

L. VIGNA<sup>1</sup>, F. DE LISO<sup>2</sup>,  
C. NOVEMBRINO<sup>2</sup>,  
R. DE GIUSEPPE<sup>3</sup>,  
R. MAIAVACCA<sup>2</sup>, C. DE VITA<sup>3</sup>,  
F. BAMONTI<sup>3</sup>

## Valutazione degli effetti di una supplementazione naturale (CELLFOOD® SILICA PLUS gocce) sullo stato metabolico-nutrizionale-ossidativo di donne osteopeniche: studio pilota

PROGRESS IN NUTRITION  
VOL. 15, N. 3, 163-174, 2013

### TITLE

Evaluating effects of a natural supplementation on metabolic-nutritional-oxidative status in osteopenic women: a pilot study

### KEY WORDS

Oxidative status, nutraceuticals, osteopenia, osteoporosis, prevention

### PAROLE CHIAVE

stato ossidativo, nutraceutici, osteopenia, osteoporosi, prevenzione

<sup>1</sup>Area della Medicina Preventiva, UO Medicina del Lavoro 1, Clinica del Lavoro "L. Devoto"

<sup>2</sup>Laboratorio Centrale di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Biomediche, Chirurgiche ed Odontoiatriche, Università degli Studi di Milano, U.O. Ematologia e CTMO

<sup>1,2,3</sup>Fondazione IRCCS Cà Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, via F. Sforza 35, 20122 Milano

Address for correspondence:

Prof. Fabrizia Bamonti  
Dipartimento di Scienze Biomediche,  
Chirurgiche ed Odontoiatriche  
Università degli Studi di Milano,  
Unità Operativa di Ematologia e CTMO,  
Padiglione Marcora,  
Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale  
Maggiore Policlinico  
Via Francesco Sforza 35, 20122 Milano  
E-mail: fabrizia.bamonti@unimi.it

### Summary

Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by decreased bone mineral density (BMD) and micro-architectural deterioration with, consequently, an increase in bone fragility and susceptibility to fractures. It is caused by an imbalance in bone remodelling: bone resorption by osteoclasts exceeds bone formation by osteoblasts. Osteopenia, a condition preceding osteoporosis, can be characterized by unbalanced metabolic-nutritional-oxidative status. If, by means of prevention tests, you realize in time you have this condition, it could be treated with success. Increasing evidence suggests that dietary silicon (Si) is beneficial to bone and connective tissue health; a positive association between dietary Si intake and BMD has been demonstrated. Our aim was to evaluate the possible beneficial effects of an antioxidant compound enriched with Si dioxide (CELLFOOD® SILICA PLUS, Nu Science Corporation, CA, USA) on osteopenic women's BMD and metabolic-nutritional-oxidative status. A retrospective observational pilot study was carried out on 10 osteopenic women (aged 65,6±5,5) at baseline (T<sub>0</sub>) and after 3 (T<sub>1</sub>) and 5 (T<sub>2</sub>) months' CELLFOOD® SILICA PLUS supplementation, by assessing anthropometric, metabolic (bone metabolism), nutritional (glycaemia status; lipid panel; homocysteinaemia, Hcy), oxidative (Reactive Oxygen Species, ROS; Total Antioxidant Capacity, TAC; oxidized LDL, ox-LDL) parameters. All the analytes were measured by routine methods. DBM evaluation was carried out by using phalangeal ultrasonographic examination (DMB Sonic Bone profiler, IGEA, Italy). During the study the subjects' glycaemia status, lipid panel and homocysteinaemia were and remained within the reference values, taking into account intra-individual variability. Bone metabolism improved too (at T<sub>1</sub>, slight reduction in T-score, and, at T<sub>2</sub>, a significant increase in Calcium and Alkaline Phosphatase levels).

Ox-LDL is an innovative marker of oxidative stress. Interestingly, oxidative status showed that ox-LDL levels decreased significantly after 5 months' CELLFOOD® SILICA PLUS supplementation. This marker could be associated with the slight improvement in TAC. As expected, high ROS con-

centrations remained approximately unchanged. In fact, osteopenia following menopause causes oxidative stress because of estrogen (molecules with antioxidant properties) deficiency and unbalanced oxidative status (ROS and TAC imbalance) possibly depending on high osteoclastic activity.

The preliminary data of this pilot study suggest that CELLFOOD® SILICA PLUS can produce beneficial effects on osteopenia. Interestingly, this supplement might be a valuable coadjuvant in the prevention and treatment of oxidative stress and of bone mineral resorption, thanks to both its antioxidant properties and Si dioxide fortification.

