



Benelli R. - Capecchi S. - Cecchi E.

“LA PREVENZIONE PRIMARIA IN ONCOLOGIA”

(Corretti stili di vita e Prevenzione attiva)

Presentazione
Prof. Alberto Izzotti

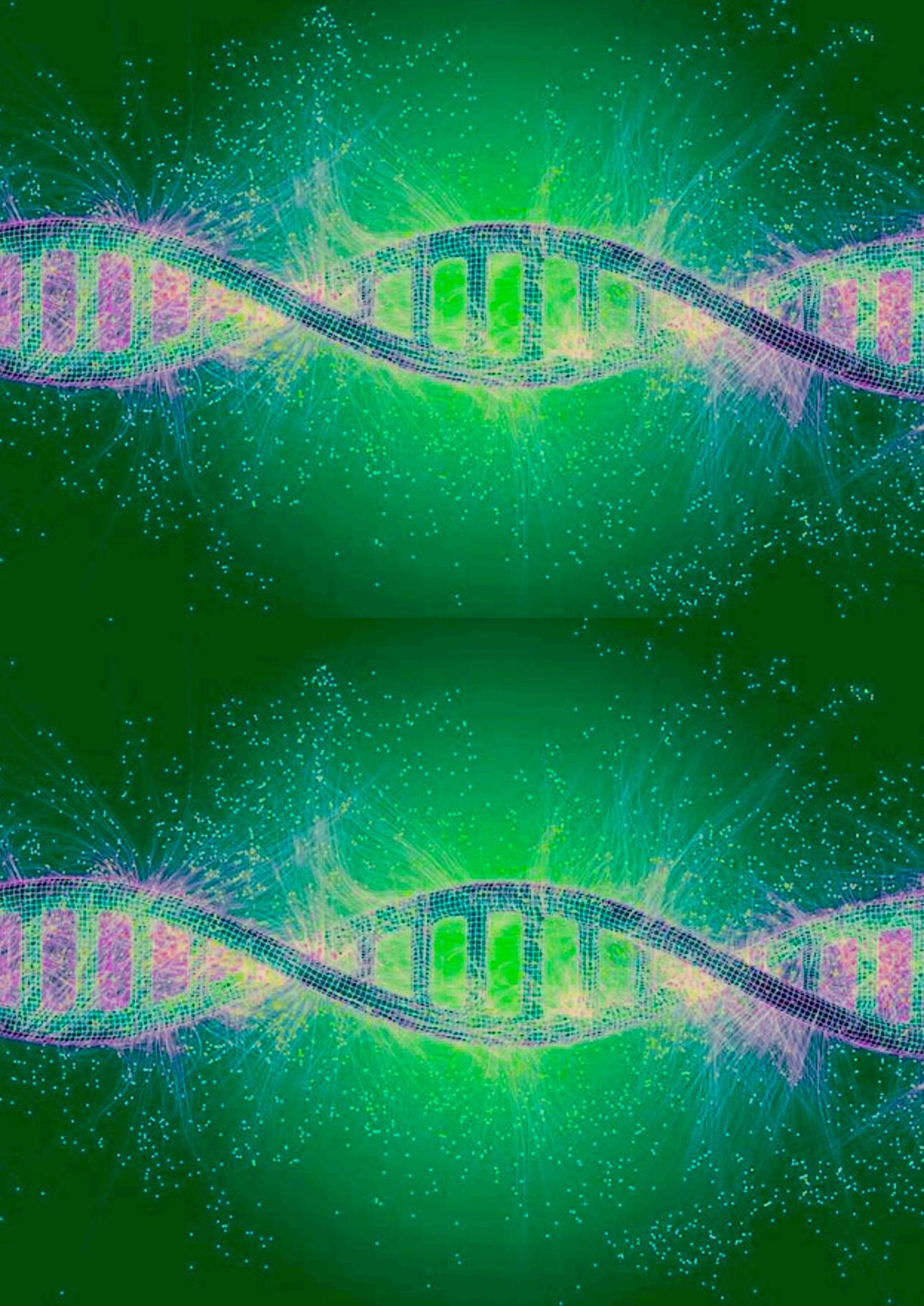
LILT - Prato, 2024



“ La Prevenzione primaria in Oncologia “

Indice

◇ La Prevenzione in oncologia: presentazione	5
◇ Prefazione	9
◇ Introduzione	11
◇ Incidenza dei tumori maligni in Italia	12
◇ La prevenzione primaria in oncologia	14
◇ Il regime dietetico antinfiammatorio	15
◇ L'attività fisica per la salute	19
◇ Forest Bathing	22
◇ La prevenzione attiva	23
◇ L'instabilità genomica	23
◇ L'infiammazione cronica	25
◇ Il disequilibrio del sistema immunitario	30
◇ Il disequilibrio del microbiota	33
◇ Approfondimenti	37
◇ Bibliografia	55
◇ Fotoalbum	59



La Prevenzione in Oncologia: Presentazione

Nonostante gli impressionanti progressi delle terapie negli ultimi anni, il cancro rimane ancora la seconda causa di morte nei paesi sviluppati con un continuo aumento di nuovi casi non solo in tutta la popolazione ma anche e soprattutto nei soggetti con meno di 50 anni. Nei prossimi anni, l'epidemia in corso potrebbe travolgere il Sistema Sanitario Nazionale perchè il cancro, essendo una malattia cronica, richiede ingenti risorse per gestire i pazienti colpiti. Le terapie personalizzate sviluppate di recente (piccole molecole e anticorpi monoclonali mirati a specifici meccanismi correlati al cancro) sono piuttosto efficaci, ma il loro costo elevato rappresenta un grosso problema per diffonderne l'uso su scala universale. Per far fronte a questa situazione, la Sanità Pubblica richiede lo sviluppo di nuove strategie preventive ad alta efficacia a costi relativamente bassi, quindi più efficienti di quelle finora disponibili. La prevenzione primaria è rivolta ai soggetti privi di malattia in cui si vuole diminuire la probabilità che la malattia insorga. La modifica degli stili di vita rappresenta il fondamentale strumento di questo tipo di prevenzione. Purtroppo, le azioni concrete intraprese a tale proposito sono ancora del tutto inadeguate rispetto all'entità del problema. Ancora oggi il 50% della popolazione italiana è sovrappeso ed il 20% è fumatrice, con una preoccupante tendenza all'aumento soprattutto nei giovani. La prevenzione secondaria coincide con gli screening oncologici e permette la diagnosi prima che la malattia diventi sintomatica dando così all'oncologo la possibilità di affrontare la malattia in stadi iniziali e quindi aumentando le possibilità di successo della terapia. Lo screening è uno degli esempi più evidenti di come sia efficace, quando realizzata, la collaborazione tra medico preventivo e medico oncologo. Oggi la prevenzione secondaria comprende anche gli interventi di prevenzione attiva nei soggetti ad alto rischio. L'adozione di protocolli nutrizionali e di attività fisica adattata nella paziente ad alto rischio per cancro della mammella rappresenta l'esempio tangibile già applicato a questo tipo di prevenzione. La prevenzione terziaria è rivolta ai sopravvissuti oncologici guariti dopo le terapie oncologiche. In questi soggetti la probabilità di recidiva esiste ma può essere diminuita da adeguati interventi di medicina preventiva. Questo tipo di prevenzione è oggi una priorità per la Sanità Pubblica; solo in Italia esistono infatti ben 4 milioni di sopravvissuti oncologici che potrebbero largamente beneficiare da queste tipologie di prevenzione se realizzate. La prevenzione terziaria del cancro comprende

interventi attivi nutrizionali e di attività fisica adattata ma anche interventi di vera e propria chemio-prevenzione del cancro mediante farmaci od integratori alimentari. A questo proposito, i farmaci ossidativi rappresentano una nuova interessante opportunità.

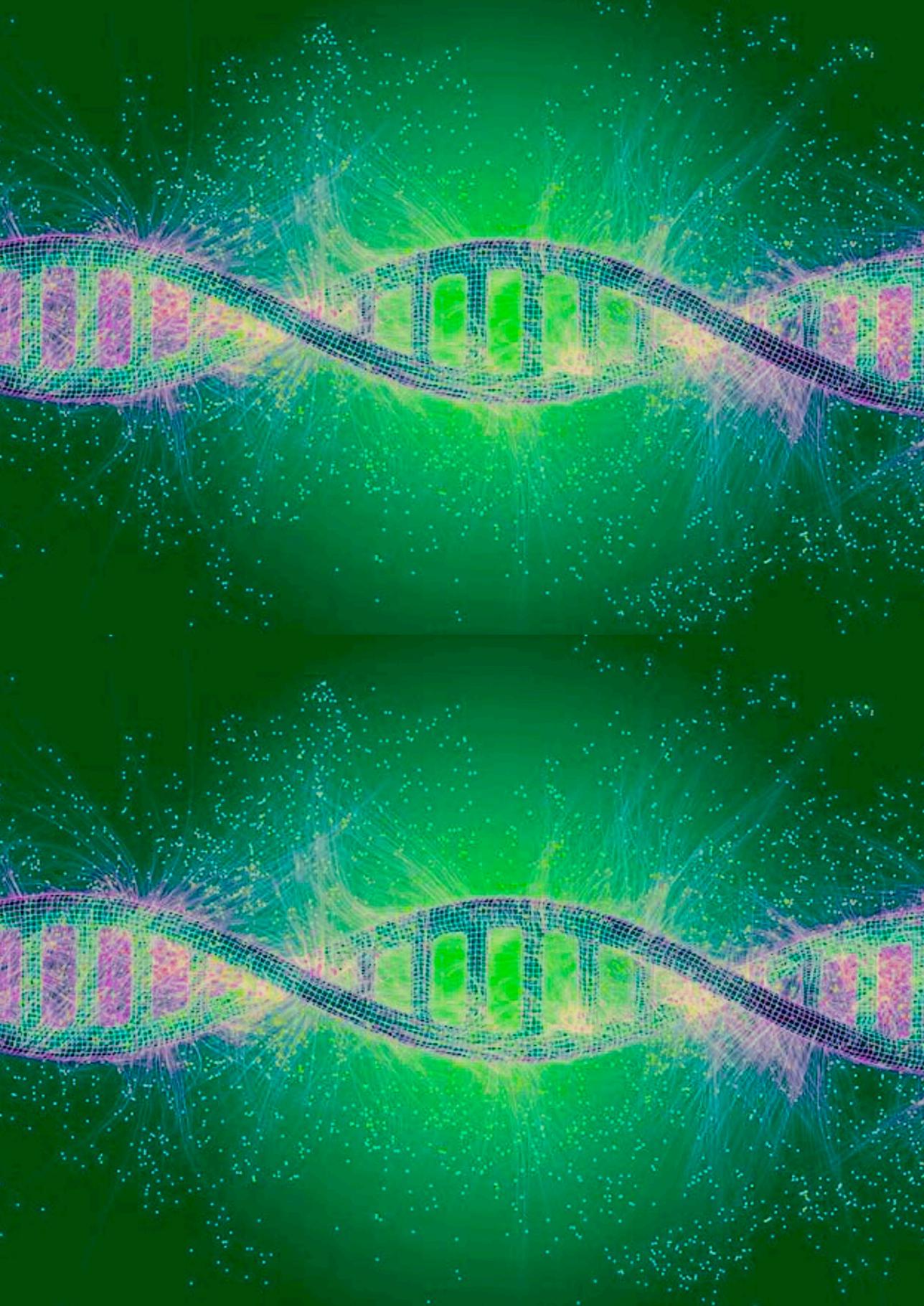
L'equilibrio tra ossidante e antiossidante svolge un ruolo importante nello sviluppo, nella progressione e nelle ricadute del cancro. Durante la cancerogenesi, il processo di stress ossidativo rappresenta un agente promotore. Di conseguenza, gli antiossidanti (come l'assunzione di frutta e verdura cinque volte al giorno) rappresentano una strategia riconosciuta per diminuire l'incidenza del cancro. Tuttavia, l'uso di farmaci antiossidanti ha ottenuto effetti minimi nella terapia del cancro. Questa situazione è legata al fatto che le cellule staminali tumorali sono selezionate tra la popolazione globale di cellule tumorali per la loro capacità di affrontare il danno ossidativo. Le terapie antitumorali standard sono potenti agenti ossidanti in grado di uccidere le cellule tumorali. Tale meccanismo viene messo in atto dalle radiazioni ossidanti utilizzate in radioterapia e da molti agenti chemioterapeutici come le nitrosouree (chiamati anche farmaci radiomimetici), le antracicline, il cisplatino, ecc. Queste terapie uccidono la grande maggioranza delle cellule tumorali ma selezionano cellule in grado di sopravvivere grazie alla loro abbondanza di antiossidanti intracellulari, come avviene tipicamente nelle cellule staminali tumorali. I farmaci ossidativi di nuova concezione mirano a eliminare gli antiossidanti intracellulari dalle cellule staminali tumorali, migliorando così l'efficacia delle chemio-radioterapie e diminuendo il tasso di resistenza alla chemioradio. Finora le terapie ossidative sono state utilizzate principalmente somministrando gas ossidanti, come l'ozono, mediante infusione di sangue. Tuttavia, gli effetti sulle cellule tumorali in termini di uccisione cellulare e riduzione della massa sono transitori perché l'emivita del gas ozono nel sangue è molto breve. Questo problema è stato recentemente risolto legando l'ozono con un trasportatore lipidico sviluppando una nuova generazione di oli ozonizzati ad alto contenuto di ozonuri. Il trasportatore lipidico permette all'ozono di penetrare all'interno delle cellule tumorali esercitando così i suoi effetti direttamente nel citoplasma. Questi effetti sono legati alla decomposizione dell'ozono in specie reattive dell'ossigeno e ossigeno. Le specie reattive dell'ossigeno inducono l'ossidazione, eliminando così gli antiossidanti intracellulari delle cellule staminali tumorali e ossidando la membrana mitocondriale ripristinando l'apoptosi intrinseca nelle cellule tumorali sottoposte a blocco mitocondriale (effetto Warburg). Il trasportatore lipidico consente all'ozono di attraversare la barriera

ematoencefalica rendendolo efficace anche contro i tumori al cervello come il glioblastoma. L'ozono è un agente antinfiammatorio ben noto. L'inibizione dell'esplosione ossidativa dei macrofagi esercitata dall'olio ozonizzato è rilevante per attenuare l'infiammazione che circonda e penetra nel tessuto tumorale modulando i macrofagi associati al tumore che contribuiscono allo sviluppo del cancro. Il rilascio di ossigeno all'interno del cancro solido è fondamentale per contrastare la neoangiogenesi e la diffusione metastatica. Infatti, l'ipossia innesca (a) la produzione e il rilascio di fattori angiogenici attivando il fattore 1 inducibile dall'ipossia; (b) diffusione metastatica mediante attivazione dell'oncogene *Met*.

L'aumento della disponibilità di ossigeno nel tessuto normale è di grande rilevanza per i pazienti affetti da cancro che si trovano in una situazione clinica caratterizzata da grave astenia denominata "affaticamento" causata dalla tossicità muscolare e dalla soppressione del midollo osseo indotta dalle chemioterapie. La somministrazione di olio ozonizzato è in grado di aumentare la soglia aerobica muscolare migliorando questa caratteristica clinica del paziente oncologico. A questo proposito, gli oli ozonizzati possono essere considerati un agente mimetico dell'attività fisica che esercita gli effetti fisiologici dell'attività fisica adattata nei soggetti fragili. È stato dimostrato che l'attività fisica è uno strumento efficace per ridurre il rischio di recidive di cancro del 40-50%, essendo quindi segnalata come un "super farmaco" per i sopravvissuti al cancro. Gli oli ozonizzati sono composti da un vettore lipidico (acido oleico/linoleico o simili) e da ozono in assenza di xenobiotici. Di conseguenza, la loro compliance è estremamente elevata e non si segnala alcun effetto collaterale significativo anche in caso di utilizzo a dosi molto elevate, come avviene ad esempio nei pazienti con glioblastoma. Le osservazioni riportate indicano che nuove strategie basate su farmaci ossidativi sono già in fase avanzata per la loro applicazione clinica. Tuttavia, il numero di pazienti trattati è ancora limitato e sono necessari studi clinici randomizzati su larga scala e studi randomizzati controllati per fornire prove scientifiche inconfutabili dell'efficacia di questa promettente strategia preventiva.

Prof. Alberto Izzotti M.D.

Prof. Ordinario di Igiene e Medicina Preventiva
Scuola di Medicina - Università di Genova



Prefazione

Nel 2024 ricorrono 110 anni dalla nascita del Prof. Renato Dulbecco (*Catanzaro 1914 - La Jolla, California, 2012*), illustre scienziato italiano, premio Nobel per la medicina nel 1975 per i suoi studi sui virus oncogeni, avviati nel 1960. Le sue ricerche dimostravano che il materiale genetico di questi virus viene incorporato nel DNA della cellula ospite diventando parte del genoma ed avviando, in tal modo, la cancerogenesi. Dulbecco ha successivamente promosso e diretto le ricerche per il “Progetto Genoma”, progetto internazionale rivolto alla mappatura ed al sequenziamento del genoma umano, dimostrando in tal modo di essere un pioniere della moderna ricerca sul cancro.

Sappiamo oggi che **il cancro è essenzialmente una malattia del genoma** e che la maggior parte delle alterazioni geniche nei tumori non è ereditaria ma avviene nel corso della vita, generalmente dopo la nascita, per azione di fattori ambientali chimici, fisici, biologici ed infiammazione cronica che alterano il DNA. Per alcuni tumori, quali quelli del seno e del colon, in una bassa percentuale di casi si tratta di forme ereditarie (familiari), come predisposizione, e cioè una maggiore probabilità che individui con geni alterati sviluppino la neoplasia.

Negli anni '70 - '80 del 1900 risulta sempre più evidente la connessione esistente fra infiammazione e cancro. Questo legame già ipotizzato nella seconda metà del 1800 da Rudolf Virchow, padre fondatore della medicina moderna, è stato successivamente riaffermato dal Prof. Mantovani e Collaboratori con la scoperta che i macrofagi nel cancro si comportano come “poliziotti corrotti” che non solo non difendono l'organismo colpendo e distruggendo il tumore ma lo aiutano a crescere e a diffondersi.

I tumori maligni sono malattie insidiose in quanto si manifestano clinicamente solo dopo molti anni dal loro inizio biologico rimanendo a lungo silenti e non diagnosticabili. Nel periodo del silenzio sintomatico tuttavia la malattia evolve e le cellule diventano sempre più anomale, infiltrano i tessuti adiacenti a quelli di origine e disseminano a distanza. Negli stadi avanzati sono presenti importanti modificazioni biologiche: infatti le cellule hanno un numero maggiore di cromosomi rispetto al corredo normale e sono caratterizzati da perdita di pezzi e dal loro scambio con altri cromosomi. “Le cellule anomale esprimono geni che

non dovrebbero essere attivi mentre ne lasciano silenti altri che invece dovrebbero essere attivi” (*Dulbecco R., 1995*). In alcuni tipi di cancro affezioni di tipo infiammatorio sono presenti prima che si verifichi un cambiamento delle cellule in senso maligno. In altre neoplasie (tumori solidi) la presenza di un microambiente tumorale induce un quadro infiammatorio che favorisce la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule tumorali, promuove l’angiogenesi e le metastasi, sovrverte le risposte immunitarie adattative ed altera la risposta alle terapie. Gli eventi molecolari del processo infiammatorio correlato al cancro permettono di identificare molecole bersaglio che possono favorire la diagnosi e la messa a punto di trattamenti selettivi ed efficaci (*Mantovani A. et al, 2008*).

