori del 6.2 sarebbe preferibile metterli nel seguente ordine:

Serena Benedetti, Simona Catalani, Francesco Palma, Serafina Battistelli, Franco Canestrari, Barbara Nuvoli, Rossella Galati.

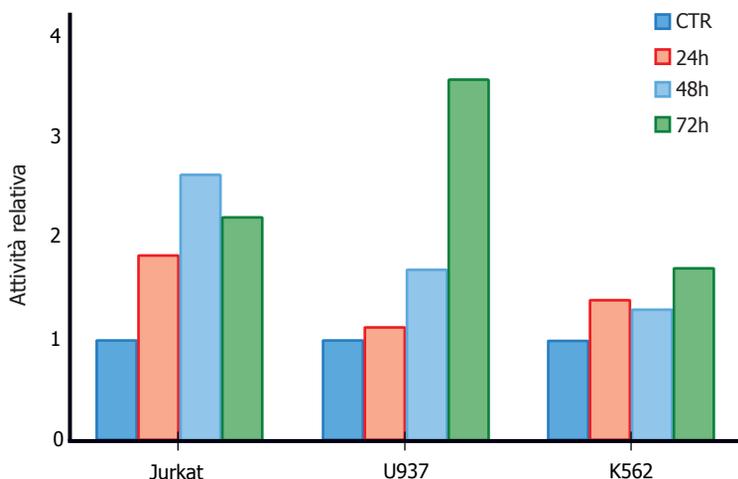
Tuttavia se avete predisposto l'ordine alfabetico degli autori anche per gli altri capitoli lasciate pure così.

Saluti,  
Serena Benedetti

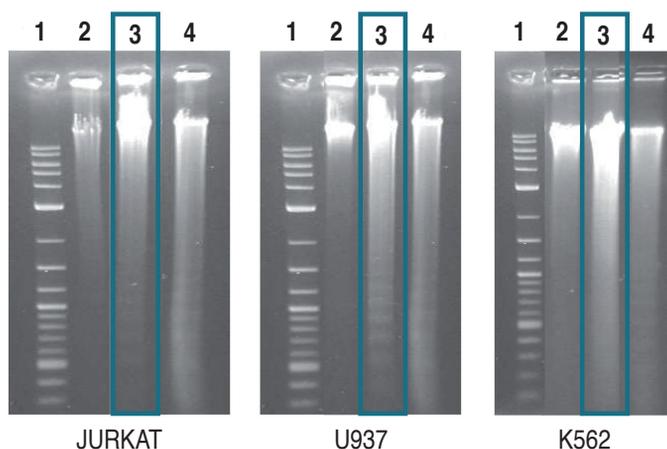


**Figura 6.2.1** – Riduzione della proliferazione cellulare dopo 24, 48 e 72 ore di trattamento con Cellfood® (5 µl/ml) rispetto al controllo non trattato (CTR; crescita pari al 100%). Valutazione mediante conta delle cellule al microscopio ottico con il colorante trypan blue. (Modificata da: Catalani et al., 2013)

Al fine di comprendere se la riduzione della crescita cellulare fosse dovuta a morte cellulare per apoptosi, nello studio sono stati investigati due marcatori classici del processo apoptotico. Da una parte l'attivazione della caspasi-3, un enzima considerato il più importante effettore dell'apoptosi (Elmore, 2007); dall'altra, la frammentazione del DNA nucleare (o DNA laddering), la quale è una caratteristica comune delle cellule in fase avanzata di apoptosi (Elmore, 2007). A questo proposito, è stato evidenziato che il trattamento con Cellfood® promuove sia l'attivazione della caspasi-3 (figura 6.2.2) che



**Figura 6.2.2** – Incremento dell'attività della caspasi-3 in cellule leucemiche dopo 24, 48 e 72 ore di trattamento con Cellfood® (5 µl/ml) rispetto al controllo non trattato (CTR; attività pari a 1). Valutazione mediante kit colorimetrico a 405 nm. (Modificata da: Catalani et al., 2013)

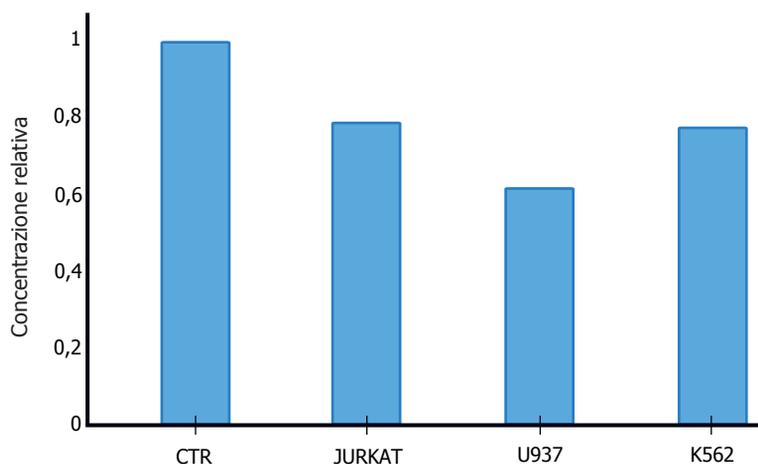


**Figura 6.2.3** – Frammentazione del DNA nucleare (laddering) in cellule leucemiche dopo 72 h di incubazione con Cellfood® (5 µl/ml). 1: marcatore di DNA (1 kb); 2: controllo negativo (cellule non trattate); 3: cellule trattate con Cellfood®; 4: controllo positivo (etoposide). Analisi qualitativa mediante elettroforesi su gel di agaroso. (Modificata da: Catalani et al., 2013)

la frammentazione del DNA (*figura 6.2.3*) in tutte e tre le linee leucemiche investigate. Nel loro complesso, questi risultati indicano che Cellfood® promuove l'inibizione della crescita della cellula tumorale attraverso l'induzione di apoptosi.