### **Riassunto**

L'osteoporosi è una malattia del sistema scheletrico caratterizzata da una diminuzione della densità minerale ossea (BMD) e da un deterioramento microstrutturale con conseguente aumento della fragilità ossea e della suscettibilità alle fratture. L'osteoporosi è causata da uno squilibrio nei processi di rimodellamento osseo: il riassorbimento osseo operato dagli osteoclasti è maggiore rispetto alla deposizione ossea ad opera degli osteoblasti. L'osteopenia, condizione che precede l'osteoporosi, può essere caratterizzata da uno squilibrio dello stato metabolico-nutrizionale-ossidativo. Se tale condizione viene rilevata in tempo, può essere trattata con successo. Un numero sempre crescente di studi suggerisce che il Silicio alimentare (Si) è benefico per la salute dei tessuti osseo e connettivo; è stata inoltre dimostrata una correlazione tra l'assunzione di Silicio con la dieta e la BMD. Obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare gli eventuali benefici di un composto antiossidante, arricchito con diossido di Si (CELLFOOD© SILICA PLUS, Nu Science Corporation, CA, USA), sullo stato metabolico-nutrizionale-ossidativo e sulla BMD di soggetti con osteopenia. Uno studio pilota retrospettivo osservazionale è stato condotto su 10 donne osteopeniche (età  $65,6 \pm 5,5$ ) al momento dell'arruolamento ( $T_0$ ) e dopo tre ( $T_1$ ) e cinque ( $T_2$ ) mesi di supplementazione con CELLFOOD© SILICA PLUS gocce. I parametri antropometrici, nutrizionali (glicemia, quadro lipidico, omocisteinemia), metabolici (metabolismo osseo) ed ossidativi (Specie Reattive dell'Ossigeno, ROS; Capacità Antiossidante Totale, TAC; LDL ossidate, ox-LDL) sono stati misurati utilizzando i metodi di routine del nostro laboratorio. Durante il periodo dello studio, tutte le donne mantenevano livelli di glicemia, del quadro lipidico e dell'omocisteinemia all'interno dei valori di riferimento, nei limiti della variabilità biologica intra-individuale. Veniva registrato anche un miglioramento del metabolismo osseo (a  $T_1$  una lieve riduzione del T-score e a  $T_2$  un significativo aumento dei livelli di Calcio e della Fosfatasi Alcalina). Per quanto riguardava lo stato ossidativo, i livelli delle ox-LDL, marker in-

novativo dello stress ossidativo, erano significativamente diminuiti in tutti i soggetti dopo cinque mesi di supplementazione con CELLFOOD© SILICA PLUS. Questo risultato potrebbe essere correlato al lieve aumento della TAC. Come atteso, le elevate concentrazioni di ROS rimanevano sostanzialmente invariate. Infatti l'osteopenia, fisiologica conseguenza della menopausa, provoca stress ossidativo dovuto alla carenza di estrogeni (molecole con proprietà antiossidanti) ed allo squilibrio tra produzione di ROS e la TAC. Lo stato ossidativo sbilanciato dei soggetti osteopenici può essere dovuto ad una elevata attività osteoclastica. I dati preliminari di questo studio pilota suggeriscono che una supplementazione con CELLFOOD© SILICA PLUS può avere effetti benefici sull'osteopenia. Da notare come, grazie alle sue proprietà antiossidanti ed alla fortificazione con diossido di Si, il CELLFOOD© SILICA potrebbe essere un valido coadiuvante nella prevenzione e nel trattamento dello stress ossidativo e del riassorbimento osseo. In ogni caso sono necessari ulteriori studi su una popolazione più estesa per confermare i nostri risultati e per suggerire interventi di prevenzione dell'osteopenia/osteoporosi da parte della Sanità Pubblica.

## Introduzione

### *Osteoporosi*

L'osteoporosi è definita come un'alterazione sistemica dello scheletro, caratterizzata da ridotta massa minerale e deterioramento microstrutturale del tessuto osseo, con conseguente aumento della fragilità dell'osso e maggior rischio di fratture. L'osteoporosi rappresenta una malattia di rilevanza sociale. La sua incidenza aumenta con l'età sino ad interessare la maggior parte della popolazione oltre l'ottava decade di vita. Nell'età adulta, la struttura dell'osso è mantenuta da un continuo processo di rimodellamento ad opera di osteoblasti e di riassorbimento

ad opera di osteoclasti (1, 2); questo equilibrio dinamico è regolato da diversi fattori (genetici, endocrini, nutrizionali, stile di vita) che rendono l'eziopatogenesi dell'osteoporosi multifattoriale.