Nella lotta contro i tumori la parola d’ordine è dunque prevenzione! “Prevenire è Vivere” è il motto della Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori (LILT). La prevenzione si fonda sull’adozione di corretti stili di vita (sana alimentazione e lotta alla sedentarietà secondo gli insegnamenti di Ippocrate di Kos, 460-377 a.C.), lotta ai cancerogeni ambientali ed alla infiammazione cronica (**prevenzione primaria**) ma anche sull’esecuzione di esami di screening per la diagnosi precoce quando la neoplasia è ancora asintomatica (**prevenzione secondaria**). Oggi, nei modelli di prevenzione, si inseriscono a pieno titolo indagini in grado di intercettare un aumento del rischio di contrarre una patologia neoplastica tanto da poter mettere in atto i provvedimenti più efficaci. Si parla in tal caso di **prevenzione attiva** che è oggetto di questa pubblicazione. La complessità di alcuni argomenti trattati ha richiesto il loro approfondimento e la semplificazione. Possibili inesattezze potranno essere corrette in un futuro aggiornamento.

Dr. Roberto Benelli M.D.

Presidente LILT - sede di Prato

p. Direttore U.O. Urologia - Ospedale di Prato

Prato, 15 Giugno 2024

Introduzione

Il termine cancro (dal greco *Karkinos* = granchio) è attribuito ad Ippocrate di Kos (V sec. a.C.), padre della medicina, a cui si deve l'osservazione che "i tumori solidi", con le loro emanazioni, assomigliano alle chele di un granchio.

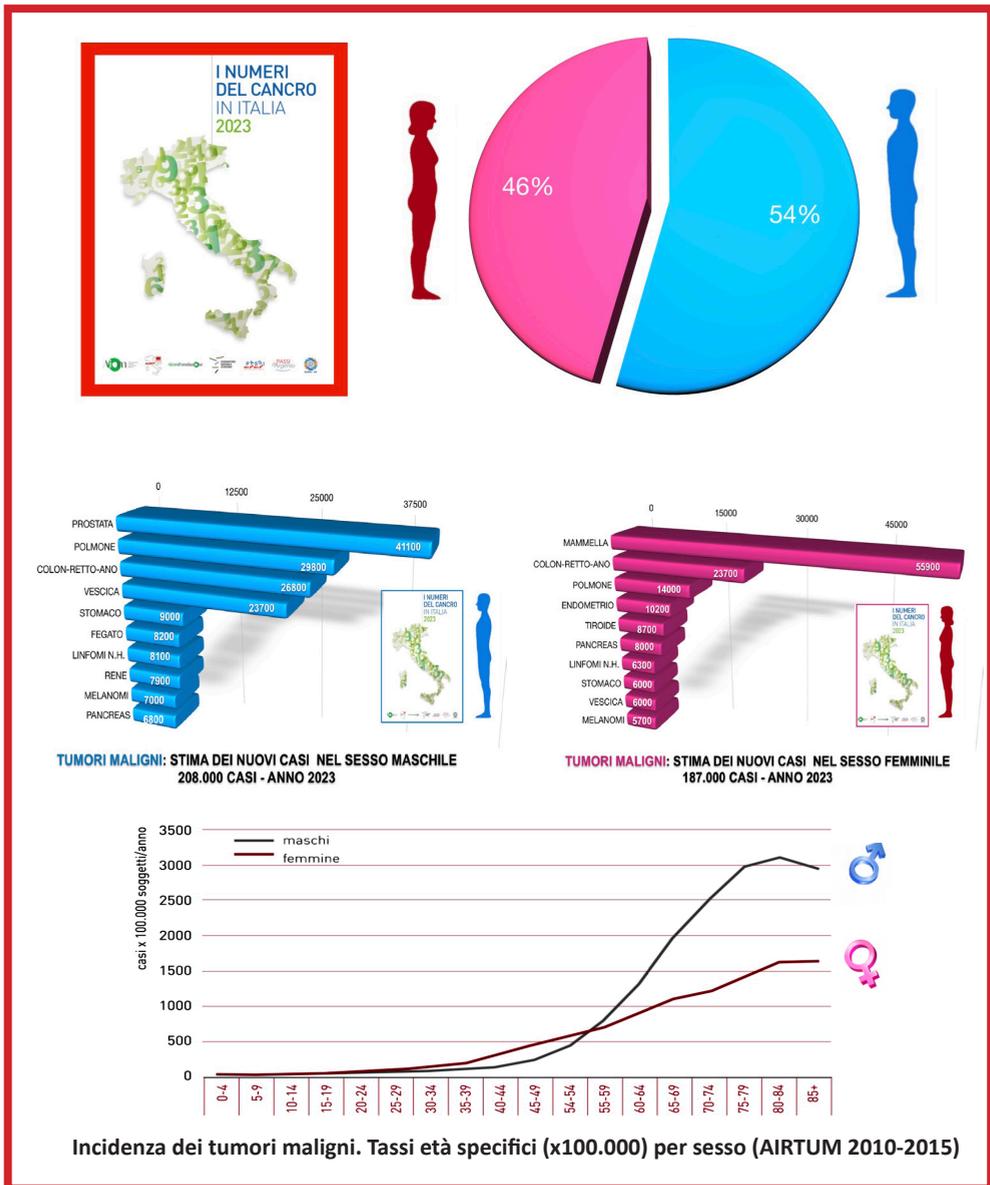
Il cancro è una condizione patologica multifattoriale caratterizzata dalla proliferazione incontrollata di cellule anomale che è causata da instabilità del genoma. Esso è dovuto a **fattori ereditari** (mutazioni genetiche presenti alla nascita), e/o **fattori ambientali** (esposizione ad agenti mutageni) ed **infiammazione cronica** ma può essere causato anche da **errori casuali** nella replicazione del DNA cellulare. Ipotesi questa sostenuta da Tomasetti e Vogelstein (2015), della "Johns Hopkins University" di Baltimora, secondo i quali l'insorgenza di un tumore dipenderebbe, nei due terzi dei casi, da cattiva sorte (*bad luck*) ovvero da mutazioni casuali che avvengono nella replicazione del DNA in cellule staminali sane. Più elevato è il numero delle replicazioni di queste cellule e maggiore è il rischio di mutazioni e di insorgenza di una neoplasia maligna. Quasi tutte le cellule dell'organismo possono andare incontro a trasformazione neoplastica in seguito a mutazioni del DNA tanto che oggi, per un'oncologia di precisione, è indispensabile classificare i tumori in base alle loro caratteristiche molecolari.

Le cellule neoplastiche possono diffondere in tutto il corpo se non si interviene nelle fasi precoci della malattia. Per questo motivo è consigliabile sottoporsi regolarmente ad esami di screening (**prevenzione secondaria**) allo scopo di diagnosticare la malattia in fase preclinica, soprattutto in presenza di familiarità positiva per una neoplasia al seno, al colon, alla prostata. Ma grande importanza riveste la **prevenzione primaria** che interviene su fattori ambientali in grado di causare il cancro: mutazioni del DNA presenti alla nascita non sono sufficienti. Esse rendono solo più probabile che un individuo sviluppi un tumore quando è esposto a fattori di rischio (fumo, alcol, regime alimentare scorretto, malattie metaboliche, cancerogeni fisici, chimici, biologici) per molti anni. **Geni oncosoppressori identificano e riparano continuamente errori del DNA: per inattivazione o perdita di questi geni le cellule mutate possono continuare a proliferare e a dividersi dando luogo ad una neoplasia.**

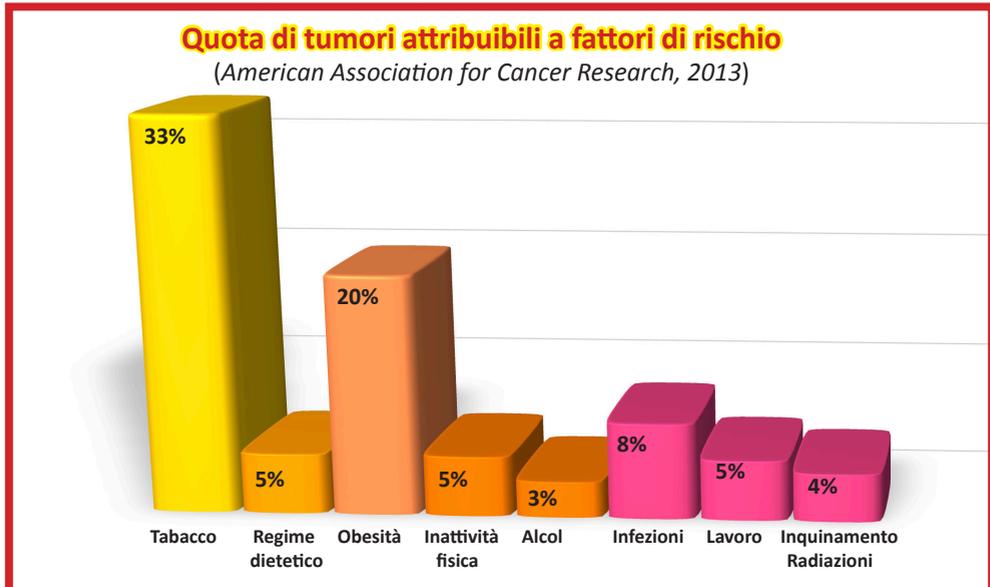
Perchè si sviluppi un cancro è necessario un certo numero di mutazioni acquisite nel tempo tanto che **l'avanzare dell'età rappresenta il maggior fattore di rischio neoplastico.** La prevenzione oncologica si concentra oggi anche sulla possibilità di effettuare esami che possono intercettare il rischio tumorale. Si parla in tal caso di **prevenzione attiva.**

Incidenza dei tumori maligni in Italia

Le nuove diagnosi di tumori maligni in Italia sono stimate in 395.000 casi (esclusi i tumori maligni della cute non melanoma) di cui 208.000 maschi (54%) e 187.000 femmine (46%) (*Dati AIOM, 2023*). Nei grafici è riportata l'incidenza dei 10 tumori maligni più frequenti ripartiti per sesso e sede e l'incidenza delle neoplasie per età e sesso. Al primo posto si collocano rispettivamente il carcinoma della prostata nell'uomo e del seno nella donna. Quest'ultima è, in assoluto, la neoplasia più frequente con 55.900 casi.



Fattori di rischio: le maggiori cause di tumori sono da attribuire al fumo di sigaretta (33%) ed a fattori correlati con il regime alimentare, il sovrappeso/l'obesità, l'inattività fisica e l'alcol (33%); seguono le infezioni da virus oncogeni e batteri (8%), i fattori occupazionali (5%), l'inquinamento, le radiazioni ionizzanti ed i raggi ultravioletti (4%) (*American Association for Cancer Research, 2013*), tutte causa di infiammazione. L'infiammazione cronica, anche di basso grado (asintomatica), rappresenta quindi un fattore di rilievo nelle malattie



Infiammazione cronica: cause

- Stili di vita:** fumo, alcol, alimentazione scorretta, eccessi alimentari e di nutrienti (zuccheri e farine bianche, proteine animali, grassi saturi, grassi idrogenati), sedentarietà e inattività fisica, turbe del sonno;
- Fattori ambientali:** radiazioni ionizzanti, raggi UV, cancerogeni chimici;
- Infezioni:** *Helicobacter pylori*, papillomavirus (HPV), virus della epatite B (HBV) e C (HCV), virus di Epstein Barr (EBV) della mononucleosi, HIV;
- Tossine** (aflatossine) presenti in prodotti alimentari (arachidi, cereali, frutta a guscio, spezie, etc.) contaminati da funghi;
- Malattie metaboliche:** sindrome metabolica/obesità come causa di infiammazione cronica di basso grado (*Metaflammation*) ;
- Sindrome dell'intestino permeabile** (*Leaky Gut Syndrome*): causa l'assorbimento nel circolo ematico di tossine (LPS=lipopolisaccaridi), agenti patogeni, sostanze allergizzanti;
- Senescenza** (*Inflammaging*): l'invecchiamento è caratterizzato dall'accumulo di cellule senescenti nel tessuto adiposo che resistono all'apoptosi e generano un secretoma denominato SASP (*Senescence Associated Secretory Phenotype*). Tali cellule sono metabolicamente attive e producono radicali liberi dell'ossigeno (ROS) e citochine pro-infiammatorie.

tumorali tanto che il 20% dei tumori maligni è ad essa associato (Mantovani et al., 2008) ed è un fattore di ricaduta nei pazienti oncologici considerati “cancer free”. Occorrono in genere molti anni prima della comparsa di una neoplasia, perciò l’invecchiamento della popolazione rappresenta un’importante causa dell’ aumento di patologie cronicodegenerative e di tumori. Oggi però si assiste ad un incremento dei tumori nella generazione X (nati dal 1965 al 1980) (Rosemberg, 2024) e risulta che le diagnosi di cancro ad esordio precoce (al di sotto dei 50 anni) sono aumentate del 79% dal 1990 al 2019 (BMJ Oncol., 2023). Per questo motivo, è sempre più necessario ridurre i fattori di rischio che possono determinare modificazioni epigenetiche aberranti e maggior rischio tumorale e sottoporsi a programmi di prevenzione oncologica. Tutto ciò per prevenire o diagnosticare precocemente una neoplasia, o intercettare condizioni predisponenti, soprattutto in presenza di anamnesi familiare oncologica positiva.

La prevenzione primaria in oncologia

Il cancro, fra le malattie croniche, è quella che può beneficiare in misura maggiore della **prevenzione primaria** fondata su strategie che intervengono su fattori ambientali e stile di vita che ne promuovono lo sviluppo. Dall’analisi dei dati riportati dall’ *American Association for Cancer Research* (2013) si evince come l’eliminazione dell’abitudine al fumo ed all’alcool, la correzione del regime dietetico e la lotta alla sedentarietà potrebbero ridurre l’incidenza di oltre il 60% dei tumori. La prevenzione primaria si avvale oggi anche dell’esecuzione di specifiche indagini che possono intercettare un aumento del rischio tumorale. Parliamo in tal caso di **prevenzione attiva**.

Il cambiamento degli stili di vita

Attività preventiva può essere attuata modificando gli stili di vita e combattendo le cause di infiammazione cronica (Tab. pag. 13): numerosi studi dimostrano i rapporti diretti fra dieta infiammatoria e cancro. Anche una recente metanalisi conferma un effetto diretto sullo sviluppo di cancri urologici al rene ed alla prostata (Dai et al., 2024). Risulta quindi di indubbia importanza l’adozione di un **regime dietetico antinfiammatorio**, quale è la “**Dieta Mediterranea**”, e l’**attività fisica quotidiana**. Tale binomio è importante a tutte le età della vita ed anche nei soggetti anziani. Nei processi di invecchiamento si verifica infatti un aumento dell’infiammazione sistemica ed un aumento del rischio di sviluppare malattie non trasmissibili di tipo cronicodegenerativo e tumorali che sono spesso associate con aumento dei costi socio-sanitari.

Il Regime dietetico antinfiammatorio e comportamentale per la prevenzione oncologica

01-Consumare cibi semplici, poco elaborati. Evitare eccessi alimentari (alimenti ad alto indice glicemico e pasti ricchi di proteine animali che sono causa di insulinoresistenza) **e pasti irregolari. Variare i macronutrienti nell'arco della settimana. Praticare una moderata restrizione calorica o il digiuno intermittente** (ad esempio 2 giorni di restrizione calorica/ 5 di alimentazione abituale). **Allungare l'intervallo temporale fra il pasto della sera e la prima colazione del mattino.**

È stato osservato che il digiuno riduce i valori di IL-1 beta e l'infiammazione sistemica (*Pereira et al., 2024*);

02-privilegiare il consumo di alimenti di origine vegetale di stagione, di provenienza locale a "km 0" (verdure, ortaggi, legumi, frutta fresca ed a guscio), **ricchi di fitochimici** (polifenoli, terpeni, composti organosolfuri, fitosteroli), **vitamine antiossidanti** (vit. A, vit. E, vit. C), **minerali. Consumare 3 porzioni di verdura e 2 di frutta al giorno adottando la regola dei 5 colori della salute;**

03-consumare pane e pasta da farina integrale, meglio se da grani antichi;

04-condire e cucinare con olio extravergine di oliva fonte principale dei salutari grassi monoinsaturi (come alternativa utilizzare olio di arachidi o di girasole);

05-consumare cibi ricchi di acidi grassi monoinsaturi (frutta a guscio, semi oleosi, avocado, etc.) e **polinsaturi omega-3** (pesce azzurro, salmone selvaggio, noci, semi di lino, chia, canapa), **acidi grassi saturi a catena corta** (SCFA) quali l'acido butirrico che si genera dalla fermentazione di fibre solubili di legumi e frutta;

06-consumare vegetali ricchi di fibra insolubile e idrosolubile;

(Le fibre idrosolubili, fornite da legumi e frutta, sono fermentabili e rappresentano un nutrimento per il microbiota intestinale. Hanno effetto prebiotico e favoriscono la crescita e l'attività dei batteri intestinali. Portano alla formazione di acidi grassi a catena corta SCFA (Short Chain Fatty Acids) quali l'acido butirrico che ha attività antinfiammatoria;

Le fibre insolubili, fornite da cereali integrali e verdure, non sono fermentabili, trattengono acqua, aumentano la massa fecale, la velocità di transito nel lume intestinale, riducono l'assorbimento di nutrienti ed il contatto con composti nocivi).

07-moderare il consumo di acidi grassi saturi (carne rossa, carne processata, formaggi stagionati) ed **escludere acidi grassi idrogenati/trans dal regime dietetico** (margarina, panna vegetale, prodotti da forno confezionati, biscotti, croissant, merendine, cracker, grissini, taralli, patatine in busta, pietanze dei fast food, condimenti pronti e salse, etc.);

08-consumare pesce di piccola taglia (pesce azzurro), **carne bianca** (soprattutto pollo e tacchino, 2 volte alla settimana), **uova biologiche** (cod. 0) tre volte alla settimana;

09-limitare il consumo di latte animale (soprattutto nei malati oncologici in quanto ricco di fattori di crescita), **consumare latte vegetale** (soia, avena, riso, orzo), **yogurt bianco** 0% grassi o **Kefir**, senza zuccheri aggiunti;

10-consumare settimanalmente formaggi freschi (caprini) e **ricotta** (pecora). **Limitare i formaggi stagionati** da consumare soprattutto come condimento o in piccole dosi (50 g/settimana);

11-insaporire il cibo con erbe aromatiche e spezie quali la **miscela di Oh** (vedi approfondimenti) **limitando il sale da cucina** per le sue azioni nocive;

12-bere 1,5-2 litri di acqua al giorno (almeno 8 bicchieri), tè verde, tisane, limone spremuto in acqua tiepida al mattino a digiuno per contrastare l'acidità e favorire la regolarità intestinale (il limone inoltre apporta vitamina C, innalza il pH urinario, incrementa l'eliminazione di citrati, riduce il rischio di calcolosi urinaria di acido urico, favorisce l'assorbimento del ferro non eme quando spremuto sulle verdure) e solo una **moderata quantità di vino rosso** (< 1 bicchiere al dì) sempre a fine pasto, **evitare i superalcolici**;

13-moderare il consumo di dolci e zuccheri, preferire i **dolci casalinghi** ed il **cioccolato fondente** ad alta concentrazione di cacao (>70%) che è una ricca fonte di antiossidanti. **Dolcificare con miele** con moderazione meglio che con zucchero e dolcificanti. **Evitare le bevande dolcificate** che causano disbiosi, diabete e rischio oncogeno;

14-privilegiare alimenti a basso indice e carico glicemico per contenere l'incremento della glicemia e dell'insulinemia e contrastare lo stato infiammatorio.

(Indice glicemico = esprime la capacità di un alimento di elevare i valori della glicemia rispetto allo standard di riferimento rappresentato dal glucosio puro.

Carico glicemico = esprime la quantità di carboidrati contenuti nell'alimento.)

Nutrienti e Fitochimici della Dieta mediterranea (MeD)

CARBOIDRATI

I carboidrati della MeD sono forniti da cereali integrali, legumi, frutta fresca.

Cereali integrali: frumento, riso, orzo, mais, avena, segale. I chicchi interi dei cereali contengono amido, proteine, vit. gruppo B, vit. E, polifenoli, grassi soprattutto insaturi, fibra, minerali.

PROTEINE

-Legumi e cereali, verdure, frutta a guscio, semi, carne bianca, uova, latte, yogurt, formaggi, ricotta.