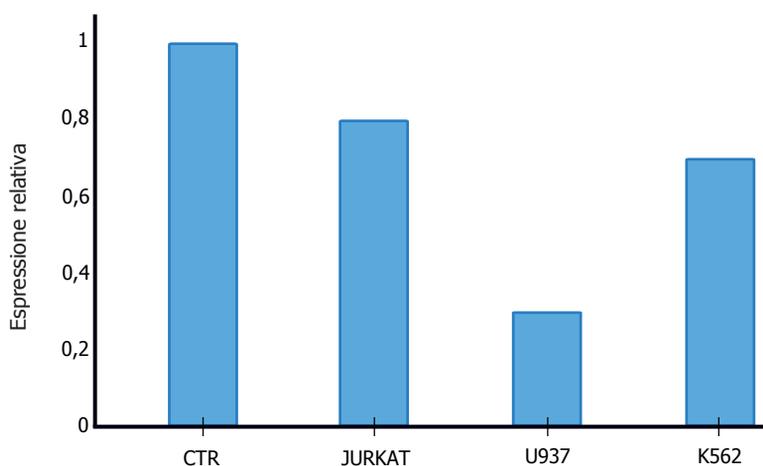
Ulteriori esperimenti hanno dimostrato che l'induzione di apoptosi da parte di Cellfood® è legata alla regolazione del fattore ipossico HIF-1 $\alpha$ . Questo fattore di trascrizione, inibendo la conversione del piruvato in acetil-CoA all'interno del mitocondrio, causa una diminuzione della fosforilazione ossidativa mitocondriale e, di conseguenza, un'aumentata resistenza delle cellule tumorali all'apoptosi (Zheng, 2012). Nelle prove in vitro, la somministrazione di Cellfood® alle cellule leucemiche porta a una riduzione significativa della concentrazione di HIF-1 $\alpha$  rispetto alle cellule di controllo non trattate (*figura 6.2.4*). È ipotizzabile che tale riduzione sia a sua volta responsabile di cambiamenti metabolici all'interno della cellula tumorale (spostamento del metabolismo dalla glicolisi alla fosforilazione ossidativa) che rendono la cellula suscettibile all'apoptosi (dipendente dalla produzione di ATP mitocondriale) (Elmore, 2007). In questo contesto, ulteriori studi devono essere condotti per confermare l'attivazione del metabolismo ossidativo mitocondriale nelle cellule tumorali dopo trattamento con Cellfood®; tuttavia, a sostegno di questa ipotesi, vi sono le precedenti osservazioni in vitro indicanti che la somministrazione di Cellfood® a cellule endoteliali sane (HUVEC) permette un ottimale consumo di ossigeno migliorando il metabolismo respiratorio e l'attività mitocondriale (Ferrero et al., 2011).

All'interno della cellula tumorale, l'attivazione del fattore ipossico HIF-1 $\alpha$  conduce a un aumento dell'espressione del recettore di membrana per il glucosio GLUT-1, così da incrementare l'uptake di glucosio per la produzione di ATP con la glicolisi (Denko, 2008). GLUT-1 è considerato uno dei target dei farmaci antineoplastici; infatti, l'acquisizione del fenotipo glicolitico correla con una maggiore aggressività e una prognosi sfavorevole



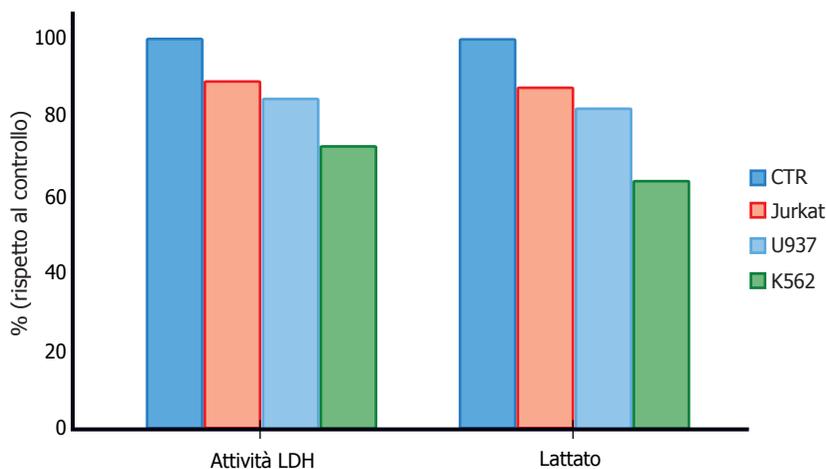
**Figura 6.2.4** – Riduzione della concentrazione di HIF-1 $\alpha$  dopo 72 h di trattamento con Cellfood<sup>®</sup> (5  $\mu$ l/ml) rispetto al controllo non trattato (CTR; concentrazione relativa pari a 1). Valutazione mediante kit immunoenzimatico a 450 nm. (Modificata da: Catalani et al., 2013)

in diversi tipi di tumore (Rastogi et al., 2007). In questo contesto, le prove in vitro su cellule tumorali in coltura hanno evidenziato che, come conseguenza del decremento della concentrazione intracellulare del fattore HIF-1 $\alpha$  da parte di Cellfood<sup>®</sup>, si ha anche una riduzione dell'espressione del recettore GLUT-1 nelle linee leucemiche incubate con Cellfood<sup>®</sup> rispetto alle cellule di controllo non trattate (*figura 6.2.5*).



**Figura 6.2.5** – Riduzione dell'espressione del recettore GLUT-1 dopo 72 h di trattamento con Cellfood<sup>®</sup> (5  $\mu$ l/ml) rispetto al controllo non trattato (CTR; espressione relativa pari a 1). Analisi mediante Western Blotting. (Modificata da: Catalani et al., 2013)

Oltre alla regolazione di GLUT-1, l'attivazione di HIF-1 $\alpha$  contribuisce anche alla conversione del glucosio in lattato attraverso la sovraespressione di molti enzimi glicolitici tra cui la LDH, l'enzima che catalizza la conversione del piruvato a lattato (Icard e Lincet, 2012). Considerata la forte dipendenza della proliferazione tumorale dall'attività della LDH, l'inibizione dell'enzima rappresenta un target per lo sviluppo di strategie terapeutiche per il trattamento del cancro mirate a inibire la glicolisi (Fantin et al., 2006). Le prove in vitro su Cellfood<sup>®</sup> hanno rivelato una significativa diminuzione dell'attività della LDH dopo 72 ore di incubazione con Cellfood<sup>®</sup> rispetto alle cellule di controllo non trattate (figura 6.2.6); inoltre, come conseguenza della ridotta attività dell'enzima, anche la quantità di lattato rilasciato nell'ambiente extracellulare risulta diminuita nelle cellule trattate con Cellfood<sup>®</sup>.