L'osteopenia è la condizione che precede l'osteoporosi ed è quella fase in cui ha inizio la riduzione della densità minerale ossea (BMD) (1, 2). È noto, infatti, che una certa quantità di massa ossea si riduce fisiologicamente ed inevitabilmente con l'età.

L'epidemiologia dell'osteoporosi (prevalenza, stili di vita e fattori clinici associati), effettuata in Italia tramite lo studio ESOP (Epidemiological Study On the Prevalence of Osteoporosis) condotto nell'anno

2000 su 16.000 pazienti (donne di età compresa tra i 40 e i 79 anni e uomini tra i 60 e i 79 anni) in 83 centri specialistici distribuiti su tutto il territorio nazionale, ha dimostrato che il 22,8% delle donne valutate (40-79 anni), ed in particolare quasi il 75% di quelle di età superiore ai 60 anni, è caratterizzata da fragilità ossea (osteopenia / osteoporosi) (3). Tale fenomeno colpisce in maniera massiccia soprattutto le donne in post menopausa, tuttavia, anche il 20% degli uomini ultracinquantenni è affetto da osteopenia e/o osteoporosi (4).

I soggetti con osteoporosi, rispetto agli individui sani, sono più predisposti a qualunque tipo di frattura; le fratture più frequenti sono quelle

del polso, delle vertebre e del femore. In particolare, mentre le fratture del polso sono le più comuni nelle donne in epoca peri-menopausale, la frattura vertebrale risulta essere quella osteoporotica più comune (incidenza del 25%); le fratture femorali, sono riconosciute come la complicanza più rilevante dell'osteoporosi (maggiore disabilità e più elevati costi sanitari).

Sono considerate "primitive" le forme di osteoporosi postmenopausali (deficit estrogenico che induce precoce e rapida perdita di massa ossea, riduzione secrezione paratormone e vitamina D) e senili (diminuzione assorbimento intestinale di calcio con aumento di calciuria, iperparatiroidismo e aumentato riassorbimento osseo) mentre le osteoporosi "secondarie" sono quelle determinate da un ampio numero di patologie, che causano malassorbimento di nutrienti, e dall'assunzione di determinati farmaci (1-4).

I fattori di rischio favorenti la perdita di BMD possono distinguersi in modificabili (abitudini nutrizionali e di stile di vita, fumo, alcool, vita sedentaria, patologie concomitanti, assunzioni di farmaci) e non modificabili (genetici, sesso, razza, assetto endocrino, costituzione eccessivamente magra, età, menopausa, invecchiamento) (1-6).

Nuovi *markers* biochimici del *turnover* osseo (nel siero: osteocalcina, propeptide del procollagene di

tipo I C-terminale ed N-terminale, telopeptide cross-linking del collagene di tipo I C-terminale ed N-terminale; nell'urina: crosslink del piridinio-piridinolina e desossipiridinolina) e la loro utilità nel monitoraggio del metabolismo osseo sono emersi da uno studio di *follow-up* di 10 anni effettuato su una popolazione giapponese (8).

#### *Stato ossidativo*

È noto che una quota di Specie Reattive dell'Ossigeno (Reactive Oxygen Species, ROS) viene prodotta nel nostro organismo, in condizioni normali, per effetto del metabolismo cellulare e viene controbilanciata dall'attività antiossidante endogena ed esogena (Total Antioxidant Capacity, TAC) che aiuta a combattere i danni causati dai ROS. Quando la concentrazione di ROS in circolo è superiore a quella fisiologica, il nostro sistema antiossidante non è più in grado di neutralizzare le specie chimiche ossidanti; si instaura, pertanto, una condizione di stress ossidativo che sembra costituire un importante elemento favorente l'insorgenza e/o la permanenza di numerose patologie croniche dell'adulto (9, 10). Anche il metabolismo osseo è influenzato da alterazioni dello stato ossidativo come riportato in diversi studi (11, 12). Malgrado non siano ancora chiari i meccanismi, alcuni studi hanno

evidenziato come i ROS siano coinvolti nel riassorbimento osseo per azione diretta dell'anione superossido prodotto dagli osteoclasti, contribuendo così alla degradazione dell'osso (13, 14). In condizioni fisiologiche, i ROS prodotti dagli osteoclasti sono coinvolti nel rimodellamento osseo favorendo la decalcificazione tissutale. Pertanto, l'iperattività osteoclastica e il decremento della funzionalità estrogeno-mediata degli osteoblasti che portano ad una riduzione della BMD dopo la menopausa, sono correlati ad un aumento dei livelli di ROS (15) correlato al decremento della funzionalità estrogeno-mediata degli osteoblasti.