GRASSI SALUTARI

-**Acidi grassi monoinsaturi:** olio e.v.o., frutta a guscio, semi oleosi, arachidi, avocado

-**Acidi grassi polinsaturi omega-3:** noci, pesce azzurro, salmone selvaggio, semi di lino

-**Acidi grassi saturi a catena corta** (SCFA) quali l'acido butirrico che si forma per fermentazione di fibre solubili di legumi e frutta.

VITAMINE E SALI MINERALI

-**Vitamine idrosolubili (C,B) e liposolubili (A,D,E,K) - Sali minerali:** frutta, verdura e cereali integrali.

FIBRA ALIMENTARE

-**Fibra idrosolubile e insolubile:** verdure, legumi, frutta fresca, frutta a guscio, cereali integrali, semi oleosi.

ALCUNI FITOCHIMICI DELLA DIETA MEDITERRANEA

-**ACIDO CLOROGENICO (acido caffeico - acido quinico):** caffè, carciofo

-**ACIDO ELLAGICO - ELLAGITANNINI:** melagrana, lamponi, fragole, mirtilli rossi, more

-**ALLICINA:** aglio, cipolla

-**ANETOLO:** finocchio, coriandolo, anice stellato, aneto

-**ANTOCIANINE:** uva nera, frutti di bosco, ciliegie nere, arance rosse, mela annurca, cavolo cappuccio rosso, fagioli azuki

-**APIGENINA:** aromi (basilico, origano), camomilla, sedano

-**CAPSAICINA:** peperoncino

-**CAROTENE BETA (Carotenoide)** carote, anguria, zucca, arancia rossa, cachi, ciliegie nere

-**CATECHINE, EPIGALLOCATECHINA-GALLATO (EGCG) :** tè verde

-**CINARINA:** carciofo

-**CURCUMIN-CURCUMINOIDI:** Curcuma longa

-**EUGENOLO:** chiodi di garofano, basilico, cannella, pimento

-**FISETINA, KAEMFEROLO, MIRICETINA:** fragole, mele, cachi, cipolle, cetrioli, uva

-**FITOSTEROLI:** oli vegetali, semi oleosi, noci, cereali, legumi

-**FLAVANOLI, PRO-ANTOCIANIDINE:** cioccolato fondente (> 70% di cacao)

-**FOLATI:** verdure a foglia verde, legumi, kiwi, fragole, arance, frutta a guscio

-**GINGEROLO:** ginger (zenzero)

-**ISOFLAVONI DELLA SOIA (Genisteina, Daidzeina, Gliciteina):** tofu, fagioli di soia, latte di soia, tempeh, miso

-**ISOTIOCIANATI (Sulforafano, erucina, indolo-3-carbinolo, di-indolil-metano):** broccoli, broccola

-**LUTEINA E XEAXANTINA (Carotenoidi):** frutta e verdura giallo-verde

-**LICOPENE (Carotenoide):** salsa, succo e sugo di pomodoro, anguria, arancia rossa, pompelmo

-**OLEOUROPEINA, IDROSSITIROSOLO, OLEOCANTALE, SQUALENE:** olio extravergine di oliva

-**PARTENOLIDE:** partenio (amarella, amareggiola o erba marga)

-**PIPERINA:** pepe nero

-**QUERCETINA:** cipolla rossa, asparagi, mela rossa annurca, semi di chia, prezzemolo, capperi

-**RESVERATROLO:** uva nera, arachidi

-**SILIMARINA (miscela di silibina, silicristina, silidianina):** cardo mariano

-**TRICINA:** riso integrale

Meccanismi biologici della MeD e dei suoi fitochimici

La MeD, correttamente seguita nella formula originaria, è in grado di intervenire in modo specifico sui determinanti dell'invecchiamento cellulare ed esercitare attività preventiva nelle malattie cronic-degenerative e nei tumori.

1-attività antiossidante:

...neutralizzazione dei radicali liberi dell'ossigeno (ROS) per attivazione del fattore di trascrizione Nrf2 ed induzione di enzimi antiossidanti e detossificanti (glutazione perossidasi, catalasi, superossido-dismutasi);

...attività "scavenging": trasformazione dei ROS in composti inattivi;

...chelazione di metalli.

[Attività antiossidante si verifica per basse concentrazioni dei fitochimici dietetici. Alcuni composti (curcumin, resveratrolo, sulforafano, altri) hanno attività ormetica e quando sono assunti in concentrazioni elevate, come integratori, divengono pro-ossidanti);

2-attività antiproliferativa:

...inibizione del ciclo cellulare e induzione di apoptosi in cellule tumorali;

3-modulazione/inibizione di fattori di trascrizione (NF-kB, Nrf2, altri), **segnali di trasduzione** (PI3k/Akt/mTORC), **citochine pro-infiammatorie** (interleuchine), **enzimi** (ciclossigenasi COX-2, lipossigenasi, iNOS (*inducible Nitric Oxide Synthase*), metalloproteinasi della matrice, **prostaglandine PGE2**, derivanti dal metabolismo dell'acido arachidonico, **attivazione di enzimi deacetilanti** (Sirtuine) regolatori del metabolismo energetico;

4-attività favorevole sul microbiota intestinale con sviluppo di batteri salutari e formazione di acidi grassi saturi a catena corta (SCFA);

5-regolazione del metabolismo ormonale: inibizione di recettori ormonali (androgeni, estrogeni);

6-attività antiage: allungamento dei telomeri, attività senolitica e senomorfica, miglioramento della densità ossea e dell'attività cognitiva.

[**attività senolitica** =attivazione di meccanismi di autofagia di cellule senescenti;

attività senomorfica = riduzione degli effetti infiammatori causati dal secretoma bioattivo proinfiammatorio SASP (*Senescence Associated Secretory Phenotype*) prodotto da cellule senescenti];

7-regolazione epigenetica:

I componenti della MeD con i suoi fitochimici sono modulatori epigenetici in termini di metilazione del DNA, modifiche degli istoni e della espressione dei microRNA non codificanti, tanto da essere utili nelle malattie cronic-degenerative e nei tumori.

L'attività fisica per la salute

L'attività fisica quotidiana, un corretto stile di vita ed un regime alimentare antinfiammatorio (dieta mediterranea) permettono di vivere più a lungo in salute ed esercitano attività benefica anche nel malato oncologico. La pratica del camminare ha effetti favorevoli su organi ed apparati.

► Effetti Muscolari e Scheletrici

- a) migliora la massa, il tono, la forza muscolare e l'ossigenazione cellulare;
- b) aumenta la densità minerale ossea e previene l'osteoporosi;
- c) migliora l'elasticità, la funzionalità osteo-articolare e la postura;
- d) allevia il dolore lombosacrale;

► Effetti Cardiovascolari e Respiratori

- a) riduce la pressione arteriosa e migliora la funzione cardiocircolatoria;
- b) migliora l'attività respiratoria;
- c) riduce il rischio di mortalità per malattie cardiovascolari;

► Effetti Ormonali, Antinfiammatori, Metabolici

- a) riduce i livelli sierici di insulina, dei fattori di crescita (IGF-1= *Insulin Growth Factor-1*) e gli estrogeni circolanti;
- b) rilascia miochine con attività antinfiammatoria, riduce le citochine infiammatorie ed i markers dell'infiammazione;
- c) attiva enzimi deacetilanti (Sirtuine) che favoriscono la salute metabolica;

► Effetti sul Metabolismo dei Grassi e degli Zuccheri

- a) riduce la massa grassa, il grasso viscerale, l'infiltrazione dello stesso da parte dei monociti/macrofagi e l'infiammazione cronica di basso grado dovuta a liberazione di adipochine infiammatorie: di conseguenza ha effetti favorevoli nella sindrome metabolica e nella steatosi epatica non alcolica;
- b) riduce i lipidi sierici: ciò è dovuto alla capacità dei muscoli di utilizzare il grasso invece del glicogeno come substrato energetico;
- c) migliora l'assorbimento degli zuccheri, il controllo glicemico, riduce il rischio di diabete di tipo 2 ed è salutare nel diabete accertato. Migliora la resistenza insulinica e l'emoglobina glicata;

► Effetti sul Microbiota e l'attività intestinale

- a) favorisce la regolarità intestinale e riduce il tempo di contatto della mucosa intestinale con sostanze potenzialmente cancerogene;
- b) modifica la composizione qualitativa e quantitativa del microbioma intestinale, favorisce la formazione di acidi grassi saturi a catena corta quali il butirrato. Ha attività protettiva nelle malattie infiammatorie intestinali;

► **Migliora l'ossigenazione cerebrale, le funzioni cognitive ed i processi di memorizzazione** per azione della miochina irisina e per aumento del

fattore neurotrofico cerebrale BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor*), **riduce lo stress, migliora il tono dell'umore** per la produzione di endorfine **e la qualità del sonno, migliora le malattie neurodegenerative** (morbo di Parkinson e Alzheimer);

► **Stimola positivamente il sistema immunitario** quando l'attività fisica è di grado moderato e determina **l'aumento dei linfociti T, B, delle cellule *Natural killer* (NK), delle immunoglobuline e la diminuzione delle citochine pro-infiammatorie e dei markers dell'infiammazione.**

Al contrario l'attività fisica intensa e prolungata determina una maggiore produzione di citochine pro-infiammatorie (IL-1 beta, TNF-alfa, altre), il rilascio di cortisolo, di catecolamine dalle ghiandole surrenali ed immunodepressione. L'attività fisica intensa inoltre aumenta la produzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) come risultato del metabolismo aerobico nei mitocondri;

► **Riduce il rischio neoplastico** (cancro del seno, colon, endometrio, etc.), **contrastata la progressione tumorale, ha azione coadiuvante le terapie antitumorali, riduce l'intensità del dolore nei pazienti con storia di cancro** (*Swain et al., 2024*);

► **Attività fisica e dieta mediterranea determinano modificazioni epigenetiche favorevoli, riducono l'infiammazione, i livelli di stress ossidativo e abbassano il tasso di accorciamento della lunghezza dei telomeri** se l'attività fisica è di grado moderato;

► **Riduce la mortalità per tutte le cause quando è associata alla dieta mediterranea.** Da recenti studi risulta che il rischio decresce con l'aumento del numero dei passi al giorno (8000-10.000 passi per età inferiori a 60 anni e 6000-8000 passi per età superiori).

Conclusioni: l'attività fisica moderata praticata quotidianamente determina reali vantaggi per il benessere e la salute ed ha un ruolo favorevole nella prevenzione primaria in oncologia riducendo l'infiammazione cronica di basso grado. Inoltre contrasta la sarcopenia che è una condizione presente nel 30% degli individui di oltre 60 anni e addirittura nel 50% al di sopra degli 80 anni. Gran parte degli effetti positivi sono dovuti al rilascio da parte del muscolo scheletrico di citochine (miochine) tanto che esso si comporta, a tutti gli effetti, come un organo endocrino. Inoltre attraverso la contrazione muscolare è in grado di rilasciare microRNA che determinano modificazioni epigenetiche a livello del muscolo scheletrico con effetti sul metabolismo sistemico (*Plaza-Diaz et al., 2022*).

“ L’attività fisica esercita effetti salutari su organi ed apparati ”

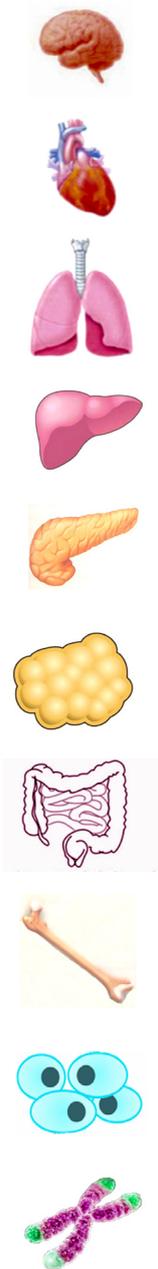
Il muscolo scheletrico, in risposta all’esercizio fisico, produce e secerne centinaia di miochine (citochine) con attività autocrina, paracrina ed endocrina con effetti sul metabolismo glicidico e lipidico, sulla formazione ossea, sulla funzione cardiovascolare, intestinale, immunitaria, etc. Fra le miochine con attività antinfiammatoria risultano: miostatina, IL-6, IL-8, IL-10, IL-15, Irisina, BDNF, Fattore LIF, Sparc, FGF-21, altre.



La sedentarietà e l’inattività fisica rappresentano una delle principali cause di sovrappeso, obesità e malattie non trasmissibili.

Al contrario qualsiasi tipo di attività fisica può apportare benefici per la salute, non solo se praticata regolarmente e di durata ed intensità sufficienti ma anche quando viene svolta nelle attività lavorative e domestiche.

Soggetti adulti dovrebbero effettuare almeno 30 minuti di vita attiva al giorno e 150-180 minuti alla settimana di attività fisica dedicata.



“Forest Bathing” - Il bagno nella foresta

Il **bagno nella foresta** (*Forest bathing*), o *Shinrin-yoku*, è una pratica molto seguita dalla medicina giapponese. Essa si basa su camminate nei boschi a contatto con la natura, ascoltando i suoni, contemplando l'ambiente circostante e respirando i profumi emanati da alcuni tipi di piante. L'immersione contemplativa nel verde della foresta di faggi (sono noti i faggi di Javello - Vaiano), querce, betulle, aceri, pini, larici, abete rosso, favorisce la diminuzione del cortisolo plasmatico, della frequenza cardiaca, migliora l'ossigenazione, la salute mentale, riduce l'ansia, esercita un effetto antidepressivo ed antistress. Durante il periodo estivo queste piante emettono una grande quantità di sostanze aromatiche volatili, note come monoterpeni. Questi composti, insieme agli oli essenziali del legno delle piante, svolgono un'azione favorevole sul sistema immunitario ed incrementano il numero e l'attività delle cellule *Natural Killer* (NK) (Chae et al., 2021). La concentrazione maggiore dei terpeni si ha proprio in vicinanza del tronco dell'albero, tanto che abbracciare gli alberi rivestirebbe un'azione salutare per l'organismo. È possibile ricevere effetti benefici anche dalle componenti visiva, uditiva ed olfattiva che derivano dall'immersione nell'ambiente per alcune ore e dalla vicinanza degli alberi che emettono le sostanze volatili (fitoncidi). Da studi recenti pare che la sola componente visiva, ottenuta con la realtà virtuale, sia in grado di abbassare i livelli di cortisolo ed il grado di stress.



“Forest Bathing nella foresta di faggi”

La prevenzione attiva

La **prevenzione attiva** può essere attuata con un programma quale è “*Cancer Driver Interception*” (Intercettazione delle cause dei tumori solidi) secondo il *protocollo Helixafe*, elaborato dagli esperti del *Bioscience Institute*. Esso mira ad identificare le cause individuali di aumento del rischio tumorale ma permette anche di valutare il rischio di progressione in soggetti affetti da patologia neoplastica in modo da adottare i provvedimenti più efficaci.

Il protocollo diagnostico comprende:

- a) **la ricerca di instabilità genomica:** il test è in grado di intercettare instabilità genomica che dipende dall'accumulo di modificazioni genetiche ed epigenetiche nelle cellule somatiche che rappresentano un importante fattore di rischio per lo sviluppo del cancro;
- b) **l'identificazione di infiammazione cronica:** il test consiste nel determinare e nel monitorare i livelli ematici di citochine pro-infiammatorie fra cui la proteina-C-reattiva (PCR). L'infiammazione cronica, dovuta a varie cause, è una condizione pro-tumorale ed è responsabile della progressione neoplastica nei soggetti con tumore;
- c) **l'identificazione di disequilibri del sistema immunitario:** il test permette di valutare l'efficienza del sistema immunitario;
- d) **l'identificazione di disequilibri del microbiota:** il microbiota può avere un ruolo nello sviluppo di tumori per effetto oncogeno diretto, favorendo alterazioni metaboliche (sindrome metabolica/obesità) e intervenendo nello sviluppo e nel mantenimento dello stato infiammatorio che aumenta l'instabilità genomica.

L'instabilità genomica

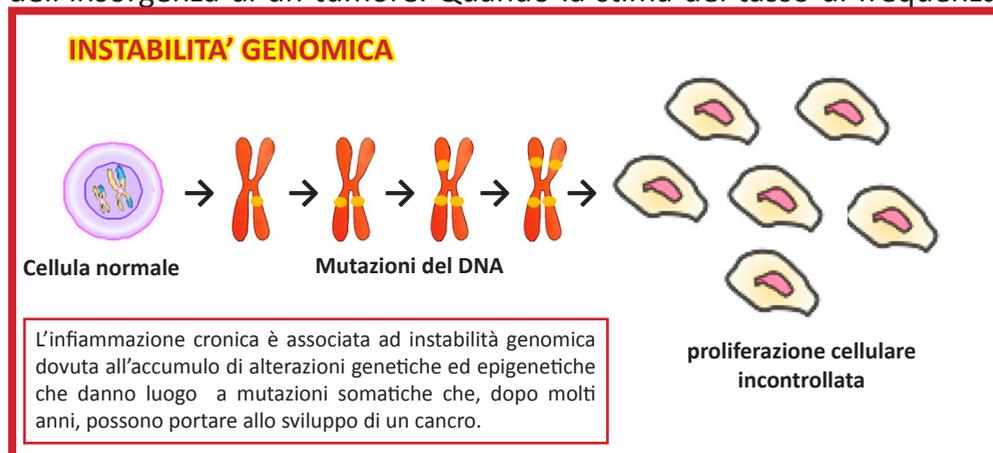
L' **instabilità genomica** consiste nell'accumulo di alterazioni genetiche ed epigenetiche del genoma di cellule somatiche. L'instabilità può interessare singoli nucleotidi ed essere caratterizzata dalla comparsa di **mutazioni somatiche puntiformi** nella sequenza dei geni (SPM = *Somatic Point Mutations*) e **mutazioni a carico dei cromosomi**. L'instabilità a livello cromosomico è la condizione più frequente e si manifesta con variazioni del numero di copie (SCNA = *Somatic Copy Number Alterations*), con la loro perdita, o perdita di parti di esse, o l'acquisizione di interi cromosomi, la generazione di nuovi geni e l'amplificazione genica. (*Per amplificazione genica si intende la replicazione del DNA in una specifica regione cromosomica che porta alla formazione di copie*

della stessa sequenza di DNA. L'amplificazione di oncogeni si associa a progressione neoplastica ed a resistenza ai chemioterapici).

Gran parte delle cellule con instabilità genomica viene eliminata dall'organismo; se ciò non accade è possibile l'evoluzione verso una neoplasia. Sia le mutazioni puntiformi sia le alterazioni cromosomiche sono associate al cancro; tra la comparsa della prima mutazione e le manifestazioni della malattia possono passare anche 30 anni.

Instabilità genomica è una caratteristica delle cellule tumorali ed ogni tumore è costituito da cloni cellulari geneticamente differenti. Solo in un numero modesto di casi le mutazioni sono ereditarie e trasmesse attraverso le cellule germinali, come avviene per i geni BRCA-1 e 2 (vedi approfondimenti). Nella maggior parte dei casi le mutazioni sono acquisite e si manifestano in tessuti specifici per azione di fattori ambientali ed infiammazione cronica di basso grado che è causa di instabilità genomica e danni al DNA che accumulandosi progressivamente possono portare allo sviluppo di un tumore.