**Figura 6.2.6** – Riduzione dell'attività dell'enzima LDH e dei livelli di lattato extracellulare dopo 72 h di trattamento con Cellfood<sup>®</sup> (5  $\mu$ l/ml) rispetto al controllo non trattato (CTR). Valutazione mediante analisi spettrofotometrica a 340 nm. (Modificata da: Catalani et al., 2013)

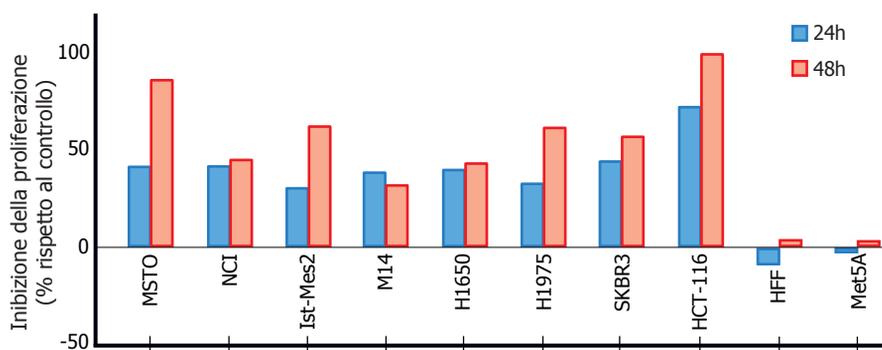
Nel loro insieme, le prove sperimentali hanno chiaramente evidenziato un significativo effetto antiproliferativo di Cellfood<sup>®</sup> in linee cellulari leucemiche inducendo morte cellulare attraverso un meccanismo apoptotico e alterando il metabolismo cellulare attraverso la regolazione di HIF-1 $\alpha$  e GLUT-1.

L'effetto antiproliferativo di Cellfood<sup>®</sup> è stato inoltre testato su un pannello di linee cellulari di tumori solidi e due linee di cellule non tumorali (tabella 6.2.1 a p. sg.) (Nuvoli et al., 2014).

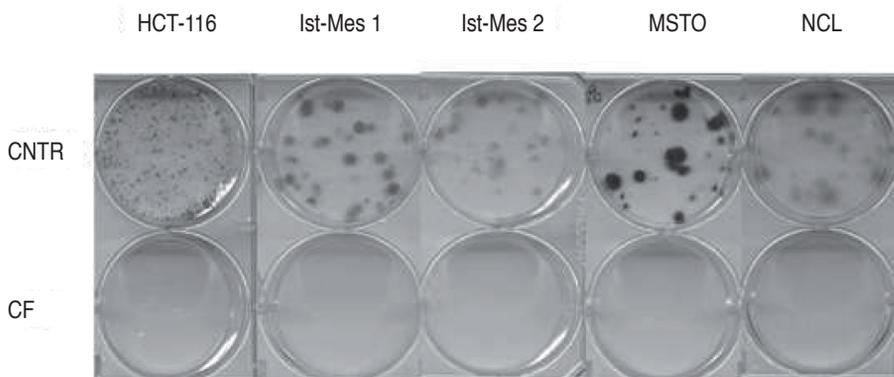
Utilizzando una concentrazione fissa di Cellfood<sup>®</sup> (5  $\mu$ l/ml), si è osservato un effetto antiproliferativo più o meno accentuato in tutte le linee tumorali dopo 24 e 48 ore di trattamento (figura 6.2.7); al contrario, nessun effetto di Cellfood<sup>®</sup> è stato evidenziato nelle due linee non tumorali di fibroblasti (HFF) e di mesotelio (Met5A), confermando che l'azione antiproliferativa di Cellfood<sup>®</sup> è specifica per la cellula tumorale. Anche la capacità delle cellule tumorali di formare colonie è ridotta in presenza di Cellfood<sup>®</sup> (figura 6.2.8). L'analisi del ciclo cellulare al citofluorimetro nelle linee tumorali MSTO-211 e HCT-116 confermano una morte cellulare per apoptosi (Nuvoli et al., 2014).

■ **TABELLA 6.2.1 – LINEE CELLULARI DA TUMORI SOLIDI E LINEE CELLULARI NON TUMORALI\*.**

EJ	Vescica	M14	Melanoma
HFF*	Fibroblasti	MCF-7	Mammella
HCT-116	Colon	ME1007	Melanoma
H1975	Polmone	Met5A*	Mesotelio
H1650	Polmone	MSTO-211	Mesotelioma
H1299	Polmone	NCI-2452	Mesotelioma
SKRB3	Mammella	SKRB3	Mammella
Ist-Mes2	Mesotelioma		



**Figura 6.2.7** – Inibizione della proliferazione in linee cellulari tumorali dopo 24 e 48h di trattamento con Cellfood® (5 µl/ml) rispetto al controllo non trattato. Valutazione mediante conta manuale del numero di cellule vive con il colorante trypan blue. (Modificato da: Nuvoli et al., 2014)



**Figura 6.2.8** – Inibizione della capacità di formare colonie in linee cellulari tumorali dopo trattamento con Cellfood® (5 µl/ml) (Cellfood®) rispetto al controllo non trattato (CNTR). Valutazione mediante test clonogenico.

**NOTA AUTORE**

Questa figura come tale non è stata mai pubblicata. La foto è stata fornita direttamente dalle Dott.sse Nuvoli e Galati che sono coautrici di questo capitolo.

In conclusione, grazie alle sue proprietà antiossidanti e pro-apoptotiche, Cellfood® può essere un utile strumento nella prevenzione del cancro e può apportare benefici clinici in associazione con le terapie antineoplastiche standard. In particolare, Cellfood® potrebbe essere un valido supporto clinico alla radioterapia visto che la modulazione dell'ipossia, del fattore HIF-1 e del metabolismo glicolitico tumorale permette di migliorare l'efficacia della terapia stessa e di aumentare la sensibilità del tumore all'irradiazione (Meijer et al., 2012).

### 6.3 Un nuovo test per valutare lo stress ossidativo

*Francesco Marotta*

Ogni respiro fornisce una "impronta biochimica" caratteristica composta da una combinazione unica di migliaia di molecole. L'aria espirata può essere considerata come un aerosol saturo di vapore acqueo, costituito da una frazione gassosa, in cui si rinvencono sostanze ad alta volatilità come i composti organici volatili e i gas stabili (ad esempio, monossido di carbonio, ossido nitrico, anidride carbonica), e da una frazione liquida che trasporta all'esterno sostanze idrosolubili o a bassa volatilità. Nella frazione gassosa dell'aria esalata sono reperibili composti inorganici come ossigeno, monossido di carbonio, ossido nitrico e prodotti organici volatili (idrocarburi, alcoli, chetoni, aldeidi, esteri). Queste sostanze volatili possono avere un'origine endogena, essere prodotte localmente nel parenchima polmonare e nelle vie respiratorie o derivare da processi metabolici ed essere esalate dopo diffusione dal sangue agli alveoli, oppure avere un'origine esogena ed essere eliminate tal quali o dopo trasformazione metabolica.

Negli ultimi anni, la misurazione delle aldeidi nel respiro ha aperto un'importante finestra sulla comprensione dello stress ossidativo. Questo in ragione del fatto che nella perossidazione lipidica i radicali liberi aggrediscono i maggiori costituenti dei fosfolipidi delle membrane cellulari, in particolar modo gli acidi grassi polinsaturi (PUFA), dando origine a reazioni a catena che portano alla formazione di lipidi perossidi, successivamente convertiti in alcani, dieni coniugati e composti carbonilici (aldeidi). A causa della presenza di doppi legami, sono proprio questi PUFA a mostrare elevate suscettibilità all'attacco dei radicali liberi e, data la preponderanza degli acidi grassi -3 e -6 a livello della membrana cellulare, i prodotti derivati in maggior quantità sono l'etano e il pentano. Poiché questi presentano una più rilevante solubilità e rapidità di escrezione nel respiro rispetto al sangue, il loro incremento è indice certo e monitorabile di danno ossidativo. Recenti studi confermano quindi come le aldeidi volatili (da C3 a C9 più le forme trans-2-esenale, eptenale e nonenale) costituiscano un valido pattern che può quindi essere utilizzato per valutare lo stress ossidativo, in quanto sono specie chimiche altamente reattive che derivano dalla perossidazione lipidica. Lo studio dell'aria esalata è quindi particolarmente indicato per il monitoraggio in quanto è semplice, facilmente ripetibile e non altera la struttura e lo stato funzionale delle vie aeree.

Con l'avvento di strumenti più sensibili, come lo spettrometro di massa e il gascromatografo, e combinando le due tecniche, sappiamo oggi che nel respiro sono presenti ben più di mille componenti sotto forma di gas molecolari, composti organici volatili e particelle aerosolizzate riunite nel "condensato dell'aria espirata", che contiene composti organici volatili e non volatili.

Queste categorie di composti organici costituiscono la base dei due elementi utilizzati per studiare i componenti nell'aria espirata: aria espirata e condensato dell'aria espirata. L'aria espirata è un metodo di raccolta non condensato che cattura le molecole allo stato di vapore, mentre il condensato dell'aria espirata è un fluido corporeo considerato di recente, che viene raccolto raffreddando il respiro e analizzando i componenti disciolti nella matrice acquosa.

Negli ultimi dieci anni sono avvenuti notevoli progressi tecnologici che hanno consentito lo sviluppo di nuovi dispositivi. Gli analizzatori disponibili in commercio sono in grado di misurare il livello di monossido di azoto (NO) nell'aria espirata fino all'unità parti per miliardo (ppb) e i livelli di monossido di carbonio fino all'unità parti per milione (ppm) (Gill et al., 2006). Gli spettrometri di massa e i gascromatografi sensibili sono in grado di quantificare i composti volatili presenti nel respiro fino all'unità parti per trilione (ppt). Questa tecnica può anche essere utilizzata per analizzare le goccioline aerosolizzate nell'aria espirata per numerosi tipi di marker e le possibilità continuano ad aumentare (Horvath et al., 2005).

### Gas permanenti espirati

Il monossido di azoto (NO), un radicale libero, è una molecola gassosa di segnalazione che svolge un ruolo importante nella regolazione delle normali vie aeree e dei vasi sanguigni. L'NO è prodotto dalla NO sintetasi nelle normali vie aeree. Una normale aria espirata contiene bassi livelli di NO in ppb. Tuttavia, i pazienti asmatici che hanno aumentato l'espressione della NO sintetasi inducibile nelle loro vie aeree (Hamid et al., 1993) dimostrano di avere un'elevata concentrazione di FeNO (Alving et al., 1993). I farmaci antinfiammatori come i corticosteroidi inalatori causano una ridotta espressione della NO sintetasi inducibile (Saleh et al., 1998) e una diminuzione dei livelli di FeNO. I livelli di monossido di azoto espirato sono correlati all'infiammazione delle vie aeree (Saleh et al., 1998; Berlyne et al., 2000).

### Condensato dell'aria espirata (composti non-VOC)

Il condensato dell'aria espirata (CAE) è un fluido che si ottiene raffreddando l'esalato a basse temperature. Quando l'aria espirata viene a contatto con una superficie più fredda, si determina il fenomeno fisico del cambio di fase, con formazione di una soluzione acquosa. Il CAE è una matrice costituita prevalentemente da acqua, ma contiene anche sostanze non volatili e poco volatili, espirate in forma di aerosol. Nel condensato dell'aria espirata sono stati riscontrati centinaia di composti che vanno dalle molecole più piccole, lo ione idrogeno ( $H^+$ ), alle grandi proteine come l'albumina. Molti dei composti rilevati riflettono vari componenti dell'omeostasi delle vie aeree e polmonare nonché di altre malattie, compresa l'acidificazione delle vie aeree, e forniscono informazioni utili per determinare la presenza di infiammazioni e di danni ossidativi. Sebbene l'uso dell'*exhaled breath condensate* sia una tecnica promettente nella determinazione delle infiammazioni delle vie aeree (Fabbri et al., 2003), è utile anche come matrice nell'analisi dei composti espirati prodotti in modo sistemico e può quindi fornire informazioni che vanno ben oltre il sistema dell'organo polmonare (Horvath et al., 2001; Effros et al., 2005).

## Composti organici volatili espirati (VOC)

L'espressione "composto organico volatile" si riferisce a un gruppo di sostanze chimiche che possono facilmente vaporizzare a temperatura ambiente. Il maggior numero di VOC si riscontra nelle sostanze chimiche usate nella produzione di molti beni e attrezzature casalinghe, e per questo motivo i VOC sono considerati una fonte di inquinamento dell'aria negli ambienti chiusi e l'analisi dell'aria espirata è stata utilizzata proprio per valutare l'esposizione a questi composti (Rieder et al., 2001).

Anche se le origini dell'analisi VOC risiedono nei test sull'esposizione ambientale, i componenti sono stati valutati anche come marker non-invasivi di malattie come iperlipidemia e cancro polmonare (Gordon et al., 1985).

## Ampliare l'uso della misurazione dei VOC: il dispositivo Revelar

Una delle applicazioni più interessanti dell'analisi dei VOC può essere riscontrata nello studio dello stress ossidativo. Il concetto di stress ossidativo è fondamentale per comprendere sia la fisiopatologia di alcune malattie, sia l'effetto di eventuali interventi terapeutici. La comprensione dello stress ossidativo inizia con il principio di base secondo cui ogni cellula del nostro corpo è circondata da una membrana formata da migliaia di molecole di acidi grassi, le quali possono essere attaccate dai radicali liberi a contenuto di ossigeno in eccesso, che alterandole porteranno a disfunzioni e al processo chiamato, appunto, stress ossidativo. Questo processo inizia con la scomposizione degli acidi grassi e finisce con il rilascio di una varietà di aldeidi. Molte diverse aldeidi volatili si formano durante l'ossidazione delle membrane lipidiche cellulari, vengono rilasciate nel flusso sanguigno e in parte vengono espirate dai polmoni. La misurazione delle aldeidi espirate fornisce una prova dello stress ossidativo in corso.