Instabilità genomica è associata allo stadio prodromico di sviluppo di una neoplasia: esso dura molti anni durante i quali le cellule accumulano mutazioni somatiche in soggetti apparentemente sani o che presentano uno stato infiammatorio cronico di basso grado rilevabile con la determinazione di citochine pro-infiammatorie (interleuchine). Utilizzando tecniche di sequenziamento del DNA libero circolante (cfDNA=*cell free DNA*) su di un campione ematico si possono sequenziare contemporaneamente un numero elevato di frammenti di DNA, valutare il tasso di mutazioni somatiche e la stabilità genetica di un individuo. La mancanza di stabilità è un indicatore di maggior rischio dell'insorgenza di un tumore. Quando la stima del tasso di frequenza



di mutazioni somatiche e germinali viene eseguita in tempi successivi può fornire un'indicazione dell'instabilità genomica e della fase prodromica del cancro. Quest'ultima può essere contrastata modificando lo stile di vita e utilizzando integratori alimentari/farmaci. L'analisi dell'instabilità genomica può essere eseguita anche dopo la diagnosi di cancro per poter valutare, ad esempio, la risposta alle terapie. I test di instabilità genomica e quelli di suscettibilità alla predisposizione a sviluppare un tumore ereditario vengono effettuati sul sangue periferico utilizzando la moderna tecnologia di sequenziamento NGS (*Next-Generation Sequencing*). I **test di instabilità genomica** danno indicazioni sullo aumento del rischio di contrarre una neoplasia e consentono di adottare provvedimenti mirati. I **test di suscettibilità** permettono di identificare le cause genetiche delle forme tumorali ereditarie presenti in famiglia. I portatori di una variante genetica ereditaria corrono un rischio maggiore di sviluppare alcuni tipi di cancro (seno, ovaio, prostata, pancreas, stomaco, colon, tiroide, cervello). Per questi individui potranno essere pianificati programmi di screening personalizzati.

L'infiammazione cronica

L'infiammazione è una manifestazione dell'attività del sistema immunitario i cui attori principali sono le cellule dell'immunità innata. Gli stimoli che attivano la risposta infiammatoria possono essere molto diversi: agenti biologici, fisici, chimici ma anche errori o alterazioni del metabolismo quali la dislipidemia e la gotta. In presenza di ipercolesterolemia il colesterolo forma dei cristalli che il sistema immunitario percepisce come dannosi ed attiva una risposta infiammatoria che è alla base dell'arteriosclerosi. In presenza di iperuricemia la risposta infiammatoria si attiva per la presenza dei cristalli di acido urico. L'infiammazione è un evento indispensabile per la sopravvivenza e la salute dell'individuo quando è limitata nel tempo; ma se è persistente, anche se di basso grado, esercita effetti negativi dovuti alla produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto (RNS) e stress ossidativo che danneggiano le proteine, i lipidi ed il DNA cellulare non risparmiando neppure le cellule staminali. L'infiammazione, caratterizzata da livelli di citochine pro-infiammatorie costantemente elevati, è associata ad immunosoppressione, aumento della metilazione del DNA, riduzione dell'espressione di geni e microRNA oncosoppressori ed è responsabile di instabilità genomica. Questi fenomeni sono associati allo sviluppo del cancro tanto che oltre

il 20% dei tumori è causato o aggravato da infiammazione cronica (Mantovani A. et al., 2008). Nelle malattie tumorali condizioni infiammatorie con manifestazioni cliniche o subcliniche sono spesso presenti prima che si sviluppi una neoplasia. Inoltre nei tumori solidi è presente un microambiente infiammatorio che favorisce la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule tumorali maligne, promuove l'angiogenesi e le metastasi, sovverte le risposte immunitarie adattative e modifica le risposte alle terapie ormonali ed agli agenti chemioterapici causando resistenza alle cure.

Il **microambiente tumorale** è costituito da una complessa network che include cellule tumorali, cellule stromali multipotenti/cellule staminali mesenchimali, fibroblasti, vasi sanguigni, precursori delle cellule endoteliali, periciti (cellule mesenchimali con funzioni contrattili che circondano le cellule endoteliali), cellule immunitarie (macrofagi, linfociti T ed NK), citochine infiammatorie (interleuchine, TNF-alfa, etc), specie reattive dell'ossigeno (ROS). Macrofagi e Fibroblasti rappresentano la componente cellulare predominante. Quando sono attivati sono denominati rispettivamente TAM (*Tumor Associated Macrophages*) e CAF (*Cancer Associated Fibroblast*). Questi elementi cellulari facilitano la comunicazione e l'interazione fra le cellule. TAM rilasciano fattori di crescita, citochine (IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa), chemochine, enzimi, etc. CAF provvedono alla sintesi della matrice extracellulare (ECM) e rilasciano metalloproteinasi (MMP) degradanti la matrice. TAM e CAF concorrono alla crescita tumorale, all'invasione, alle metastasi, alla soppressione immunitaria ed alla resistenza alle terapie. Tra i mediatori contenuti nei granuli delle cellule del sistema immunitario troviamo una famiglia di molecole, le citochine, che attivano, governano e orientano la risposta infiammatoria. Si riconoscono le interleuchine (Il), i fattori di necrosi tumorale (TNF), gli interferoni (IFN) ed i fattori di crescita emopoietici.

Il dosaggio ematico di marcatori biologici come le citochine pro-infiammatorie o, più semplicemente, la PCR permettono di diagnosticare l'infiammazione cronica.

Essa richiede l'adozione di misure comportamentali e terapeutiche (regime alimentare, fitocomposti antinfiammatori) che possono essere utili anche nei pazienti con neoplasia accertata nei quali il controllo dell'infiammazione cronica riduce il rischio di progressione ed aumenta la sopravvivenza.

Numerose citochine pro-infiammatorie possono essere dosate con un prelievo ematico.

È così possibile diagnosticare un'inflammatione cronica di basso grado, come quella presente nei pazienti con malattie metaboliche (sindrome metabolica, etc.), seguire il decorso di una patologia infiammatoria specifica, o di una neoplasia, e talvolta orientare alla diagnosi e guidare nella terapia. Si conoscono citochine con attività pro-tumorale ed altre con attività antinfiammatoria. Citochine pro-infiammatorie sono prodotte da cellule del sistema immunitario e da cellule tumorali. Fra le numerose molecole possono essere dosate le interleuchine (IL) 2, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 17A, il GM-CSF (*Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor*), il TNF-alfa (*Tumor Necrosis Factor - alfa*), gli interferoni (IFN) alfa e gamma. TNF-alfa ed IL-6 sono potenti attivatori del fattore di trascrizione NF-kB. Le molecole IL-6, IL-17A, TNF-alfa incrementano in presenza di tumori e sono associate a progressione neoplastica. Recenti studi dimostrano che l'aumento di concentrazione di TNF-alfa e CEA (antigene carcinoembrionale) possono essere associati al cancro gastrico. TNF-alfa ha un ruolo maggiore nello stabilire un link fra infiammazione e cancro, mentre livelli sierici elevati di CEA forniscono informazioni prognostiche nei pazienti operati per la neoplasia (Rosu et al., 2022). TNF-alfa promuove la proliferazione, la migrazione e l'invasione di cellule tumorali nei tumori dello stomaco, colon, seno, reni. La citochina inoltre aumenta l'espressione di integrina alfaV che promuove la crescita, la migrazione e l'invasione di cellule tumorali nel cancro dello stomaco e rappresenta un possibile bersaglio molecolare (Hwang M.A. et al., 2023). La determinazione dell'espressione di IL-6 è un utile marker di suscettibilità a diversi tipi di tumore ed alla diagnosi di alcune neoplasie (stomaco, polmone, fegato, seno, mieloma multiplo). Elevati livelli di espressione di questa citochina sono inoltre associati a cachessia in pazienti con carcinoma prostatico (CaP) (Wang X. et al., 2021). IL-6 induce la produzione di proteine infiammatorie della fase acuta nel fegato come la PCR che rappresenta un esame affidabile nelle patologie infiammatorie e tumorali. La determinazione di questa glicoproteina è utile anche come marcatore di eventi cardiovascolari asintomatici (scompenso cardiaco congestizio, miocardite, etc.) e dell'artrite reumatoide. Per una stima del rischio cardiaco può essere determinata la PCR ad alta sensibilità (hsCRP) che è in grado di rilevare bassi livelli della molecola nel circolo ematico. Le concentrazioni di

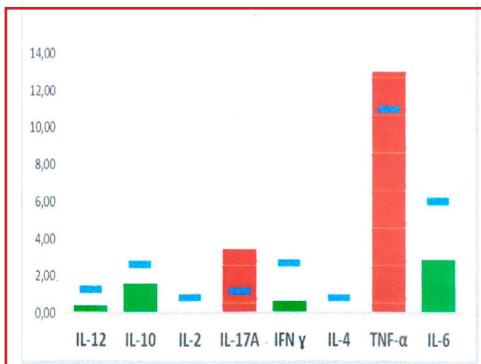
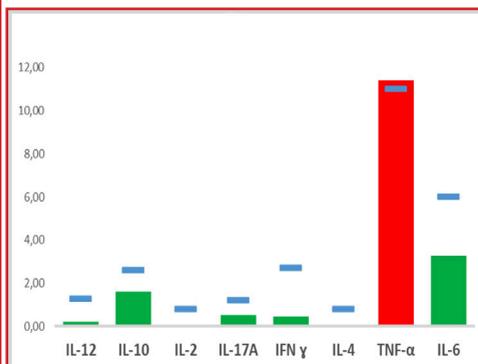
IL-17a aumentano nel siero di soggetti con tumori del colon-retto, seno, pancreas. IL-17A ed il suo recettore IL-17RA possono essere possibili markers nel carcinoma della prostata (Kielb et al., 2023) e fattori prognostici del rischio di CaP aggressivi: infatti IL-17 promuove l'angiogenesi, inibisce l'apoptosi, favorisce la proliferazione delle cellule tumorali e crea un microambiente favorevole alla crescita neoplastica ed alle metastasi. IL-17A, prodotta dall'attivazione di linfociti T CD4+, svolge un ruolo pro-infiammatorio perchè induce la produzione di GM-CSF (*Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor*) e di chemochine come CXCL1 (*C-X-C motif chemokine ligand 1*). GM-CSF stimola la crescita dei precursori di diverse cellule del sangue, tra cui i granulociti ed i macrofagi. IL-17A svolge anche un ruolo nell'infiammazione cronica associata alla patogenesi di malattie autoimmuni, allergie e nello sviluppo della psoriasi.

Le **chemochine** sono citochine chemotattiche componenti del microambiente tumorale responsabili della migrazione ed infiltrazione dei tessuti da parte di cellule immunitarie. CXCL1 ha un ruolo importante nello sviluppo e progressione tumorale. Mantenere bassi livelli di citochine pro-infiammatorie può ridurre i fattori di rischio correlati allo sviluppo di un tumore ma anche rallentare la progressione neoplastica in pazienti con neoplasia accertata. IL-10 ha la caratteristica di contenere ed eventualmente far terminare le reazioni infiammatorie. Al contrario TNF-alfa è una citochina fondamentale nel mantenimento dell'infiammazione sistemica. Quando i suoi livelli rimangono elevati sostengono un quadro di infiammazione cronica che può danneggiare i tessuti e contribuire anche allo sviluppo di ipertensione arteriosa e aterosclerosi. Nei tumori il TNF contribuisce all'immunosoppressione e favorisce la crescita tumorale. Da quanto esposto risulta utile il periodico monitoraggio di questa ed altre molecole e l'adozione di provvedimenti atti a ridurre i livelli di infiammazione, quando presenti, ricorrendo ad un regime dietetico antinfiammatorio (dieta mediterranea) e all'impiego di fitochimici con attività antiossidante, antinfiammatoria ed immunomodulante (Paudel S. et al, 2023). Fra i fitocomposti risultano efficaci la curcumina, l'epigallo-catechina-gallato (EGCG), gli isotiocianati (sulforafano, erucina, indolo-3-carbinolo, di-indolil-metano), ellagitannini (acido ellagico), la fisetina, la quercetina, il resveratrolo, il licopene, le antocianine ed altri fitochimici della dieta mediterranea (Tab. pag. 17).

NEOPLASIA	CITOCHINE	ASSOCIAZIONE
Seno	IL-1beta , TNF-alfa IL-6	...Stadio avanzato ...progressione neoplastica
Polmone (Ca. a piccole cellule)	IL-17 IL-10	..Stadio della neoplasia ...Angiogenesi
Stomaco	IL-10, 12, 18 IL-1 alfa IL-1 Beta, IL-18 IL-6 TNF-alfa	...Progressione neoplastica ...Metastasi ...Proliferazione neoplastica ...Stadio della neoplasia invasione venosa e linfatica ...Invasività cellule tumorali
Colon-retto	IL-6, 17, 23 IL-6 TNF-alfa	...Carcinomi aggressivi ...Incremento del rischio
Pancreas	IL-1beta, IL-6, 8, TGF-beta, TNF-alfa	...Progressione tumorale ...Proliferazione neoplastica
Ovaio	Aumento dei livelli di citochine	...Progressione neoplastica riduzione sopravvivenza
Prostata	IL-6 IL-17A	...Cachessia neoplastica ...Carcinomi aggressivi
Mieloma multiplo	IL-6	...Proliferazione neoplastica

Nella tabella viene riportata l'associazione di citochine con alcuni tumori maligni.

CITOCHINE: determinazione in Paz. con cancro



■ valore superiore a quello di riferimento
■ valore inferiore a quello di riferimento
■ valore di riferimento

Paz. N° 1: Determinazione di un pool di citochine in operato per carcinoma gastrico. È presente un modesto incremento di **TNF-alfa** e di **hs-PCR** (<0,16 mg/dL = basso rischio).

Paz. N° 2: Determinazione di un pool di citochine in paziente con carcinoma della prostata. È presente un incremento di **IL-17A** ed un modesto incremento di **TNF-alfa**. hs-PCR è nella norma.

Il disequilibrio del sistema immunitario

L'equilibrio del sistema immunitario è importante a qualsiasi età della vita ma, in modo particolare, nei soggetti anziani che risultano più esposti a noxe patogene. È possibile identificare disequilibri del sistema immunitario e segnali di invecchiamento delle difese immunitarie analizzando con citofluorimetria i **livelli di linfociti T e B**, il **rapporto fra linfociti CD4+/CD8+**, le **sottopopolazioni di monociti** e di **cellule NK** e **determinando i livelli di vitamina D**.

Se dai risultati ottenuti viene evidenziato un disequilibrio è possibile intervenire sullo stile di vita e con l'impiego di integratori.

● **Monociti, Macrofagi e Cellule dendritiche**

I monociti prodotti nel midollo osseo raggiungono tessuti danneggiati o infettati e possono differenziarsi in macrofagi e cellule dendritiche. Una volta attivati possono inglobare cellule o sostanze da eliminare e partecipano all'infiammazione sia promuovendola, sia favorendone la risoluzione. I macrofagi si dividono nelle classi M1 e M2 in base ad un diverso tipo di attivazione: la via classica M1 e la via alternativa M2. La prima è una via pro-infiammatoria caratterizzata dalla secrezione delle citochine IL-1, IL-6, TNF. La seconda, modulatrice del processo infiammatorio, è caratterizzata dalla secrezione di citochine antinfiammatorie IL-10, TGF-beta. I macrofagi associati al tumore nel microambiente tumorale di tumori solidi appartengono alla classe M2 (*TAM = Tumor Associated Macrophages*). I monociti si possono classificare in base alla presenza dei marcatori CD14 e CD16 sulla loro superficie. I monociti classici presentano un'alta espressione di CD14 mentre i monociti non classici presentano un'alta espressione di CD16. Dopo i 60 anni diminuiscono i monociti classici, si verifica un'elevata espressione del marcatore CD14, l'assenza di espressione del marcatore CD16 ed un aumento della capacità di produzione di molecole pro-infiammatorie.

● **Cellule Natural Killer (NK)**

NK sono cellule dell'immunità innata che possono distruggere cellule infettate da virus, cellule danneggiate e cellule tumorali. Possono attivare altre cellule immunitarie e produrre molecole che controllano l'infiammazione; inoltre producono Interferone gamma, che è una citochina che attiva i macrofagi. La popolazione anziana è caratterizzata da una minor produzione di cellule NK, da una maggiore percentuale di

elementi cellulari NK invecchiati e da riduzione della loro citotossicità che, corrispondentemente, si associa ad aumento della morbilità e mortalità. Alcuni cambiamenti possono essere monitorati osservando l'espressione dei marcatori CD56 e CD16 sulla superficie delle cellule NK. La diminuzione di cellule CD56bright, corrispondenti alla forma meno matura, e l'aumento di cellule CD56-CD16+ sono associate ad alterata produzione di molecole dell'infiammazione e rappresentano un fenomeno collegato con l'invecchiamento.

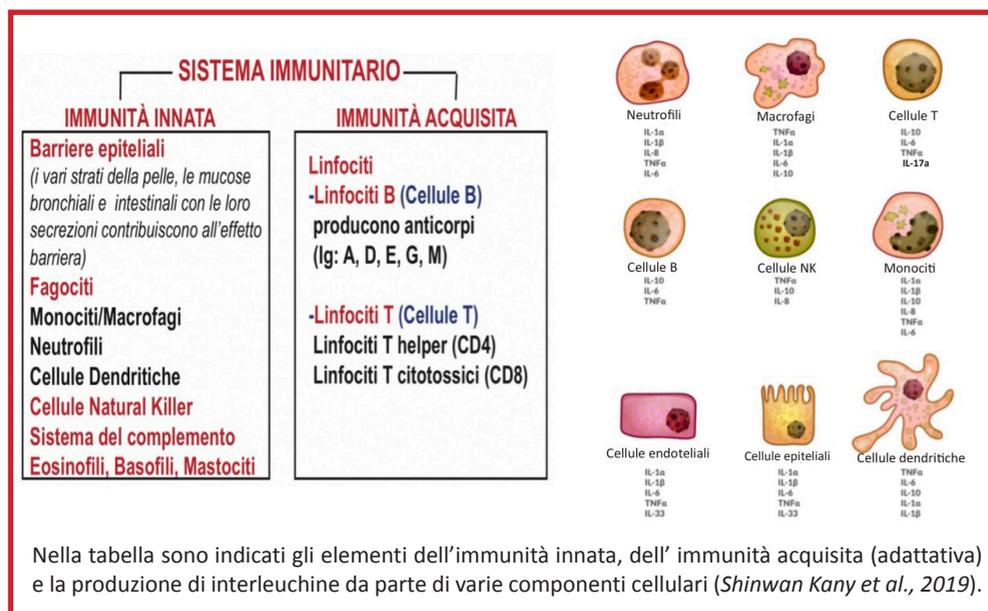
● **Linfociti B** dell'immunità acquisita sono responsabili della produzione di anticorpi, hanno un ruolo nell'attivazione dei linfociti T e secernono sostanze in grado di modulare l'infiammazione. Con l'avanzare dell'età e con l'infiammazione cronica diminuisce significativamente la produzione di nuovi linfociti B nel midollo osseo.

● **Linfociti T helper (CD4+)** dell'immunità acquisita sono globuli bianchi che entrano in azione in presenza di batteri, virus, funghi attivando e reclutando altre cellule immunitarie.

● **Linfociti T citotossici (CD8+)** uccidono le cellule infettate dai virus e le cellule tumorali.

● **Rapporto CD4+/CD8+** (risultato della divisione fra numero dei linfociti CD4 e linfociti CD8).

Con l'avanzare dell'età il numero totale dei linfociti T può diminuire



significativamente ma in modo particolare delle cellule T helper (CD4+) e dei linfociti citotossici (CD8+) tanto che si può verificare inversione del rapporto CD4+/CD8+. Percentuali elevate di linfociti T CD8+ combinate con bassi livelli di linfociti T CD4+ e scarsa proliferazione dei linfociti T nel sangue periferico rappresentano una condizione associata ad invecchiamento e ad aumento della mortalità in soggetti anziani. L'analisi del rapporto CD4+/CD8+ pertanto dà indicazioni sullo stato di salute del sistema immunitario e la sua inversione (valori inferiori ad 1) è un indicatore dell' aumento di rischio per la salute.