Molti disturbi e malattie sono note cause di stress ossidativo, quali malattie cardiache, cancro, malattie autoimmuni e neurodegenerative, alcune malattie infettive e la sindrome da stanchezza cronica. Studi recenti condotti con metodi analitici di laboratorio hanno mostrato che le quantità di aldeidi nell'aria espirata possono essere relazionate agli effetti dello stile di vita, come il fumo e la presenza di stati patologici, che coinvolgono un percorso di stress ossidativo (Nowak et al., 2001; Corradi et al., 2003a). Tali studi hanno inoltre dimostrato che i livelli di questi composti cambiano dopo un'appropriata terapia (Corradi et al., 2003b).

Tuttavia, questi metodi analitici richiedono attrezzature molto costose e un alto livello di competenza tecnica, rendendone così irrealizzabile un ampio uso. C'è quindi necessità di misurare le aldeidi nell'aria espirata in maniera semplice ed economica.

I metodi disponibili attualmente, attuabili anche clinicamente, includono l'analisi TBARS (Kelly et al., 1998), che misura una sola aldeide (MDA). Altri metodi possono quantificare le aldeidi insature, ma non misurano le aldeidi sature che sono ugualmente rilevanti.

L'Istituto di ricerca Revelar Health LLC ha sviluppato un sistema che misura le aldeidi insature e sature con un dispositivo clinicamente valido, che nel 2010 ha ricevuto un premio negli Stati Uniti come "strumento tecnologico innovativo". Il sistema Revelar è stato sviluppato come modo economico per misurare una gamma di aldeidi, consentendo di realizzare un quadro più completo dei processi di ossidazione degli acidi grassi che avvengono nel corpo. Le aldeidi sono composti volatili scarsamente solubili nel sangue e sono quindi escrete nell'aria espirata pochi minuti dopo la loro formazione nei

tessuti, e la maggior parte di queste sostanze è presente nell'esalato con concentrazioni dell'ordine di  $10^{-12}$  M (pM) e  $10^{-9}$  M (nM). Il sistema utilizza un reagente brevettato e un piccolo dispositivo portatile che misura in modo rapido, accurato, preciso ed economico un profilo rilevante di aldeidi all'interno dello stesso campione di aria.

La tecnologia Revelar si basa su una ben nota reazione chimica tra la base di Schiff e le aldeidi. Il test di Schiff è un test di reazione chimica per la rilevazione delle aldeidi tale che, quando un'aldeide viene aggiunta al reagente decolorato di Schiff, si sviluppa un caratteristico color magenta o porpora. Il reagente di Schiff è il prodotto, quindi, della reazione tra fucsina o pararosanilina (a cui manca un gruppo metilico) e il bisolfito di sodio.

L'entità del cambiamento di colore può essere correlata alla concentrazione delle aldeidi presenti, costituendo la base della tecnologia Revelar.

Oltre a misurare una vasta gamma di aldeidi, il sistema Revelar fornisce un metodo semplice ma efficace per permettere di riesaminare rapidamente il livello di stress ossidativo e le scelte di vita del paziente. La reazione colorimetrica è rapida e il lettore fornisce quasi immediatamente il punteggio. Revelar sta attualmente sviluppando i dati derivanti dai pazienti in Europa, Stati Uniti e Canada. Questi studi provengono dal lavoro pionieristico di un'autorità internazionale in ambito di breath test, il professor Terence H. Risby, che negli ultimi dieci anni ha prodotto molteplici lavori scientifici di rango di cui si citano i più recenti (Pleil et al., 2013a, 2013b); Risby e Pleil, 2013; Risby e Sehnert, 1999). Questa nuova e affidabile metodologia diventa quindi uno strumento indispensabile per il terapeuta, qualunque sia il suo campo professionale (medico, trainer nutrizionale-fitness, dietologo), il quale può valutare in tempo reale lo stato di ossidazione della bilancia redox, calibrare meglio il proprio intervento (farmacologico, nutrizionale o, meglio ancora, nutrizionale-fisico combinato come nel caso del personal fitness trainer) e poter avere oggettivo riscontro entro breve tempo dall'eventuale modifica terapeutica (medica, nutrizionale-fisica) apportata (Miller et al., 1998). Prima tutto ciò era teoricamente possibile ma praticamente molto complesso e costoso dovendo afferire a specifici centri e laboratori attrezzati, mentre adesso i modelli evidence-based di "mantenimento" e ribilanciamento di un buono stato di salute (la vera medicina preventiva) potranno in queste innovative rilevazioni aprirsi al grande pubblico.

## 6.4 Una speranza per il futuro della Medicina

*Sergio Stagnaro*

In tema di salute e prevenzione c'è da chiedersi se ci possa essere una prevenzione efficace senza una previsione adeguata, se ci dobbiamo accontentare di una prevenzione generale oppure se "pre-venire" e "pre-vedere" possano e debbano andare insieme.

In altre parole, può essere accettabile una prevenzione in Medicina che esuli da una efficace diagnosi clinica, personalizzata, predittiva e preventiva, che tenga conto dell'unicità, singolarità e meravigliosa complessità di ogni singolo individuo, secondo la Single Patient Based Medicine?

È sufficiente, ragionevole ed economica una prevenzione a-critica, irrazionalmente condotta, per tutti (e non solo rivolta a soggetti selezionati sulla base delle personali costituzioni e reali rischi congeniti, come insegna la Semeiotica Biofisica Quantistica), senza distinzione alcuna, indiscriminatamente, suggerendo diete alimentari di vario tipo, eser-

cizio fisico e trattamenti naturali di vario genere finalizzati a migliorare, ad esempio, l'ossigenazione mitocondriale e tissutale, a ridurre l'acidosi istamica, a proteggere i tessuti, nella speranza che qualcosa migliori nelle statistiche di ingresso alle più gravi patologie?

Quel che viene prima di una qualsiasi patologia (pre-venire) è ancora largamente considerato un mistero dalla presente medicina. In realtà, oggi nella medicina c'è sì il desiderio di scoprire e soprattutto "vedere" quello che c'è prima dell'insorgenza della fase clinica della malattia (pre-vedere), ma a conti fatti poco finora si è fatto per decifrare scientificamente e quali-quantitativamente quel limbo, quegli stadi pre-clinici, quella *zona grigia*, sindrome pre-metabolica, anticamera di quella metabolica, che trae origine (cause prime) da precise disfunzioni mitocondriali e relative alterazioni microcircolatorie, nel senso della Teoria dell'Angiobiopatia, come il cancro, il diabete mellito tipo 2, le patologie cardiovascolari e quelle neurodegenerative e dello sviluppo neuronale.

L'esistenza delle fasi pre-cliniche di varie patologie è oltremodo già riconosciuta a livello accademico (non a caso già in letteratura si parla di pre-diabete o pre-cancro), e nulla ha a che vedere con gli screening attuali di massa dove viene posta in essere una prevenzione su patologie comunque già in atto. Nel migliore dei casi vengono diagnosticate patologie nelle fasi precoci, nelle primissime fasi, ma mai prima che esse insorgano, al letto del malato, in modo rapido, senza costi, e in maniera non invasiva. È possibile ampliare lo screening anche alle fasi pre-cliniche delle patologie, diagnosticandone anche i reali rischi congeniti? È possibile una diagnosi al letto del paziente delle sue eventuali predisposizioni alle più gravi patologie degenerative? È possibile il monitoraggio diagnostico dell'evoluzione del reale rischio congenito di patologia? È possibile il monitoraggio terapeutico di ogni forma di prevenzione primaria e pre-primaria per testarne l'eventuale efficacia in ogni singolo paziente? È possibile ridurre o addirittura sanare il reale rischio



**Figura 6.4.1** – La figura mostra chiaramente che la percentuale di successo ottenuto con la prevenzione primaria SBQ dipende dallo stadio in cui essa inizia, come ben si comprende. La prevenzione iniziata con terapia quantistica nei primi anni di vita elimina definitivamente e in successione l'ICAEM, le costituzioni e poi i reali rischi congeniti.

NOTA AUTORE  
La Fig. che riproduce un diagramma che illustra alla perfezione il mio pensiero è un DONO del dottor Simone Caramel, Presidente della SISBQ: No Problem di copyright, dunque.

PAOLA,  
dobbiamo citare il dr Simone Caramel?

congenito di cancro, di Alzheimer, di diabete, di infarto miocardico acuto, una volta che uno di essi sia stato opportunamente diagnosticato?

Altro punto chiave è la fase di prevenzione terapeutica, la gestione del reale rischio congenito di patologia. È possibile ridurre ai minimi termini e / o addirittura eliminare completamente questa congenita predisposizione alle più comuni e gravi patologie, diagnosticata con un fonendoscopio a partire dalla nascita, grazie anche ai progressi della genetica, della genomica, delle biotecnologie e non soltanto della Semeiotica Medica?

Negli ultimi sessant'anni ho gettato alcuni piccoli semi per dare delle plausibili risposte teoriche e pratiche a queste domande. Pre-vedo che questi semi potranno permettere un importante salto di qualità alla prevenzione primaria e pre-primaria in medicina, nel momento in cui verranno piantati e fatti germogliare, specie imparando e mettendo correttamente in pratica la "Percussione Ascoltata dello stomaco" e la "Riflesso Diagnostica Percusso-Ascoltatoria".

Mi auguro che questo avvenga quanto prima, per porre finalmente un freno alle "epidemie" di cancro, diabete tipo 2 e IMA, tuttora in continuo aumento, nonostante tutto quanto speso e fatto finora a tanti livelli (*figura 6.4.1*).

Molto dipende dalla risposta di ciascuno di noi: su quale punto della curva qui sopra desideriamo sinceramente collocarci, lasciando da parte ogni interesse che non sia quello esclusivo di ogni singolo individuo e della sua personale salute? È una risposta che deve venire non dalla mente bensì dal cuore, il primo organo che si crea nel feto materno, quel cuore che si apre alla luce del mondo, ma che troppo spesso col tempo si irrigidisce e tende a chiudersi come le orecchie e gli occhi quando arriva il buio delle tenebre.

PAOLA,  
andiamo  
a pagina  
nuova?

## Bibliografia (6.1)

### Warburg aveva ragione!

- Aggarwal BB, Shishodia S (2006). Molecular target of dietary agents for prevention and therapy of cancer, *Biochemical Pharmacology* 71, 1397-1421.
- Alix JC (2005). *Un futuro senza cancro*, Forlì-Cesena, Macro.
- Bonnett S, et al. (2007). A mitochondria-K<sup>+</sup> channel axis is suppressed in cancer and its normalization promotes apoptosis and inhibit cancer growth, *Cancer Cell* 11, 37-51.
- Bottaccioli F (2005). *Psiconeuroendocrinoimmunologia*, Milano, Red.
- Bratton DL, et al. (1997). Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase, *J Biol Chem* 272, 26159-26165.
- Catalani S, et al. (2013). Metabolism modifications and apoptosis induction after Cellfood™ administration to leukemia cell lines, *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 32, 63.
- Comin-Anduix B, et al. (2002). Fermented Wheat Germ Extract Inhibits Glycolysis/Pentose Cycle Enzymes and Induces Apoptosis through Poly (ADP-ribose) Polymerase Activation in Jurkat T-cell Leukemia Tumor Cells, *The Journal of Biological Chemistry* 277, 46408-46414.
- Cory S, Adams JM (2002). The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch, *Nat Rev Cancer* 2, 647-656.
- Elmore S (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death, *Toxicologic Pathology* 35, 495-516.
- Eom KS, et al. (2010). Berberine-Induced Apoptosis in Human Glioblastoma T98G Cells Is Mediated by Endoplasmic Reticulum Stress Accompanying Reactive Oxygen Species and Mitochondrial Dysfunction, *Biol Pharm Bull* 33, 1644-1649.