● **Vitamina D**

La vitamina D (calcitriolo) è un pro-ormone il cui recettore (VDR = *Vitamin D Receptor*) è presente in tutte le cellule dell'organismo. Numerosi sono i suoi meccanismi che coinvolgono molti distretti corporei. La vitamina ha un ruolo nell'omeostasi della matrice ossea, regola l'assorbimento del calcio e del fosforo, la mineralizzazione dello scheletro, la salute delle ossa e stimola la sintesi delle fibre muscolari. Ha effetti sull'apparato cardiovascolare (la sua carenza aumenta il rischio di ipertensione arteriosa, per stimolazione alla produzione di renina, scompenso cardiaco ed infarto), di malattie del sistema immunitario (malattie autoimmuni), di suscettibilità alle infezioni e di tumori. Livelli di Vit. D inferiori a 15 ng/ml determinano un marcato incremento di coronaropatia. Ma la vitamina è fondamentale per il funzionamento del sistema immunitario (immunità innata ed acquisita). Essa ha attività antiossidante ed antinfiammatoria inibendo la produzione di molecole infiammatorie nei monociti, nei macrofagi e nelle cellule dendritiche. Inoltre regola l'attività delle cellule NK e dei neutrofili. Influenza anche l'attività di linfociti B e T promuovendo l'aumento di molecole antinfiammatorie e la diminuzione di molecole pro-infiammatorie.

La vitamina D₃ viene sintetizzata dall'organismo grazie all'esposizione alla luce solare (raggi UVB) per almeno 10 minuti senza l'uso di creme protettive, mentre la sua disponibilità alimentare è modesta.

È presente, in alcuni pesci grassi (aringhe, sardine, sgombro, salmone selvaggio), nelle vongole, nelle uova (tuorlo), nei latticini, nell'olio di fegato di merluzzo come integratore. Il fabbisogno medio giornaliero della vitamina è pari a 1000-2000 UI. La sua carenza è frequente nei soggetti anziani. Ad essa si può sopperire mediante supplementazione con il precursore inattivo colecalciferolo. I livelli di sicurezza della vitamina sono stabiliti superiori a 50 ng/ml.

Il disequilibrio del Microbiota

Il **microbiota** è costituito da un' eterogeneità di microorganismi ospitati in molti distretti corporei fra cui l'intestino. L'insieme del genoma di tutti i microorganismi è detto **microbioma**. Il 99% del microbiota intestinale è costituito da batteri che appartengono, in prevalenza, ai *Bacteroidetes* (Gram negativi) ed ai *Firmicutes* (Gram positivi e Gram negativi). Si hanno anche *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Tenericutes* oltre a *Archaea*, *virus* e *funghi*.

Il microbiota intestinale, presente con maggiore densità nel colon, esercita effetti salutari per l'organismo producendo nutrienti e vitamine, proteggendolo da patogeni, supportando lo sviluppo ed il funzionamento del sistema immunitario e l'omeostasi della mucosa.

La composizione del microbiota è dinamica e dipende dall'età, dallo stile di vita, dall'alimentazione, attività fisica, stress, assunzione di farmaci, prebiotici, probiotici, simbiotici. Alterazioni del microbiota si verificano in particolare a causa di un regime alimentare non corretto con aumento del consumo di grassi alimentari (acidi grassi saturi e idrogenati), zuccheri e riduzione di alimenti vegetali. Un microbiota efficiente favorisce le difese immunitarie e protegge l'organismo dai danni derivanti dalla presenza di uno stato infiammatorio cronico. Disbiosi sono associate ad infiammazioni acute e croniche dell'intestino e ad aumento della permeabilità intestinale, a prodotti di origine batterica come i Lipopolisaccaridi (LPS) che possono causare endotossemia

ATTIVITA' DEL MICROBIOTA INTESTINALE	
Fermentativa	produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA = <i>Short Chain Fatty Acids</i>) per fermentazione delle fibre idrosolubili. Sono rappresentati da acetato, propionato e butirrato) e gas (H ₂ , CO ₂ , CH ₄ , H ₂ S) prodotti da parte di Bifidobatteri e Lattobacilli
Putrefattiva	porta alla formazione di sostanze tossiche quali ammoniaca, ammine, fenoli, tioli, indoli, gas. Avviene a livello del cieco e del colon ascendente in cui prevale la flora batterica saccarolitica e l'ambiente è più acido
Metabolizzazione degli acidi biliari	gli acidi biliari (acido colico e chenodesossicolico) sintetizzati dal fegato vengono trasformati in acidi biliari secondari a livello intestinale ed eliminati con le feci
Sintesi di alcune vitamine e aminoacidi	la flora batterica è responsabile della sintesi di vitamina K, vitamine del gruppo B, acido folico, biotina, acido pantotenico
Funzione trofica	avviene attraverso la proliferazione e differenziazione delle cellule epiteliali e la stimolazione del GALT (tessuto linfoide associato all'intestino)
Funzione protettiva	funzione di barriera che impedisce la penetrazione tissutale di agenti patogeni e di composti nocivi

Prebiotici - Probiotici - Simbiotici	
Prebiotici	Sostanze quali fibre non digeribili di frutta e verdura aumentano la crescita e l'attività del microbiota, mantengono l'integrità della barriera intestinale, favoriscono l'immunità locale, riducono l'infiammazione cronica di basso grado, migliorano la tolleranza al glucosio, la sensibilità all'insulina, il metabolismo lipidico. Alcuni prebiotici possono contribuire alla prevenzione del cancro agendo come antiossidanti e riducendo l'infiammazione.
Probiotici	Sono batteri vivi, in particolare Lattobacilli e Bifidobatteri, in grado di apportare benefici quando assunti come integratori o come cibi fermentati.
Simbiotici	Sono prodotti che combinano le proprietà dei probiotici a quelle dei prebiotici.

metabolica. Il microbiota ha un ruolo nello sviluppo della patologia tumorale con alcuni meccanismi:

a) **effetto oncogeno diretto**: alcuni batteri sono direttamente coinvolti nello sviluppo del cancro: *Helicobacter pylori* (adenocarcinoma esofageo e gastrico, linfoma gastrico, carcinoma coloretale), *Salmonella enterica typhi* (carcinoma della vescica), *Fusobacterium nucleatum* (adenoma del colon-retto), *Helicobacter hepaticus* (cancro del fegato), *Bacteroides fragilis* (cancro del colon-retto);

b) **favorendo alterazioni metaboliche** come l'obesità e la sindrome metabolica che causano infiammazione cronica di basso grado e rischio oncogeno. Il microbiota partecipa allo sviluppo ed al mantenimento dell'infiammazione che può promuovere lo sviluppo del cancro aumentando l'instabilità genomica. Le citochine modulate dal microbiota inoltre favoriscono la crescita tumorale;

c) **modificando le capacità protettive del sistema immunitario** con meccanismi immunosoppressivi;

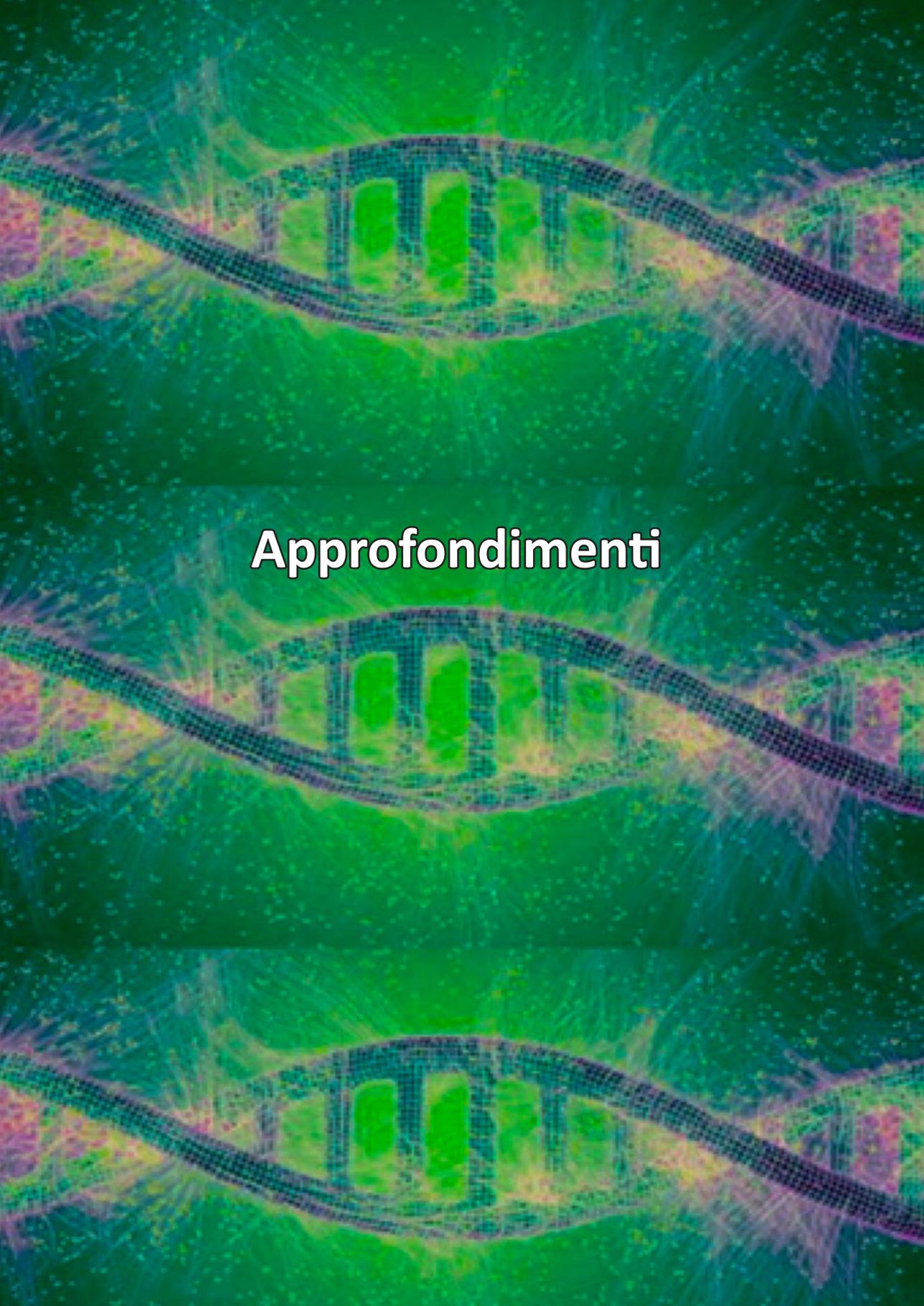
d) **partecipando all'infiammazione tipica dell'invecchiamento (inflammaging)**. Con l'avanzare dell'età il microbiota tende a perdere la capacità di fermentare i carboidrati mentre fermenta meglio le proteine. Si verificano degenerazione del sistema nervoso enterico, alterazioni della motilità intestinale, riduzione dell'efficienza protettiva della mucosa ed aumento della permeabilità intestinale ai lipopolisaccaridi (LPS), cioè ad endotossine batteriche che attivano il fattore di trascrizione NF-kB e possono scatenare infiammazione sistemica per liberazione di citochine pro-infiammatorie.

Con l'invecchiamento si ha minore diversità della popolazione batterica con aumento di alcune specie associate ad infiammazione rispetto ad altre. Si evidenzia infatti incremento dei *Proteobacteria* che sono associati ad infiammazione locale e sistemica, di *Escherichia coli* che è collegata a malattie infiammatorie croniche e di *Akkermansia muciniphila* che degrada la mucina (uno dei componenti della barriera intestinale). Si verifica invece diminuzione dei salutari *Bifidobatteri*, dei *Firmicutes/Bacteroidetes* e dei produttori di butirrato (SCFA) che è un regolatore dei mediatori dell'infiammazione.

CAMBIAMENTI DEL MICROBIOTA ASSOCIATI AD INVECCHIAMENTO			
Proteobacteria	↑	Bifidobatteri	↓
Akkermansia muciniphila	↑	Batteri produttori di butirrato	↓
Escherichia coli	↑	Firmicutes/Bacteroidetes	↓

Le **malattie infiammatorie croniche intestinali** si associano ad aumento di *Enterobacteriaceae*, *E.coli*, *Yersinia* e *Clostridium difficile* ed a riduzione dei *Clostridia* produttori di acidi grassi a catena corta. Nell'obesità si ha un aumento del rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes*, nel diabete di tipo 2 aumenta l'*Escherichia coli* e diminuiscono i *Clostridia* che si riducono anche nell'obesità. Il microbiota partecipa quindi allo sviluppo ed al mantenimento dell'infiammazione e può promuovere lo sviluppo del cancro aumentando l'instabilità genomica. Nei pazienti oncologici l'alterazione del microbiota può associarsi al fallimento della risposta all'immunoterapia ma anche a modificazione dell'efficacia di alcuni chemioterapici.

L'**analisi del microbioma intestinale** effettuata su di un campione biologico permette di identificare eventuali disequilibri. Metodiche di "Next Generation Sequencing" (NGS) consentono di disegnare il profilo della composizione microbica. La metodica più utilizzata è il sequenziamento del DNA ribosomiale 16S che rappresenta una regione altamente conservata presente nei batteri. I risultati ottenuti con l'analisi del microbioma intestinale permettono di stabilire il tipo ed il ruolo di microrganismi intestinali coinvolti nelle disbiosi e di correggere eventuali disequilibri con un idoneo piano alimentare e specifici integratori.



Approfondimenti

► Acidi nucleici

Gli acidi nucleici sono macromolecole rappresentate da DNA ed RNA.

● DNA (acido desossiribonucleico)

Il DNA è una lunghissima macromolecola (2 m) contenuta nel nucleo della cellula. La sua funzione è quella di custodire e trasmettere le informazioni genetiche (codice genetico). La molecola è composta da cromatina organizzata in **nucleosomi** che sono costituiti da **istoni** (32 milioni di essi sono operativi). Essi sono formati da proteine basiche. Coppie di istoni si aggregano a costituire un ottamero (8 istoni) attorno al quale il DNA si avvolge a rochetto. DNA + ottamero istonico formano un nucleosoma. I nucleosomi sono collegati fra loro in modo da formare una “collana di perle” (ogni perla corrisponde ad un ottamero - Fig. pag. 40). In questo modo il DNA può essere contenuto nel nucleo dove forma la **cromatina** (visibile durante l'interfase) ed i **cromosomi** (visibili durante la riproduzione cellulare) che contengono i **geni**. I cromosomi sono presenti in 23 coppie derivando dal corredo genetico della madre e del padre. DNA si trova anche nei **mitocondri** che risiedono nel citoplasma. All'estremità di ogni cromosoma si trovano piccole porzioni di DNA che formano i **telomeri** che si accorciano ad ogni divisione cellulare. **Il DNA è formato da subunità dette nucleotidi** ciascuno dei quali è composto da: uno zucchero (desossiribosio), un gruppo fosfato ed una “base azotata”. Sia il fosfato sia la base azotata sono legati allo zucchero con legami molecolari forti. Poichè esistono 4 diverse basi azotate - Adenina e Guanina (basi pirimidiniche) e Timina e Citosina (basi puriniche) - risultano 4 diversi nucleotidi. Le basi sono a due a due complementari perchè l'adenina si può legare solo con la timina e la guanina con la citosina. **Il DNA ha una struttura tridimensionale a doppia elica, paragonabile ad una scala a chiocciola** descritta nel 1953 dagli scienziati Watson e Crick. I “*montanti*” della scala sono due filamenti formati da lunghi polimeri di nucleotidi legati fra loro. I “*gradini*” sono composti da basi azotate: ciascuna base di un filamento forma legami deboli con la propria base complementare dell'altro filamento (Adenina con Timina: A-T e Citosina con Guanina: C-G). Il susseguirsi di nucleotidi diversi nella molecola del DNA crea una sequenza che è stabilita in modo costante in ciascun filamento e costituisce i singoli **geni**, dei circa 20.000 conosciuti, cioè ciascuno di quei tratti di DNA che contiene istruzioni per la sintesi di ogni specifica proteina che dovrà essere prodotta nella cellula. Le istruzioni sono “scritte” in “codice” denominato “**codice genetico**”.

I due filamenti della doppia elica del DNA si possono separare per rottura dei legami deboli fra le basi; ciò permette due processi:

1- l' **Autoduplicazione del DNA**: ciascuno dei due filamenti ha la funzione di "stampo" per riprodurre un nuovo filamento complementare e dare origine a due molecole identiche di DNA;

2- la **Trascrizione**, cioè la produzione di RNA ribosomiale, RNA transfer, RNA messaggero che trasporta le informazioni contenute nel DNA dal nucleo al citoplasma per la sintesi delle proteine a livello dei ribosomi. Solo il 3% del DNA contiene i geni che trasmettono le informazioni per la sintesi delle proteine. Gran parte del restante DNA, ritenuto inerte e definito "junk DNA", è trascritto in molecole di RNA che non vengono tradotte ma hanno un ruolo nella regolazione dell'espressione genica (Romani, 2021).

Acetilazione degli istoni e metilazione del DNA

Le molecole istoniche possono subire modificazioni nella catena degli aminoacidi costituenti per introduzione di un gruppo acetile (acetilazione) o di un gruppo metile (metilazione). L' **acetilazione degli istoni** (aggiunta di un gruppo acetile sulla lisina o l'arginina presenti nelle code istoniche) decompatta il nucleosoma, causa la distensione del DNA e stimola la trascrizione (DNA->mRNA). La **metilazione del DNA** (aggiunta di un gruppo metilico alla base pirimidinica citosina) compatta e chiude gli istoni ed i geni corrispondenti sono silenziati. Il silenziamento genico è un fenomeno importante nello sviluppo embrionale perchè le cellule di ogni organo devono silenziare i geni non necessari alla funzione di quell'organo. Nella vita adulta invece ulteriori metilazioni causando il silenziamento di più geni possono determinare disfunzioni cellulari. La modificazione epigenetica della sequenza delle basi del DNA determina mutazioni spontanee o che possono essere indotte dall'esposizione delle cellule a fattori ambientali (agenti fisici, chimici, biologici). **Lo stato di metilazione del DNA è un indicatore dell'età biologica di un individuo e risulta che l'ipermetilazione è un segno di invecchiamento, causa un aumento dei marker pro-infiammatori e favorisce lo sviluppo neoplastico. La disregolazione della metilazione del DNA può silenziare geni oncosoppressori e geni riparatori.** L' orologio epigenetico è influenzato dallo stile di vita: il fumo, l'alcol, il regime dietetico scorretto, l'obesità, lo stress cronico lo accelerano. Al contrario la dieta mediterranea, l'attività fisica, il digiuno intermittente, alcuni integratori alimentari, la pratica della meditazione lo rallentano. Oggi è possibile sequenziare il DNA dell'intero genoma con "tecnologia NGS" e misurare lo stato di metilazione con "tecnologia illumina".

● RNA (acido ribonucleico)

RNA è una macromolecola prodotta dal DNA, anch'essa formata da nucleotidi come il DNA, con la differenza che lo zucchero è il ribosio (anziché il desossiribosio) e la base azotata adenina è sostituita da un'altra chiamata Uracile (U). Si riconoscono 3 tipi di RNA:

1-mRNA (RNA messaggero) così chiamato perché porta le informazioni contenute nel DNA dal nucleo al citoplasma dove sono presenti i ribosomi necessari per la sintesi delle proteine. Ha forma filamentosa e le informazioni genetiche sono trascritte nella sua sequenza di nucleotidi, costituita da "triplette" di basi (codoni) complementari a quella del DNA stampo;

2-tRNA (RNA transfer) ha il compito di legare i vari aminoacidi (Aa) e trasportarli verso i ribosomi. Ogni tRNA è specifico per il trasporto di un preciso Aa perché ha una tripletta (anticodone) complementare a quella presente sul mRNA;

3-rRNA (RNA ribosomiale) è la tipologia più abbondante di RNA la cui sintesi inizia nel nucleolo. rRNA non codifica direttamente le proteine ma è il componente essenziale dei ribosomi che provvedono all'assemblaggio delle proteine necessarie alla cellula.

● microRNA (miRNA)

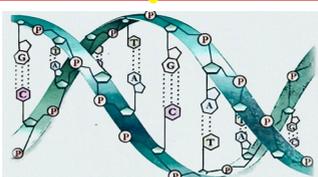
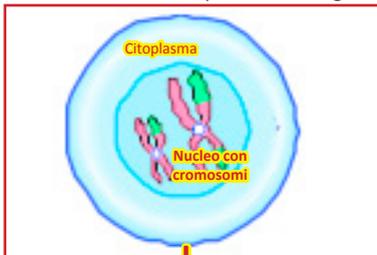
La funzione degli RNA è regolata da migliaia di **miRNA**: piccole molecole endogene non codificanti che non partecipano alla sintesi di proteine. **miRNA sono i maggiori regolatori epigenetici post-trascrizionali.** Precursori di miRNA sono espressi nel nucleo ed esportati nel citoplasma dove maturano a microRNA e, interferendo con gli RNA messaggeri, intervengono nella regolazione dell'espressione genica attraverso numerose vie: controllano e sono controllati dallo stato di acetilazione/metilazione degli istoni e di metilazione del DNA. Hanno un ruolo nei fenomeni di proliferazione, differenziazione cellulare ed apoptosi. Nel cancro possono funzionare come soppressori tumorali o oncogeni e possono essere utili per la diagnosi, la prognosi e la terapia.

● Xeno-miRNA

Sono una famiglia di miRNA esogeni provenienti da fonti alimentari animali e vegetali. Una volta assorbiti dal tratto gastro-enterico e raccolti in vescicole, vengono rilasciati nel flusso ematico e trasferiti a cellule e tessuti. Queste molecole sono in grado di integrarsi nel profilo dei miRNA del ricevente e regolare l'espressione genica. Possono promuovere effetti salutari o partecipare allo sviluppo di malattie croniche incluso il cancro modificando l'equilibrio redox e lo stato infiammatorio (*Martino et al., 2024*).

LA CELLULA: il DNA e la Sintesi proteica

Gli **organismi eucarioti** sono costituiti da cellule provviste di nucleo e nel suo interno il DNA, il citoplasma e la membrana citoplasmatica. Il **DNA**, lungo 2 m, è formato da subunità dette **nucleotidi** che sono costituiti da uno zucchero, un gruppo fosfato ed una base azotata. La molecola si avvolge con un doppio giro sugli **istoni**, formati da 8 diverse proteine, a formare il **nucleosoma**. I nucleosomi sono collegati tra loro da un tratto di DNA non avvolto (**DNA linker**) tanto da assumere la forma di una "collana di perle". Gli istoni sono carichi positivamente per la presenza di aminoacidi con catena laterale basica. Essi interagiscono con il DNA, carico negativamente per la presenza di gruppi fosfato, compattandolo in modo da essere contenuto nel nucleo. Il **nucleo** della cellula presenta una **doppia membrana** formata da fosfolipidi e provvista di pori che permettono lo scambio di sostanze con il citoplasma. All'interno del nucleo si trova il **nucleolo** in cui è trascritto l'RNA ribosomiale. Il **citoplasma** è una matrice semifluida che contiene zuccheri, aminoacidi e proteine che la cellula utilizza per le normali funzioni. La parte del citoplasma che contiene molecole organiche e ioni è denominata **citosol**. Nel citoplasma si trovano i **mitocondri** che sono dotati di un proprio DNA. I **nucleosomi** descrivono spirali fitte e addensate o lasse. In quest'ultimo caso, quando le cellule non si stanno dividendo, si presentano come una rete aggrovigliata denominata **cromatina**. Ogni volta che la cellula si divide viene duplicato il DNA che contiene le istruzioni genetiche per la sintesi di un RNA messaggero (mRNA) (*processo di trascrizione*). mRNA trasloca nel citoplasma dove viene utilizzato dai **ribosomi** per la sintesi di specifiche proteine (*processo di traduzione*). I ribosomi sono piccoli organelli disposti a centinaia di migliaia nel citoplasma e nei mitocondri. **Quando si manifesta una mutazione del DNA viene modificata la sequenza delle basi azotate e si verifica il cambiamento della struttura delle proteine in formazione con perdita della loro funzione.** Nel citoplasma si trova il **reticolo endoplasmatico** (RE): estesa rete di membrane ruvide o lisce. Le prime sono ricoperte da ribosomi (**RE rugoso**) responsabili della sintesi di proteine. Le seconde sono coinvolte nella sintesi dei lipidi e nella detossificazione di sostanze dannose. Le proteine sintetizzate nel RE rugoso sono successivamente elaborate e impaccate nell'**apparato del Golgi** e trasportate o alle membrane, o alla superficie della cellula. Nella loro prossimità si trovano i **centrioli**: organuli composti dalla proteina tubulina responsabili del fuso mitotico. I **lisosomi** sono organelli citoplasmatici contenenti enzimi deputati alla degradazione di materiale cellulare.

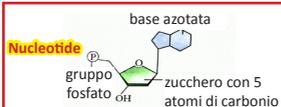


DNA: basi azotate

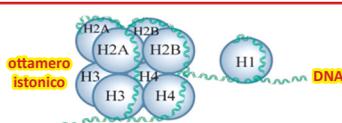
A = adenina - G = guanina

T = timina - C = citosina

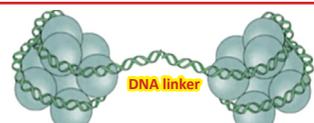
P = fosfato (da: Raven P.H. et al, 2019)



Il DNA è formato da subunità dette "Nucleotidi"



Il DNA si avvolge sugli istoni a formare il "Nucleosoma"



Nucleosomi sono collegati tra loro da "DNA linker" a formare una "collana di perle" (ogni perla è un ottamero istonico)

Il **DNA residente nel nucleo** è formato da **cromatina** organizzata in **nucleosomi** costituiti da **istoni**. Esistono **5 diversi tipi di istoni** (H1, H2A, H2B, H3, H4) formati da proteine basiche con carica +. Coppie di istoni si aggregano a costituire un ottamero (8 istoni) attorno al quale il DNA si avvolge a rochetto. Il **DNA + l'ottamero istonico formano un nucleosoma**. Nucleosomi sono collegati tra loro da **DNA linker** che interagisce con l'istone H1 per una maggiore compattazione. L'**acetilazione degli istoni**, per introduzione di un gruppo acetile, permette la distensione del DNA (il rochetto si svolge perché la cromatina si rilassa) e lo apre alla trascrizione in mRNA (DNA → mRNA). La **metilazione degli istoni**, al contrario, li compatta e li chiude, determina generalmente il silenziamento dei geni.

IL CICLO CELLULARE

Il **ciclo cellulare** è caratterizzato da una serie di processi che avvengono nelle cellule eucariote fra una divisione cellulare e l'altra. Esso termina con la produzione di 2 cellule con corredo cromosomico identico. Sebbene tali processi avvengano senza interruzioni, si usa dividere il ciclo in 2 parti: **interfase**, durante la quale la cellula non si divide, e la **fase M** in cui si verifica la divisione cellulare.

● **Interfase**: periodo di crescita in cui avvengono la trascrizione (= produzione di RNA), la traduzione (= sintesi delle proteine) e le reazioni necessarie al funzionamento della cellula. Si divide a sua volta in 3 fasi:

1-**G₁** (dall'inglese: *gap1*= latenza1): la cellula aumenta di volume e svolge le reazioni biochimiche con un' elevata attività di sintesi proteica;

2-**S** (= Sintesi): si ha l'autoduplicazione del DNA e dei centrioli;

3-**G₂** (latenza2): prosegue la sintesi proteica e l'aumento delle dimensioni della cellula.

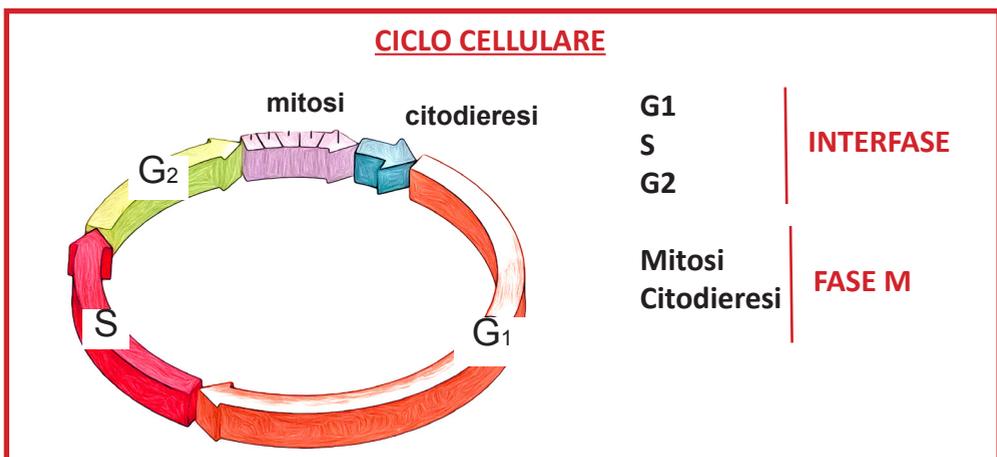
● **Fase M**: comprende la mitosi e la citodieresi dopo le quali ricomincia il ciclo.

1-**Mitosi**: si divide in 4 fasi (profase, metafase, anafase, telofase).

All'inizio la cromatina si addensa a formare i cromosomi; si dissolve la membrana nucleare. Si forma poi il "fuso mitotico" costituito da microtubuli che garantiscono la perfetta suddivisione dei cromosomi in 2 set identici. La cellula assume una forma allungata e i 2 set di cromosomi si dispongono alle 2 estremità (poli) grazie allo stiramento dei microtubuli. Alla fine nella parte centrale della cellula si forma una strozzatura mentre a ciascun polo si ricostituisce un nucleo nel cui interno sono i cromosomi.

2-**Citodieresi**: la cellula si divide in due cellule con genomi identici, ciascuna con 46 cromosomi.

Per alcuni tipi di cellule dopo la fase G₁ la cellula entra in "quiescenza" (**G₀**) non proliferativa che può durare anche tutta la vita. È il caso dei neuroni e delle cellule dei muscoli scheletrici. Tutte le fasi del ciclo hanno durata variabile e sono controllate da *check-point* che consentono o arrestano il passaggio alla fase successiva tramite una serie di proteine specifiche, a loro volta attivate da segnali intra o extracellulari che controllano la corretta duplicazione del DNA e correggono eventuali danni. Se questi sono rilevanti e non riparabili si attiva l'apoptosi. Mutazioni cellulari associate al cancro permettono la divisione cellulare continua ed impediscono l'uscita dal ciclo cellulare (Raven, 2019; Matthews, 2022).



►Cancerogenesi o Carcinogenesi

Quasi tutte le cellule dell'organismo possono andare incontro a trasformazione neoplastica in seguito a lesioni del DNA per azione di cancerogeni fisici, chimici, biologici. Se le lesioni non vengono riparate si verifica la modificazione della sequenza del DNA a cui consegue l'attivazione o disattivazione di geni che interferiscono con la normale funzione cellulare. Possono passare molti anni dall'esposizione agli agenti mutageni allo sviluppo di una neoplasia.

Tre sono le fasi dello sviluppo del cancro: la iniziazione, la promozione, la progressione.

1-Iniziazione: è l'evento iniziale che consiste in una mutazione a carico del DNA. La trasformazione neoplastica si realizza quando si accumulano un numero di mutazioni tali da modificare le capacità della cellula a sopravvivere e moltiplicarsi;

2-promozione: la cellula iniziata è stimolata a proliferare;

3-progressione: una volta che il tumore si è formato, ulteriori mutazioni e cambiamenti nell'espressione genica creano varianti cellulari che assumono velocità di crescita superiori e maggiore aggressività. Non tutte le cellule di un tumore sono però ugualmente capaci di una rapida proliferazione. Inoltre possono essere presenti gruppi di cellule che si comportano come cellule staminali cancerose in grado di dare origine ad un gran numero di discendenti.

Le caratteristiche del cancro

1-capacità di crescita illimitata e afinalistica delle cellule tumorali (una cellula normale, al contrario, si divide solo un numero limitato di volte);

2-autonomia di sviluppo grazie a fattori di crescita propri;

3-abilità a sfuggire a segnali dell'organismo che bloccano la proliferazione cellulare e l'apoptosi;

4-capacità di sfuggire ai naturali segnali di morte cellulare (apoptosi) che sono necessari per il ricambio cellulare ed il mantenimento dell'equilibrio organico;

5-elevata attività angiogenetica con formazione di nuovi vasi sanguigni che favorisce la crescita tumorale;

6-capacità di dare metastasi;

7-capacità di eludere le difese immunitarie e di creare un microambiente tumorale infiammatorio (nicchia ecologica che circonda le cellule tumorali di tumori solidi). Il microambiente tumorale è costituito da

una complessa network di elementi cellulari di vario tipo e da cellule immunitarie (soprattutto macrofagi e linfociti T) che favoriscono la proliferazione e la progressione tumorale;

8-capacità di utilizzare poco ossigeno per produrre energia (*glicolisi aerobica delle cellule tumorali* o “effetto Warburg” dal nome dell’Autore che la scoprì ai primi del 1900) **e favorire la moltiplicazione cellulare** (riprogrammazione del metabolismo energetico);

9-capacità delle cellule di mutare e dare origine a varianti adatte a sopravvivere anche in condizioni avverse ed in risposta alle terapie antitumorali, divenendo resistenti alle cure (*Hanahan e Weinberg, 2011*).

Cell-free DNA (cfDNA) e Circulating Tumor DNA (ctDNA)

cfDNA (*cell-free DNA*) si riferisce al DNA che viene liberato nel flusso ematico come risultato di processi quali l’apoptosi, la necrosi e la secrezione. Si presenta in forma di frammenti a doppio filamento.

ctDNA (*circulating tumor DNA*) è il DNA tumorale circolante che comprende informazioni genetiche molecolari ed epigenetiche che rispecchiano il genoma o l’epigenoma della cellula da cui proviene.

Negli adulti sani, la concentrazione di DNA privo di cellule (**cfDNA**) è bassa (< 10 mcg x ml di plasma). Al contrario, nei pazienti oncologici, componenti specifici del cfDNA vengono rilasciati dalle cellule tumorali, costituendo ciò che è conosciuto come DNA tumorale circolante.

Diversi fattori influenzano la concentrazione di cfDNA tra cui la sede del tumore, la sua estensione, lo stadio della neoplasia, le terapie antitumorali e la clearance epatica e renale.

Il cfDNA può essere rilevato in quasi il 100% di alcuni tumori maligni (vescica, colon-retto e ovaio) e con una probabilità di rilevamento superiore al 50% nella maggior parte degli altri tumori. Inoltre, le concentrazioni plasmatiche di cfDNA e la presenza di livelli di cfDNA rilevabili hanno dimostrato essere correlate con lo stadio della neoplasia e rappresentano un indicatore dell’efficacia della terapia.

La rilevazione di cfDNA nei fluidi corporei risulta difficile in individui asintomatici e nelle fasi iniziali di una neoplasia. Nei cancro in progressione al contrario le cellule rilasciano in circolo notevoli quantità di DNA.

L’emivita del cfDNA varia da una decina di minuti ad alcune ore tanto che l’analisi del cfDNA (biopsia liquida) rappresenta una “istantanea in tempo reale” del quadro neoplastico. Tecniche diagnostiche di sequenziamento genico permettono l’analisi di ctDNA e cfDNA.

► **Inflammatione cronica e cancro**

Oltre il 20% delle neoplasie è indotto o aggravato da infiammazione cronica. Essa crea condizioni che favoriscono l'accumulo di mutazioni del DNA, instabilità genomica, attivazione di oncogeni ed immunosoppressione tanto da assumere un ruolo di primo piano nello sviluppo tumorale. La sua azione è mediata dalla produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto (RNS), da alterazione della metilazione del DNA e da molecole infiammatorie (citochine) prodotte da cellule dell'immunità ed, in presenza di un tumore maligno, anche da cellule neoplastiche e, nei tumori solidi, da cellule del microambiente tumorale quali i *Tumor Associated Macrophages* (TAM) produttori di TNF-alfa. Questa citochina ha un ruolo nel mantenimento dell'infiammazione cronica, nella crescita tumorale, nell'angiogenesi e nelle metastasi.

► **Citochine e Chemochine**

Le **citochine** sono proteine a basso peso molecolare prodotte da cellule del sistema immunitario, da cellule stromali, come fibroblasti e da cellule endoteliali. Sono capaci di legarsi a specifici recettori di membrana e forniscono precise istruzioni alle cellule. Si comportano come "parole molecolari" ovvero segnali di comunicazione nel sistema immunitario ed in altre parti dell'organismo (*Mantovani, 2020*). Si conoscono alcune centinaia di citochine fra cui: interleuchine (IL), interferoni (IFN), fattori di necrosi tumorale (TNF), fattori di crescita (GF = *Growth Factor*), fattori stimolanti le colonie (CSF-1), chemochine.

Le citochine primarie dell'infiammazione sono TNF, IL-1, IL-6.

È un trio di molecole che si attiva secondo questa precisa sequenza. Esse mettono in moto sia la cascata dell'infiammazione, sia l'immunità innata. Sono iperespresse nei tessuti in preda a flogosi e nei carcinomi. Danneggiano il DNA, stimolano l'angiogenesi attraverso l'espressione di VEGF, attivano segnali pro-infiammatori mediati da fattori di trascrizione quali NF-kB, mantengono il microambiente infiammatorio tumorale, stimolano la proliferazione cellulare e inibiscono l'apoptosi. In un tessuto infiammato inducono la produzione di molecole secondarie rappresentate dalle chemochine e da molecole di adesione che richiamano i globuli bianchi fra cui i linfociti T. Il trio di molecole agisce sia localmente sia a livello sistemico; inoltre attiva la produzione di citochine antinfiammatorie ed altre molecole che

hanno il compito di frenare e regolare la risposta infiammatoria. Le citochine pertanto provocano risposte diverse, talora contrapposte, legandosi a specifici recettori.

Le **interleuchine** sono i principali mediatori della risposta immunitaria innata e adattativa (vedi Tab. pag. 31). Esercitano numerose funzioni:

a) promuovono la differenziazione, la proliferazione e la maturazione delle cellule immunitarie;

b) facilitano la comunicazione tra loro;

c) regolano l'espressione di numerosi geni;

d) controllano i fattori di trascrizione;

e) governano il processo infiammatorio e la produzione di anticorpi;

f) possono agire come molecole multifunzionali. L'IL-6, ad esempio, è una molecola sia pro-infiammatoria, sia anti-infiammatoria. È secreta dai linfociti T e dai macrofagi per stimolare la risposta immunitaria. Ma è anche una mioquina, ovvero una citochina prodotta dal muscolo scheletrico, e la sua concentrazione aumenta in risposta alla contrazione muscolare per aumentare l'apporto nutritivo al muscolo. IL-6 come citochina antinfiammatoria ha effetto inibitorio su TNF-alfa ed IL-1 mentre attiva l'IL-10 e IL-1Ra. Anche le cellule muscolari lisce della tonaca media di molti vasi producono IL-6 pro-infiammatoria.

Le interleuchine permettono interazioni coordinate tra i globuli bianchi, garantendo così una risposta immunitaria corretta ed un efficace controllo di numerose patologie. Nei tumori svolgono un ruolo chiave e talora contrapposto potendo manifestare effetti pro e antitumorali.

Possono infatti stimolare le cellule immunitarie a riconoscere ed eliminare le cellule tumorali ma possono anche causare infiammazione cronica, angiogenesi, progressione di una neoplasia. Fino ad oggi si conoscono molte interleuchine che contribuiscono all'insorgenza, allo sviluppo ed alla progressione del cancro.

Le **chemochine** sono citochine solubili chemotattiche generalmente prodotte da citochine pro-infiammatorie. Il loro ruolo centrale è quello di attrarre cellule infiammatorie e immunitarie nei focolai di infiammazione e nel microambiente tumorale dei tumori solidi. Sono coinvolte nella proliferazione, migrazione, invasione e metastasi di numerosi tumori. Il loro potenziale metastatico è attribuito alla capacità di indurre l'espressione di metalloproteinasi della matrice (MMPs).

►Epigenetica

Il termine epigenetica (dal greco “sopra la genetica”) è stato coniato nel 1942 dal biologo britannico Dr. Conrad Hal Waddington (1905-1975).

L’epigenetica studia come l’esposizione a fattori ambientali e lo stile di vita possano causare cambiamenti nell’espressione genica, cioè quali geni esprimere e quali no, e quindi quali di essi dovrà essere “letto” e “tradotto” in proteina, senza però modificare la sequenza dei nucleotidi del genoma cioè senza alterare la sequenza del DNA.