- Feinberg AP, et al. (2006). The epigenetic progenitor origin of human cancer, *Nat Rev Genet* 7, 21-33.
- Franzini P (1994). *Sulle strade della Medicina*, Milano, Sorbona.
- Gatenby RA, Gillies RJ (2004). Why do cancers have high aerobic glycolysis?, *Nat Rev Cancer* 4, 891-899.
- Gay LJ, Habermann BF (2011). Contribution of platelets to tumour metastasis, *Nature Reviews Cancer* 11, 123-134.
- Gaziano JM, et al. (2012). Multivitamins in the prevention of cancer in men, *JAMA* 17. E1-E10.
- Greaves M (2003). *La sfida più difficile, l'eredità evolutiva del cancro*, Torino, Einaudi.
- Ho VW, et al. (2011). A low carbohydrate, high protein diet slows tumor growth and prevents cancer initiation, *Cancer res* 71, 4484-4493.
- Jones PA, Baylin SB (2007). The epigenomics of cancer, *Cell* 128, 683-692.
- Kerr JF, et al. (1994). Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy, *Cancer* 73, 2013-2026.
- Kim JW, Dang CV (2005). Multifaceted roles of glycolytic enzymes, *Trends Biochem Sci* 30, 142-150, 2005.
- Kulkarni AC, et al. (2007). Oxygen, the Lead Actor in the Pathophysiologic Drama: enactment of the trinity of normoxia, hypoxia, and hyperoxia in disease and therapy, *Antioxidant and redox signaling* 9, 1717-1730.
- Lee JH, et al. (2013). Dietary phytochemicals and cancer prevention: Nrf2 signaling, epigenetics, and cell death mechanisms in blocking cancer initiation and progression, *Pharmacology and Therapeutics* 137, 153-171.
- Lehninger AL (2005). *Principles of biochemistry*, Nelson DL and Cox MM Eds. 4th ed., WH Freeman.
- Lichtenstein AV (2008). Cancer: Shift of the paradigm, *Medical Hypothesis* 71, 839-850.
- Michelakis ED, et al. (2008). Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer, *British Journal of Cancer* 99, 989-994.
- Noble D (2009). *La musica della vita – la biologia oltre la genetica*, Torino, Bollati Boringhieri.
- Pani G, et al. (2010). Metastasis: cancer cell's escape from oxidative stress, *Cancer Metastasis* 29, 351-378.
- Papandreou I, et al. (2011). Anticancer drugs that target metabolism: is dichloroacetate the new paradigm?, *Int J Cancer* 128, 1001-1008.
- Pischinger A (1996). *Matrice e Regolazione della matrice, base per una teoria olistica della medicina*, Brussels, Haug International.
- Ramsay EE, et al. (2011), Mitochondrial Metabolism Inhibitors for Cancer Therapy, *Pharm Res* 28, 2731-2744.
- Reckeweg HH (1988). *Omotossicologia. Prospettiva per una sintesi in medicina*, Milano, Guna.
- Reya T, et al. (2001). Stem cell cancer, and cancer stem cell, *Nature* 414, 105-111.
- Robbins SL, Cotran RS (2010). *Le basi patologiche delle malattie*, Milano, Masson.
- Saelens X, et al. (2004). Toxic proteins released from mitochondria in cell death, *Oncogene* 23, 2861-2874.
- Schlesinger Y, et al. (2007). Polycomb-mediated methylation in cancer, *Nat Genet* 39, 232-236.
- Van Cruchten S, Van Den Broeck W (2002). Morphological and biochemical aspects of apoptosis, oncosis and necrosis, *Anat Histol Embryol* 31, 214-223.
- Vander MG, et al. (2009). Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation, *Science* 324, 1029-1033.
- Warburg O, et al. (1924). Ueber den Stoffwechsel der Tumoren, *Biochemische Zeitschrift* 152, 319-344. Reprinted in English: Warburg O, On metabolism of tumors by, 1930, London, Constable.

Wong JYY, et al. (2008). Dichloroacetate induces apoptosis in endometrial cancer cells, *Gynecologic Oncology* 109, 394-402.

Zhang Y, Yang J (2013). Altered energy metabolism in cancer: a unique opportunity for therapeutic intervention, *Cancer Biology and Therapy* 14 (2) 81-89.

## Bibliografia (6.2)

### La ricerca in oncologia

Benedetti S, Catalani S, Palma F, Canestrari F (2011). The antioxidant protection of CELLFOOD against oxidative damage in vitro, *Food Chem Toxicol* 49, 2292-2298.

Catalani S, Carbonaro V, Palma F, et al. (2013). Metabolism modifications and apoptosis induction after Cellfood™ administration to leukemia cell lines, *J Exp Clin Cancer Res* 32 (1), 63.

DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G (2008). The biology of cancer: Metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation, *Cell Metab* 7, 11-20.

Denko NC (2008). Hypoxia, HIF1 and glucose metabolism in the solid tumour, *Nat Rev Cancer* 8, 705-713.

Elmore S (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death, *Toxicol Pathol* 35, 495-516.

Fantin VR, St-Pierre J, Leder P (2006). Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance, *Cancer Cell* 9, 425-434.

Ferrero E, Fulgenzi A, Belloni D, et al. (2011). Cellfood™ improves respiratory metabolism of endothelial cells and inhibits hypoxia-induced reactive oxygen species (ROS) generation, *J Physiol Pharmacol* 62, 287-293.

Hsu PP, Sabatini DM (2008). Cancer cell metabolism: Warburg and beyond, *Cell*, 134, 703-707.

Icard P, Lincet H (2012). A global view of the biochemical pathways involved in the regulation of the metabolism of cancer cells, *Biochimica et Biophysica Acta* 1826, 423-433.

Meijer TW, Kaanders JH, Span PN, et al. (2012). Targeting hypoxia, HIF-1, and tumor glucose metabolism to improve radiotherapy efficacy, *Clin Cancer Res* 18 (20), 5585-94.

Nuvoli B, Santoro R, Catalani S, et al. (2014). Cellfood™ induces apoptosis in human mesothelioma and colorectal cancer cells by modulating p53, c-myc and pAkt signaling pathways, *J Exp Clin Cancer Res* 33 (1), 24.

Rastogi S, Banerjee S, Chellappan S, et al. (2007). Glut-1 antibodies induce growth arrest and apoptosis in human cancer cell lines, *Cancer Letters* 257, 244-251.

Shanmugam MK, Kannaiyan R, Sethi G (2011). Targeting Cell Signaling and Apoptotic Pathways by Dietary Agents: Role in the Prevention and Treatment of Cancer, *Nutr Cancer* 63, 161-173.

Zheng J (2012). Energy metabolism of cancer: Glycolysis versus oxidative phosphorylation (Review), *Oncology Letters* 4, 1151-1157.

## Bibliografia (6.3)

### Un nuovo test per valutare lo stress ossidativo

Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM (1993). Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics. *Eur Respir J* 6 (9), 1368-70.

Berlyne GS, Parameswaran K, Kamada D, et al. (2000). A comparison of exhaled nitric oxide and induced sputum as markers of airway inflammation, *J Allergy Clin Immunol* 106, 638-644.

Corradi M, Folesani G, Andreoli R, et al. (2003a). Aldehydes and Glutathione in Exhaled Breath Condensate of Children with Asthma Exacerbation, *Am J Respi Crit Care Med* 167, 395-399.