[Ramsey (2020) spiega il fenomeno con una metafora e paragona l’intero genoma ad una biblioteca in cui ogni libro rappresenta un gene. Alcuni libri (geni) hanno allegato un post-it che indica quale gene è attivo o spento. Questi post-it rappresentano cambiamenti epigenetici tanto che a seconda di quale gene è espresso cambierà il fenotipo, mentre la biblioteca rimane sempre la stessa.]

La regolazione epigenetica è un processo dinamico e reversibile. Cambiamenti epigenetici regolano una varietà di processi cellulari tra cui la crescita, la proliferazione, la differenziazione, la migrazione. Essi interessano principalmente la metilazione del DNA, le modifiche degli istoni, l’espressione di RNA non codificante, il rimodellamento della struttura della cromatina che quando è rilassata è predisposta ad attività trascrizionale mentre se è condensata non lo è. Questi cambiamenti sono ereditari ma non permanenti tanto che possiamo “rieducare” i geni a riacquistare il loro comportamento originario migliorando i fattori ambientali e lo stile di vita. Modificazioni epigenetiche aberranti sono strettamente correlate all’insorgenza ed allo sviluppo del cancro. Ciò potrebbe spiegare l’aumento dei tumori che si sta osservando nella popolazione più giovane. Dal 1990 al 2019 le nuove diagnosi di cancro ad esordio precoce in individui di età inferiore ai 50 anni sono infatti aumentate del 79% (*BMJ Oncol.*, 2023). Il fenomeno è attribuito ad un insieme di fattori: fumo, alcol, stili di vita sedentari, consumo frequente di cibi processati, stress psico-fisico, etc.

Epigenetica nutrizionale

Il termine **dieta epigenetica**, introdotto da Hardy e Tollefsbot nel 2011, indica che **i fattori nutrizionali influenzano l’espressione dei geni di un individuo**. Essi inducono cambiamenti dell’espressione genica del DNA e come tali hanno importanza nella salute e nella malattia.

I meccanismi di controllo epigenetico sono: a) la metilazione del DNA; b) l’acetilazione/deacetilazione degli istoni; c) l’espressione di microRNA non codificanti con attivazione/disattivazione di geni specifici oncosoppressori e/o oncogeni (*Acevedo-Espinola et al.*, 2024).

La metilazione del DNA e l'acetilazione degli istoni sono processi reversibili. **Numerosi fitochimici della MeD sono modulatori epigenetici e possono essere impiegati in strategie di chemioprevenzione** modulando l'attività o l'espressione delle DNA metiltransferasi, degli enzimi che codificano gli istoni e di microRNA (*Patnaik et al, 2023*). Fra essi risultano: catechine, curcumina, ellagitannini, fisetina, genisteina, idrossitirosolo, licopene, quercetina, resveratrolo, sulforafano, composti organosolfuri, altri (*Thakur et al., 2014; Caradonna et al., 2020; Fatima et al., 2021*).

► Geni

I geni sono segmenti di DNA che contengono il codice, cioè le istruzioni, per la sintesi di specifiche proteine che dovranno essere prodotte nella cellula. I geni di interesse oncologico si distinguono in geni protooncogeni, oncogeni ed oncosoppressori.

a) **Geni Protooncogeni:** sono geni normali che codificano proteine che partecipano alle fisiologiche funzioni delle cellule (regolazione del ciclo, sopravvivenza e differenziazione cellulare). A seconda del loro ruolo possono essere distinti in: fattori di crescita, recettori dei fattori di crescita, trasduttori di segnale, fattori di trascrizione, regolatori dell'apoptosi. I protooncogeni per mutazione si trasformano in oncogeni;

b) **Geni Oncogeni:** sono geni che derivano dai protooncogeni: la loro presenza può causare il cancro;

c) **Geni Oncosoppressori:** sono decine di geni la cui inattivazione o perdita può dare il via alla formazione di un tumore maligno. In ciò si differenziano dai geni oncogeni che diventano pericolosi quando mutando, o per eccessiva stimolazione, sono costantemente attivati.

Negli anni più recenti prodotti proteici ottenuti da oncogeni e oncosoppressori sono divenuti il bersaglio di numerose terapie. Il gene oncosoppressore più frequentemente mutato è il **p53** che codifica per la proteina omonima che ha un ruolo nel rispondere ai danni del DNA. Quando le cellule sono esposte ad agenti cancerogeni (fumo, radiazioni, virus oncogeni, etc.) che causano danni al DNA viene attivata la via p53 che induce l'arresto del ciclo cellulare e l'apoptosi. Questo meccanismo protettivo è però assente nelle cellule tumorali che di conseguenza possono sopravvivere e riprodursi. Fra i geni soppressori tumorali risultano anche **BRCA1** e **BRCA2**. La trasmissione ereditaria di una singola copia mutata crea un rischio tumorale.

-Geni di riparazione del DNA: BRCA1 e BRCA2, ATM, PARP
BRCA1 e BRCA2 (BRCA = acronimo di *BReast CAncer*) sono noti come *geni Jolie*, dal nome dell'attrice portatrice della loro mutazione. Sono geni oncosoppressori localizzati rispettivamente sul cromosoma 17 ed il cromosoma 13. Essi codificano per proteine che partecipano ad alcune funzioni cellulari quali la regolazione della trascrizione, il controllo del ciclo cellulare, la riparazione del DNA e garantiscono la corretta trasmissione del patrimonio genetico. Oltre ai tumori femminili al seno ed alle ovaie varianti patologiche di questi geni aumentano il rischio di sviluppare, nel sesso maschile, cancro al seno, prostata, pancreas, stomaco in maggior percentuale rispetto al resto della popolazione anche se l'anomalia genetica non è di per se condizione sufficiente (Li et al., 2022). BRCA 1/2 ed ATM (*Ataxia Telangiectasia Mutated Kinase*) sono geni coinvolti nella riparazione delle rotture a doppio filamento del DNA. PARP (*Poli ADP-ribose polymerase*) sono enzimi che, a differenza dei precedenti, hanno un ruolo nella riparazione delle rotture a singolo filamento del DNA (vedi figura). Mutazioni dei geni BRCA 1/2 e ATM sono state dimostrate in pazienti con carcinomi prostatici aggressivi e letali (Robinson et al, 2015; Na et al., 2017). Inibitori delle proteine PARP presentano potenziali benefici per il trattamento del cancro del seno (Cortesi et al., 2021) e dei CaP con mutazioni dei geni BRCA 1/2 (Bourlon et al., 2024). Numerosi composti naturali esercitano effetti favorevoli sui meccanismi di riparazione del DNA delle cellule tumorali e possono essere impiegati per risensibilizzare queste cellule alla radio ed alla chemioterapia.



[Quando i **test genetici** risultano positivi è consigliabile un frequente monitoraggio clinico con ecografia mammaria, mammografia, ecografia pelvica transvaginale nel sesso femminile, visita urologica, determinazione del PSA reflex nel sesso maschile, markers tumorali, etc.]

► Genoma

Il genoma rappresenta l'insieme dei geni di un organismo variabile da 50 a 100 mila. Gli eucarioti posseggono un genoma nucleare suddiviso in più cromosomi localizzati all'interno del nucleo. Il genoma nucleare è formato da più molecole di DNA mentre il genoma dei mitocondri è rappresentato soltanto da singole molecole. Le tecniche di sequenziamento del DNA permettono di analizzare l'intero genoma di un organismo (vedi NGS).

► Inflammaging

Inflammaging è l'infiammazione cronica di basso grado tipica dell'invecchiamento. Esso è caratterizzato dall'accumulo di cellule senescenti metabolicamente attive che producono radicali liberi dell'ossigeno, citochine pro-infiammatorie, a diminuzione della capacità di eliminare detriti cellulari, danno del DNA. Si ha inoltre diminuzione delle cellule staminali, immunosenescenza con riduzione degli elementi dell'immunità innata (monociti e cellule NK) ed acquisita (linfociti T e B) e riduzione dei sistemi antiossidanti dell'organismo. Fra i meccanismi dell'inflammaging risultano il malfunzionamento dei mitocondri, dei meccanismi di autofagia, la disbiosi e l'attivazione dell'inflammasoma. [*Inflammasomi sono complessi multiproteici che si formano nel compartimento citosolico di cellule immunitarie che si assemblano in risposta a patterns molecolari associati ad agenti patogeni (PAMPs = Pathogen Associated Molecular Patterns) o ad un danno cellulare, o tissutale (DAMPs = Danger Associated Molecular Patterns) in grado di causare la reazione infiammatoria*].

Immunosenescenza è associata a malattie cronic-degenerative, ad aumento della suscettibilità alle infezioni, a malattie autoimmuni da incremento della produzione di autoanticorpi, ed ai tumori.

► Metaflammation

L'infiammazione cronica di basso grado è associata a sovralimentazione, eccesso di nutrienti ed in particolare di grassi che determinano aumento dei livelli circolanti di lipopolisaccaridi e malattie metaboliche. Tale variante è denominata **Metaflammation** (*Metabolic Inflammation*). Essa contribuisce alla comparsa di resistenza insulinica, attivazione del fattore NF-κB, a produzione di citochine pro-infiammatorie e riduzione delle funzioni immunitarie.

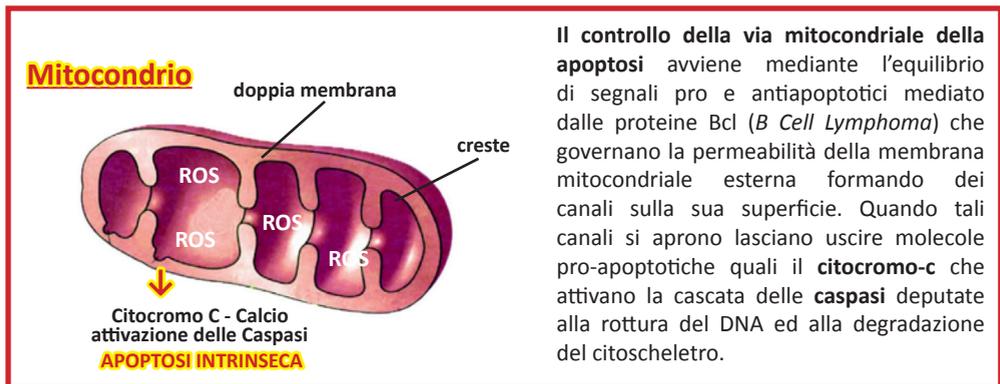
► Miscela di Oh et al. (Nutr Imm, 2020)

È una miscela di erbe aromatiche (*Alloro, Basilico, Origano, Prezzemolo, Rosmarino, Timo*) e spezie (*Curcuma longa, Cannella, Coriandolo, Cumino, Pepe nero, Peperoncino, Zenzero*) che può essere somministrata

ai pasti principali nella misura di 6 g/pasto in sostituzione del sale. È utile nelle malattie metaboliche per la sua attività antiossidante e antinfiammatoria (*La Farmacia oncologica. Ed. LILT-Prato, 2022*).

► Mitocondri

I mitocondri sono organelli posti nel citoplasma delle cellule e dotati di un proprio DNA. Sono costituiti da due membrane di cui quella interna è ripiegata a formare delle creste. La membrana mitocondriale è composta, in prevalenza, da fosfolipidi tra cui rilevante è la **cardiolipina**.



● **I mitocondri sono le centraline energetiche della cellula** in quanto capaci di produrre grandi quantità di ATP (*Adenosin Tri-Fosfato*), molecola in grado di fornire l'energia necessaria per le normali funzioni cellulari. Per fare ciò i mitocondri utilizzano l'energia derivante dall'ossidazione delle macromolecole degli alimenti (in particolare gli zuccheri) e la trasferiscono alle molecole di ATP. L'ultima fase del processo, nota come fosforilazione ossidativa, utilizza l'ossigeno. Durante questa fase si generano radicali liberi dell'ossigeno. Sappiamo che le principali sorgenti di ROS sono rappresentate dai mitocondri e da cellule immunitarie. **ROS** regolano i fattori di trascrizione **Nrf2** (*Nuclear factor erythroid-2-related factor-2*) ed **NF-κB** (*Nuclear Factor - kappa B*). Il primo attiva la trascrizione di centinaia di geni, molti dei quali con funzioni antiossidanti e citoprotettive. Il secondo attiva geni che hanno un ruolo importante nell'infiammazione e nella carcinogenesi. Tale fattore è costitutivamente attivato in molti tumori. In condizioni normali le cellule sono dotate di meccanismi che impediscono un eccessivo accumulo di radicali liberi e consentono la sostituzione di mitocondri danneggiati (biogenesi mitocondriale). Quando però i ROS sono in eccesso possono danneggiare i costituenti delle cellule e gli stessi mitocondri. Inoltre favoriscono mutazioni

cellulari ed un danno organico che predispone a numerose patologie compresi i tumori.

● **I mitocondri partecipano ai processi che portano all'apoptosi** (morte cellulare programmata).

L'attivazione della via mitocondriale dell'apoptosi (via intrinseca) avviene per il rilascio nel citoplasma di citocromo C e calcio che determinano l'attivazione delle caspasi (proteasi). Questi enzimi proteolitici sono deputati alla rottura del DNA e alla degradazione del citoscheletro. I corpi apoptotici che ne derivano vengono fagocitati dai macrofagi.

► **Mitocondri e Cancro**

I mitocondri promuovono la sopravvivenza, la proliferazione e la progressione neoplastica generando ROS che sono causa di instabilità genomica, modificazione dell'espressione genica e delle vie di segnalazione cellulare. Inoltre sono coinvolti nella riprogrammazione metabolica e nella risposta immunitaria (le cellule NK e le cellule T sono regolate dalla dinamica mitocondriale) (Bazhin, 2020). A differenza della cellula normale, **la cellula neoplastica presenta un'alterazione del metabolismo (effetto Walburg - vedi pag. 53) ed il blocco mitocondriale con mancata attivazione dell'apoptosi intrinseca.** Ricerche sperimentali dimostrano che le cellule neoplastiche sono favorite nella loro crescita da molecole antiossidanti mentre sono contrastate da condizioni pro-ossidanti. Tali cellule sono molto sensibili al danno ossidativo tanto che le terapie che determinano un suo incremento rappresentano oggi una possibile strategia terapeutica antitumorale. Nelle cellule tumorali la membrana mitocondriale è assottigliata e presenta soluzioni di continuità fra le teste idrofiliche della cardiolipina che aggettano nel citoplasma ed il citocromo-c non è legato alle code fosfolipidiche della cardiolipina, come invece avviene nella cellula normale. Ciò rappresenta un punto di debolezza delle cellule tumorali. Esse infatti permettono l'accesso di radicali liberi perossidanti che possono portare alla rottura dei mitocondri con fuoriuscita del calcio ed attivazione dell'apoptosi intrinseca. Si deve ad Izzotti et al. (2022) l'osservazione che **olio ozonizzato vegetale ad alti ozonuri (OOAO)** ha effetti citocidi su cellule neoplastiche ma non su cellule normali. La sua somministrazione può essere utilizzata in pazienti oncologici in prevenzione terziaria considerati "*cancer free*" in cui la riattivazione di cellule staminali neoplastiche quiescenti può determinare la progressione della

neoplasia. Infatti l'olio ozonizzato ad alti ozonuri (OOAO) penetra in modo consistente nel citoplasma delle cellule neoplastiche verosimilmente grazie alla sua peculiare capacità di ossidare le membrane cellulari. In tali cellule induce danno ossidativo citoplasmatico. L'organello più sensibile a questo effetto è il mitocondrio. L'ossidazione delle membrane mitocondriali della cellula neoplastica determina il rilascio di calcio che è in grado di sbloccare i mitocondri e riattivare l'apoptosi. Nelle cellule normali OOAO ha effetti antinfiammatori e citoprotettivi (Izzotti, 2024).

► **NGS (Next Generation Sequencing)**

NGS è una tecnologia di sequenziamento genico di nuova generazione che ha rivoluzionato la diagnostica e la ricerca in genomica. La metodica, nota come "*sequenziamento massivo parallelo*", permette la lettura di milioni di basi in un'unica seduta di analisi. È così possibile analizzare un intero genoma, le regioni codificanti od anche un gruppo di geni selezionati, come avviene nelle applicazioni diagnostiche per le quali sono disponibili numerosi gruppi di riferimento.

Il procedimento analitico consta di tre fasi:

- a) la preparazione del campione da esaminare (qualsiasi campione contenente DNA da cui è possibile estrarre una idonea quantità di acido nucleico);
- b) il sequenziamento genico;
- c) l'analisi dei dati.

Il sequenziamento genico permette di evidenziare qualsiasi differenza fra la sequenza dei geni del materiale in esame e quella del materiale di riferimento.

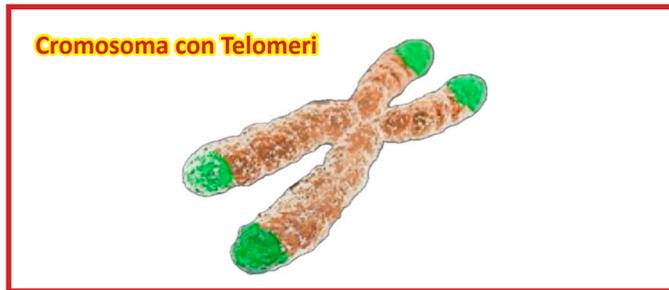
► **Staminali (cellule)**

Le **cellule staminali** sono cellule non specializzate presenti in tutti gli organi in grado di differenziarsi negli specifici tipi citologici dei diversi tessuti e di autorinnovarsi. Solo le cellule staminali embrionali sono pluripotenti ed in grado di dare origine a qualsiasi cellula dell'organismo. Le **staminali tumorali** sono cellule del tumore con capacità infinita di riproduzione e di resistenza alle terapie.

► **Telomeri** (da *têlos* = fine, *méros* = parte)

I telomeri sono piccole porzioni di DNA che si trovano all'estremità di ogni cromosoma e lo proteggono dal deterioramento. Si accorciano ad ogni divisione cellulare e dopo alcune decine di replicazioni (50-60 ?) la cellula non è più in grado di moltiplicarsi e riparare eventuali danni: rappresentano pertanto un marcatore dell'invecchiamento.

Lo stress ossidativo cronico, l'infiammazione di basso grado e fattori esterni come il fumo, lo stile di vita sedentario e l'obesità sono la causa di accorciamento dei telomeri. L'enzima telomerasi è in grado di allungare queste strutture aggiungendo sequenze di DNA telomeriche all'estremità delle molecole di DNA e di prolungare la vita delle cellule. Numerosi fattori attivano l'enzima fra cui la dieta mediterranea, l'attività fisica, la meditazione. Se l'enzima è troppo attivo può favorire lo sviluppo di tumori. Le cellule tumorali sono in grado di produrre la telomerasi e quindi conservano la capacità di dividersi.



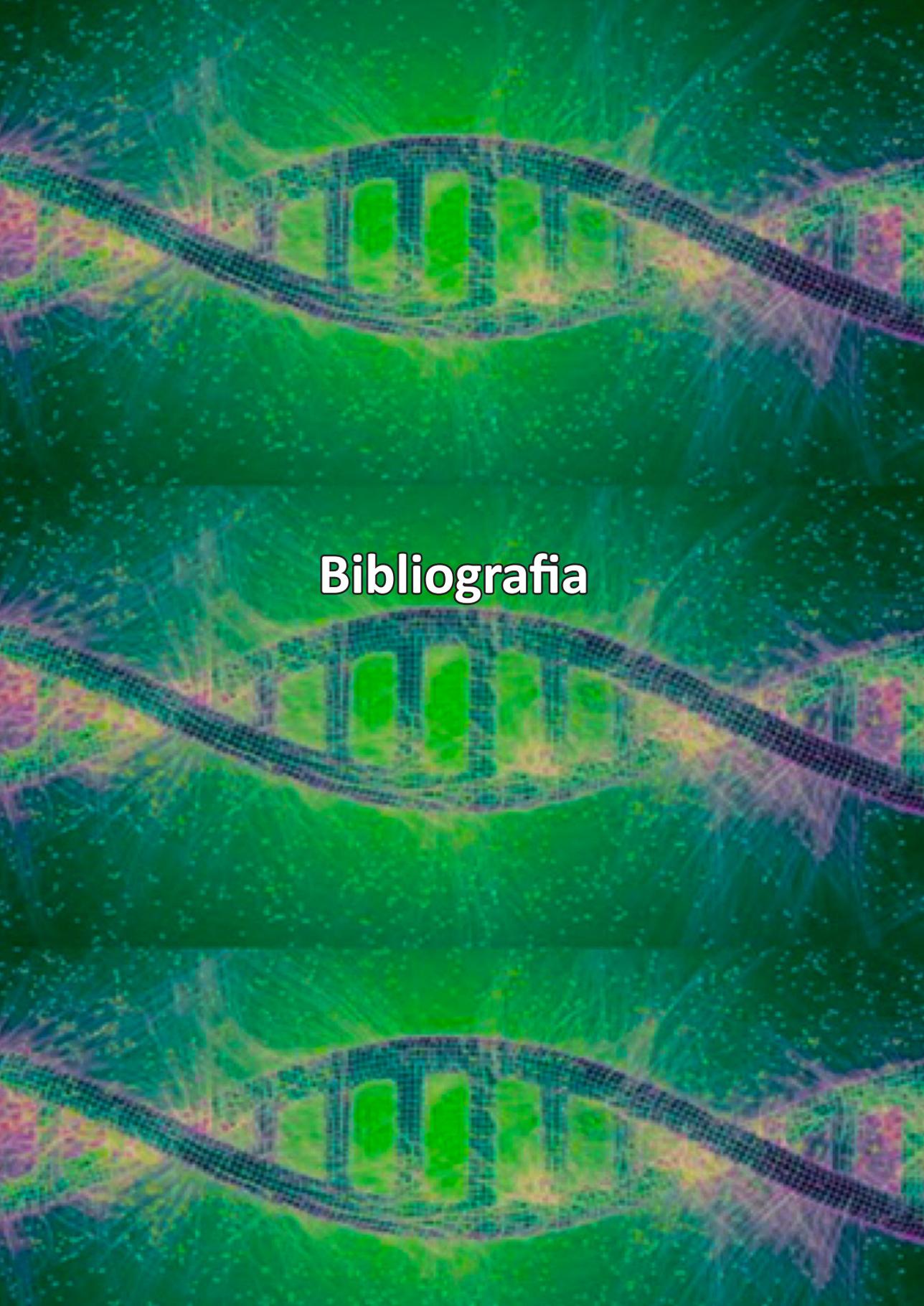
► Warburg: "effetto Warburg"

Il biochimico tedesco **Otto Heinrich Warburg (1883-1970)** ha dimostrato che le cellule neoplastiche consumano il glucosio più rapidamente delle cellule normali (*effetto Warburg*) e ottengono la loro energia dalla fermentazione del glucosio a lattato anche in presenza di ossigeno.

La velocità di metabolizzazione del glucosio rappresenta quindi la differenza fondamentale tra cellule sane e cellule cancerose. Tale effetto favorisce la crescita delle cellule tumorali.

Per questa scoperta Warburg ottenne il premio Nobel per la Medicina nel 1931. L'*effetto Warburg* è noto come "*glicolisi aerobica*" anche se questa denominazione è impropria in quanto l'ossigeno non è coinvolto. Le cellule tumorali sembra adottino questo processo non con lo scopo principale di produrre energia ma per favorire la biosintesi degli acidi nucleici, dei fosfolipidi e degli aminoacidi di cui c'è una grande richiesta da parte di cellule in attiva replicazione.

L'eccessivo consumo di glucosio (glicolisi) da parte delle cellule tumorali rappresenta la base della procedura diagnostica nota come PET (*Positron Emission Tomography*) che viene utilizzata in oncologia per la evidenziazione delle localizzazioni tumorali nell'organismo mediante radiotraccianti analoghi del glucosio e per verificare l'efficacia delle terapie.



Bibliografia

Acevedo-Espinola R. et al. Epigenetics and diet (...). Food Research., 2024.

Andreo-López M.C. et al. Influence of the mediterranean diet on healthy aging. Int. J. Mol. Sci., 2023.

Antonozzi I. e Gulletta E. Medicina di laboratorio. Ed. Piccin, 2019.

Bazhin A.V. Mitochondria and cancer. Cancers, 2020.

Becker W.M. Il mondo della cellula. Ed. Pearson Italia, 2022.

Benelli R. Immunoncologia (...). Ed. Partner-Graf, 2017.

Benelli R., Giacchè D. Attività fisica e infiammazione. Ed. LILT, 2019.

Benelli R., Capecchi S. Ristorante virtuale dieta mediterranea. Ed. LILT-Prato, 2024.

Berrino F. Fermare il tempo. Ed. Solferino, 2023.

Bonucci M. e Marino F.V. Principi di oncologia integrata. Ed. Tecniche nuove, 2021.

Bourlon T. et al. Development of PARP inhibitors in advanced prostate cancer. Ther Adv Med Oncol, 2024.

Briukhovetska D. et al. Interleukins in cancer: from biology to therapy. Nature Reviews, 2021.

Calcagno DQ et al. Role of histone acetylation in gastric cancer. Epigenomics, 2019.

Caprara G. Mediterranean-type dietary pattern and physical activity (...). Nutrients, 2021.

Caradonna F. et al. Nutritional epigenomics and nutrigenetics of the mediterranean diet. Nutrients, 2020.

Chae Y. et al. The effects of forest therapy on immune function. Int. J. Environ Res. Public Health, 2021.

Cortesi L. et al. An overview of PARP inhibitors for the treatment of breast cancer. Target Ocol, 2021.

Cytobalance - Monitoraggio delle citochine proinfiammatorie - Bioscience Genomics.

Dai Y.N. The association between dietary inflammatory potential and urologic cancers: a meta.analysis. Adv Nutr, 2024.

Divella R. et al. Anticancer effects of nutraceuticals in the mediterranean diet: an epigenetic diet model. Cancer Genomics & Proteomics, 2020.

Dulbecco R. I geni ed il nostro futuro. Ed Sperling & Kupfer S.p.A., 1995.

Fatima N. et al. Role of flavonoids as epigenetic modulators in cancer prevention and therapy. Frontiers in Genetics, 2021.

Garattini S. Invecchiare bene. Ed. LSWR, 2021.

Gensous N. et al. One-year mediterranean diet promotes epigenetic rejuvenation with country and sex-specific effects (...). *GeroScience*, 2020.

Giordano C. et al. Il muscolo come organo endocrino: focus su irisina. *Endocr.*, 2022.

Hanahan D. e Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011.

Hardy T.M. e Tollefsbol T.O. Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer. *Epigenomics*, 2011.

Haseler C. et al. Promoting physical activity to patients. *BMJ*, 2019.

Hwang M.A. TNF-alfa secreted from macrophages increases the expression of prometastatic integrin alfa V in gastric cancer. *Int J Mol Sci*, 2023.

Izzotti A. et al. Efficacy of high-ozonide oil in prevention of cancer relapses mechanisms and clinical evidence. *Cancers*, 2022.

Izzotti A. La prevenzione primaria in oncologia. *Convegno LILT-Prato*, 25 Mag. 2024.

Kany S. et al. Cytokines in Inflammatory Disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019

Kielb P. et al. Role of IL-17A and IL-17RA in prostate cancer (...). *Cancers*, 2023.

Korbeck J. et al. Involvement in tumorigenesis and clinical significance of CXCL1 in reproductive cancers (...). *Int J Mol Sci*, 2023.

La Farmacia oncologica. Ed. LILT-Prato, 2022.

Li S. et al. Cancer risks associated with BRCA1 and BRCA2 pathogenic variants. *J Clin Oncol*, 2022.

Mantovani A. et al. Cancer related inflammation. *Nature*, 2008.

Mantovani A. Il fuoco interiore. Ed. Mondadori, 2020.

Martino E. et al. Dietary epigenetic modulators (...). *Nutrients*, 2024.

Matthews H.K. et al. Cell cycle control in cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022.

Ming T. et al. Curcumin: an epigenetic regulator and its application in cancer. *Biom. & Pharmac.*, 2022.

Na R. et al. Germline mutations in ATM and BRCA 1/2 distinguish risk for lethal and indolent prostate cancer (...). *Eur Urol*, 2017.

Nishiyama A., Nakanishi M. Navigating the DNA methylation landscape of cancer. *Cell Press*, 2021.

Oh Ester S. et al. Spices in a high-saturated fat, high-carbohydrate meal reduce postprandial proinflammatory cytokine (...). *Nutr Imm.*, 2020.

Patnaik E. et al. Epigenetic modulators as therapeutic agents in cancer. *Int J Mol Sci*, 2023.

Paudel S. et al. Phytochemicals as immunomodulatory molecules in cancer therapeutics. *Pharmaceuticals*, 2023.

Pereira M. et al. Arachidonic acid inhibition of the NLRP3 inflammasome (...). *Cell Rep.*, 2024.

Plaza-Diaz J. et al. Impact of physical activity and exercise on the epigenome in skeletal muscle and effects on systemic metabolism. *Biomedicines*, 2022.

Ramsey M. *Epigenetics*. Ed. 2020.

Raven P.H. et al. *Biologia cellulare*. Ed. Piccin, 2019.

Robinson D. et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell*, 2015.

Romani M. *Epigenetica*. Ed. Zanichelli, 2021.

Rosemberg P.S., Miranda-Filho A. Cancer incidence trends in successive social generations in the US. *JAMA*, 2024.

Rosu M.C. et al. Clinical significance of TNF-alfa and CEA in gastric cancer. *J Med Life*, 2022.

Swain CTV et al. Physical activity and pain in people with and without cancer. *Cancer*, 2024.

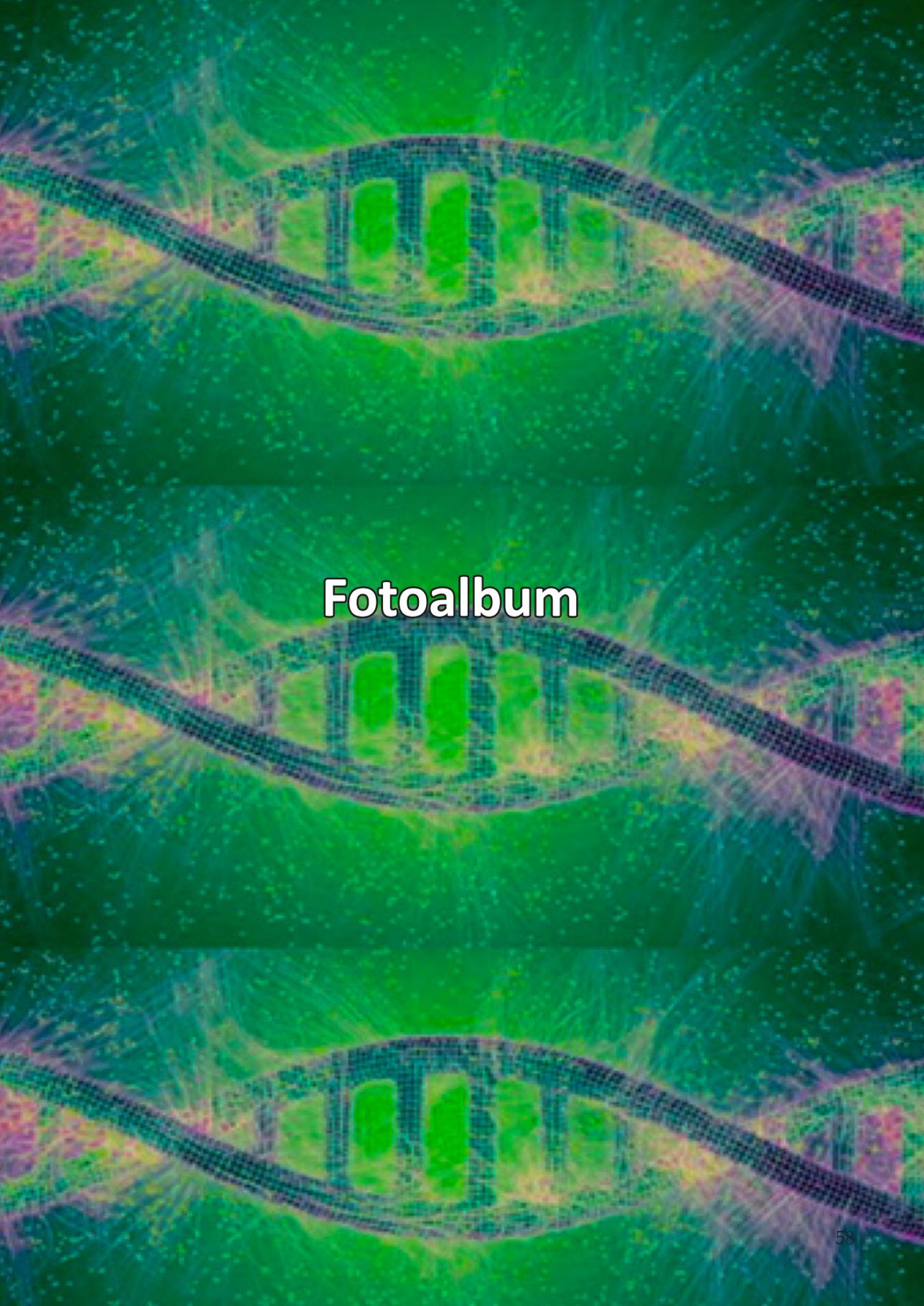
Thakur V.S. et al. Plant Phytochemicals as epigenetic modulators: role in cancer chemoprevention. *AAPS J*, 2014.

Tomasetti C., Vogelstein B. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions. *Science*, 2015.

Wang X. et al. The diagnostic value of IL-6 as a biomarker for gastric cancer. *Med.*, 2021.

Yuzhalin A.E. e Kutikhin A.G. *Interleukins in Cancer Biology*. Elsevier Inc., 2014.

Zhou D. et al. Reactive oxygen species in normal and tumor stem cells. *Adv Cancer Res*, 2014.



Fotoalbum

**CONVEGNO “LA PREVENZIONE PRIMARIA IN ONCOLOGIA”
LILT sede di Prato - Sabato, 25 Maggio 2024**



Adriana Albini - Roberto Benelli - Giuseppe Mucci - Alberto Izzotti



Candidi Tommasi A.



Capecchi S.



Brandi C.



Mucci G.



Albini A.



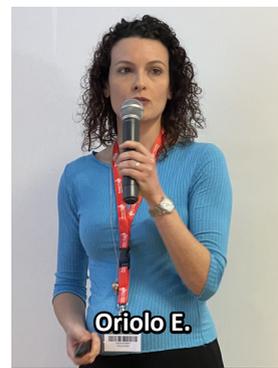
Izzotti A.



Balducci F.



Di Giovanni E.



Oriolo E.



ANNOTAZIONI



“La Prevenzione primaria in Oncologia” Ed. LILT - Prato, 2024

Dr. Roberto Benelli M.D.

Presidente LILT sede di Prato
p Direttore U.O. Urologia - Ospedale di Prato

Dott.ssa Stefania Capecchi

Biologa nutrizionista con Master in Oncologia integrata
LILT sede di Prato

Dott.ssa Elena Cecchi

Biologa

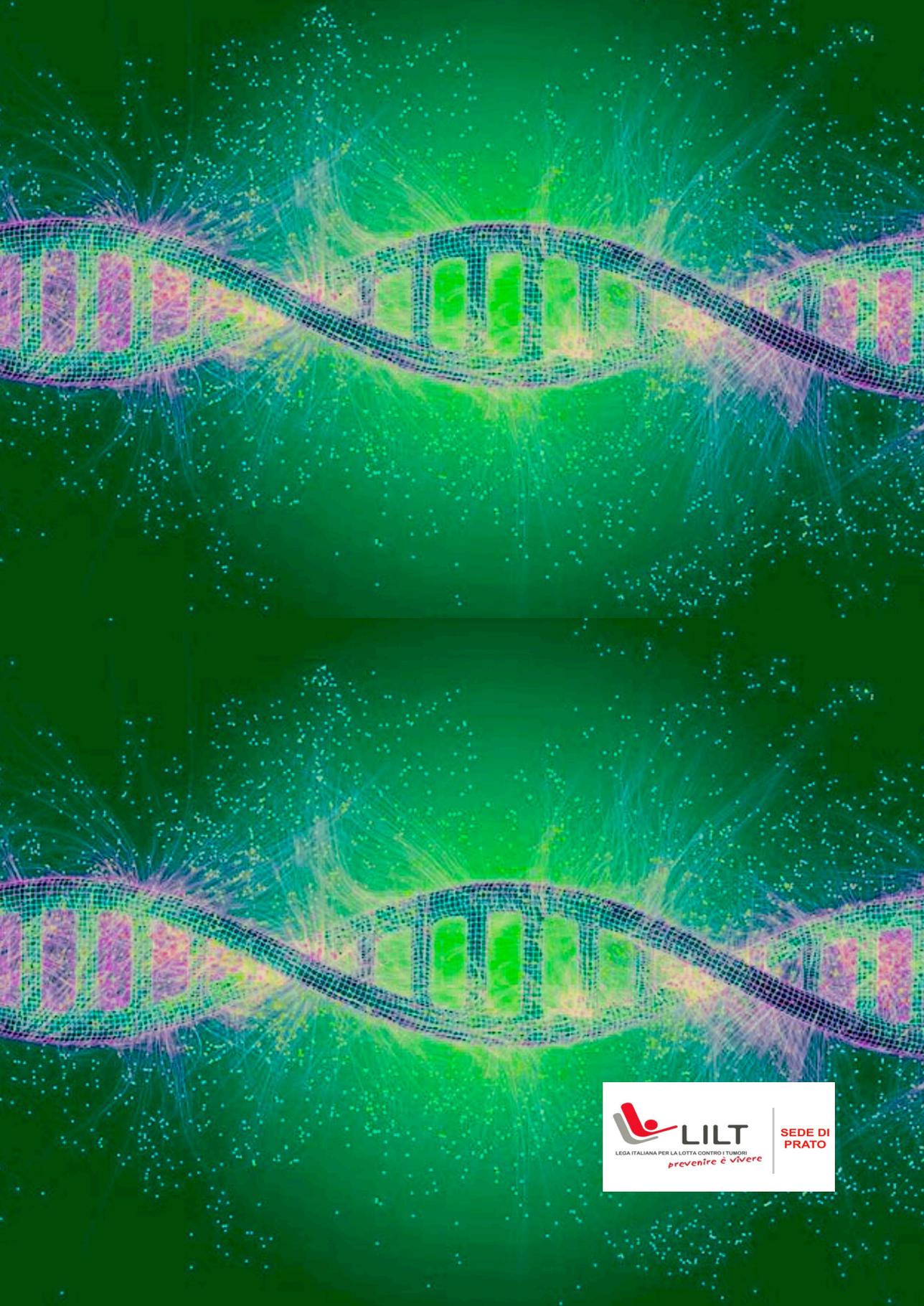
Dott.ssa Costanza Fatighenti

Responsabile del Servizio Infermieristico della LILT di Prato

Si ringraziano per la collaborazione

il Direttore Sanitario della LILT Dr. Alberto Candidi Tommasi, le Dott.sse Benedetta Marchesini e Silvia Carpita e lo Staff della LILT con Chiara Pastorini, Martina Antenucci, Martina Gianassi, Daniela Cosci, Silvia Marchi.

Un particolare ringraziamento va ai professori Adriana Albini, Alberto Izzotti, Giuseppe Mucci ed a tutti i Relatori medici e farmacisti che hanno partecipato al Convegno “La prevenzione primaria in Oncologia” che si è tenuto il 25 maggio 2024 a Prato nella sala convegni della LILT.



LEGA ITALIANA PER LA LOTTA CONTRO I TUMORI

prevenire è vivere

SEDE DI
PRATO