- Corradi M, Rubinstein I, Andreoli R, et al. (2003b). Aldehydes in Exhaled Breath Condensate of Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease, *Am J Resp Crit Care Med* 167, 1380-1386.
- Droz PO, Guillemin MP (1986). Occupational exposure monitoring using breath analysis, *J Occupat Med* 28, 593-602.
- Effros RM, Su J, Casaburi R, et al. (2005). Utility of exhaled breath condensates in chronic obstructive pulmonary disease: a critical review, *Curr Opin Pulm Med* 11, 135-9.
- Fabbri LM, Romagnoli M, Corbetta, et al. (2003). Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease, *Am J Respir Crit Care Med* 167, 418-424.
- Gill M, Graff GR, Adler AJ, Dweik RA (2006). Validation study of fractional exhaled nitric oxide measurements using a handheld monitoring device, *J. Asthma* 43, 731-4.
- Gordon SM, Szidon JP, Krotoszynski BK, et al. (1985). Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer, *Clin Chem* 31, 1278-82.
- Hamid Q, Springall DR, Riveros-Moreno V, et al. (1993). Induction of nitric oxide synthase in asthma, *Lancet* 342 (8886-8887), 1510-3.
- Horváth I1, Hunt J, Barnes PJ, et al. (2005). Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions, *Eur. Respir. J.* 26 (3), 523-4.
- Horvath I, MacNee W, Kelly FJ, et al. (2001). Haemoxygenase-1 induction and exhaled markers of oxidative stress in lung diseases", summary of the ERS Research Seminar in Budapest, Hungary, September, 1999, *Eur Respir J* 18, 420-30.
- Kelly KA, C M Havrilla, T C Brady, et al. (1998). Oxidative Stress in Toxicology: Established Mammalian and Emerging Piscine Model Systems, *Environ Health Persp* 106 (7), 375.
- Miller ER 3rd, Appel LJ, Risby TH (1998). Effect of dietary patterns on measures of lipid peroxidation: results from a randomized clinical trial. *Circulation* 1 98 (22), 2390-5.
- Nowak D, Kalucka S, Białasiewicz P, et al. (2001). Exhalation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) by healthy subjects, *Free Radic Biol Med* 30 (2), 178-186.
- Pleil JD, Miekisch W, Risby, et al. (2013a). *J Breath Res* 7 (2), 029001.
- Pleil JD, Stiegel MA, Risby TH (2013b). Clinical breath analysis: discriminating between human endogenous compounds and exogenous (environmental) chemical confounders, *J Breath Res* 7 (1), 017107.
- Rieder J, Lirk P, Ebenbichler C, et al. (2001). Analysis of volatile organic compounds: possible applications in metabolic disorders and cancer screening, *Wien Klin Wochenschr* 113, 181-5.
- Risby TH, Pleil JD (2013). Breath analysis--past, present and future: a special issue in honour of Michael Phillips' 70th birthday, *J Breath Res* 7 (1), 010201.
- Risby TH, Sehnert SS (1999). Clinical application of breath biomarkers of oxidative stress status. *Free Radic Biol Med.* 27 (11-12), 1182-92.
- Saleh D, Ernst P, Lim S, et al. (1998). Increased formation of the potent oxidant peroxyxynitrite in the airways of asthmatic patients is associated with induction of nitric oxide synthase: effect of inhaled glucocorticoid, *FASEB J.* 12, 929-937.

## Bibliografia (6.4)

### Una speranza per il futuro della Medicina

- Neri Stagnaro M, Stagnaro S (2004). Introduzione alla Semeiotica Biofisica. Il terreno oncologico. *Travel Factory*, Roma, [www.travelfactory.it/semeiotica\\_biofisica.htm](http://www.travelfactory.it/semeiotica_biofisica.htm)
- Stagnaro S, Neri Stagnaro M (2004). Le costituzioni semeiotico-biofisiche: strumento clinico fondamentale per la prevenzione primaria e la definizione della Single Patient Based Me-

- dicine. *Travel Factory*, Roma, [www.travelfactory.it/libro\\_costituzionisemeiotiche.htm](http://www.travelfactory.it/libro_costituzionisemeiotiche.htm)
- Stagnaro S, Neri Stagnaro M (2005). Single Patient Based Medicine: la medicina basata sul singolo paziente. Nuove indicazioni della melatonina, *Travel Factory*, Roma, [www.travelfactory.it/libro\\_singlepatientbased.htm](http://www.travelfactory.it/libro_singlepatientbased.htm)
- Stagnaro-Neri M, Stagnaro S (1995). Co Q10 in the prevention and treatment of primary osteoporosis. Preliminary data, *Clin Ter* 146 (3), 215-9.
- Stagnaro S (2009). Pre-Metabolic Syndrome and Metabolic Syndrome: Biophysical-Semeiotic Viewpoint, 29 Apr., [www.athero.org/commentaries/comm904.asp](http://www.athero.org/commentaries/comm904.asp)
- Stagnaro S (2009). CAD Inherited Real Risk, Based on Newborn-Pathological, Type I, Subtype B, Aspecific, Coronary Endoarteriolar Blocking Devices. Diagnostic Role of Myocardial Oxygenation and Biophysical-Semeiotic Preconditioning 29 Apr., [www.athero.org/commentaries/comm907.asp](http://www.athero.org/commentaries/comm907.asp)
- Stagnaro S, Singh RB (2009). Influence of Nutrition on Premetabolic Syndrome and Vascular Variability Syndrome, *The Open Nutraceuticals Journal* 2, 118-121, <http://benthamopen.com/contents/pdf/TONUTRAJ/TONUTRAJ-2-118.pdf>
- Stagnaro S, Caramel S (2012). Magnesium Deficiency Clinical Syndrome and Magnesium Therapy in Hypertensives, *Eur J Clin Nutr* 66 (9), 1075, doi: 10.1038/ejcn.2012.76.
- Stagnaro S, West PJ, Hu FB, Manson JE, Willett WC (2002). Diet and Risk of Type 2 Diabetes, *N Engl J Med* 346 (4), 297-298.
- Stagnaro S, Caramel S (2013). The Inherited Real Risk of Coronary Artery Disease, *Eur J Clin Nutr* 67 (6), 683, Nature PG., [www.nature.com/ejcn/journal/v67/n6/full/ejcn201337a.html](http://www.nature.com/ejcn/journal/v67/n6/full/ejcn201337a.html)
- Pyatakovich FA, Stagnaro S, Caramel S, Yakunchenko TI, Makkonen KF, Moryleva ON (2013). Background Millimeter Radiation Influence in Cardiology on patients with metabolic and pre-metabolic syndrome, *Journal of Infrared and Millimeter Waves*, Shanghai, [http://journal.sitp.ac.cn/hwyhmb/hwyhmben/ch/reader/view\\_abstract.aspx?file\\_no=120750&-flag=1](http://journal.sitp.ac.cn/hwyhmb/hwyhmben/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=120750&-flag=1)
- Marchionni M, Caramel S, Stagnaro S (2014). The Role of 'Modified Mediterranean Diet' and Quantum Therapy In Alzheimer's Disease Primary Prevention, *The Journal of Nutrition, Health & Aging* 18 (1), 96, <http://link.springer.com/article/10.1007/s12603-013-0435-7>
- Stagnaro S, Caramel S (2013). BRCA-1 and BRCA-2 mutation bedside detection and breast cancer clinical primary prevention, *Front Genet* 4, 39, doi: 10.3389/fgene.2013.00039, [www.frontiersin.org/Cancer\\_Genetics/10.3389/fgene.2013.00039/full](http://www.frontiersin.org/Cancer_Genetics/10.3389/fgene.2013.00039/full)