È riportato da numerosi studi che i ROS in eccesso sono causa di modificazioni ossidative delle proteine, di lesioni al DNA, di perossidazione lipidica con produzione di diverse molecole dannose, tra le quali le LDL ossidate (LDLox) (10). Recentemente, studi *in vivo*, hanno evidenziato un ruolo delle LDLox nell'alterazione del *signaling* del "Receptor Activator of Nuclear Factor kappa B Ligand" (RANKL) e quindi nella differenziazione degli osteoclasti indotta dal RANKL stesso (16). Inoltre, lo studio riporta che le LDLox ostacolano la differenziazione osteogenica delle cellule staminali mesenchimali e dei pre-osteoblasti in favore di una differenziazione adipogenica (16).

### *Silicio ed alimentazione*

Dalla letteratura è emerso l'importante ruolo del silicio nella prevenzione di vari processi patologici ed, in particolare, nei meccanismi di calcificazione ossea (17-19). Il silicio è un oligoelemento che, per la sua affinità verso componenti chiave della matrice extracellulare, quali collagene ed elastina, conferisce ai tessuti connettivi caratteristiche meccaniche di elasticità e di resistenza e favorisce la formazione dei tessuti sia molli ed elastici (pelle ed annessi, gengive e cartilagini) sia duri (denti e ossa). In particolare, contribuisce alla rimineralizzazione ossea e conferisce elasticità alle pareti dei vasi sanguigni ed ai tendini (18, 19).

Il silicio, quale principale componente minerale di alcuni cibi soprattutto nei cereali, nei prodotti ortofrutticoli (cipolle, cavolfiori, fagioli, piselli, mele, fragole, luppolo) e nelle piante comuni (equisetto, piantaggine, arnica, ortica e gramigna), è stato oggetto di studi (20, 21).

Il processo di assorbimento intestinale del silicio non è chiaro e, molto probabilmente, dipende dalla forma chimica al momento dell'assunzione alimentare; esso viene espulso sotto forma di ortosilicato soprattutto a livello urinario (22). Non sono disponibili studi approfonditi sulle dosi racco-

mandate di silicio, e non si conoscono ancora eventuali effetti tossici legati all'iperdosaggio di silicio.

Gli integratori a base di silicio, grazie alla loro presunta funzione nella costituzione del tessuto connettivo e dell'osso, vengono utilizzati come prodotti *anti-aging*. L'applicazione più diffusa degli integratori a base di silicio naturale è di tipo estetico; più precisamente vengono utilizzati per migliorare il trofismo dei capelli, delle unghie e del tessuto connettivo della pelle. Solo recentemente, alcuni ricercatori stanno ponendo in primo piano l'importanza biologica del silicio nell'ossificazione; è possibile che questo minerale possa essere utilizzato nelle terapie preventive e curative dei disturbi legati alle articolazioni ed allo scheletro, ad esempio nell'osteoporosi menopausale (23, 24).

### *Valutazione densità ossea*

La massa minerale ossea può essere valutata in termini di "densità ossea" (Bone Mineral Density, BMD) con strumenti che permettono di misurarla utilizzando varie tecniche basate o sull'attenuazione di raggi X, ad es. Mineralometria Ossea Computerizzata (MOC) con tecnica DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry), o sulla diffusione e trasmissione di ultrasuoni. Le misurazioni della densi-

tà ossea possono essere eseguite in diversi siti scheletrici (polso, rachide lombare, femore prossimale, avambraccio, calcagno, falange prossimale della mano, intero scheletro). Il recente metodo di valutazione ultrasonografica quantitativa, che misura la velocità d'attraversamento degli ultrasuoni attraverso il tessuto osseo nella metafisi distale della prima falange del II, III, IV, V dito della mano, ha ampiamente dimostrato che la metodica è in grado di predire il rischio di fratture osteoporotiche (femorali, vertebrali, non vertebrali) in maniera non inferiore alla MOC DEXA lombare o femorale sia nelle donne sia negli uomini (25-27).

Per l'OMS la diagnosi densitometrica di osteoporosi si basa sulla valutazione con tecnica DEXA della densità minerale, raffrontata a quella media di soggetti adulti sani dello stesso sesso (picco di massa ossea). L'unità di misura è rappresentata dalla deviazione standard dal picco medio di massa ossea (T-score). È stato osservato che il rischio di frattura inizia ad aumentare in maniera esponenziale con valori densitometrici di T-score < -2.5 SD che, secondo l'OMS, rappresenta la soglia per diagnosticare la presenza di osteoporosi (28).

In particolare, la densitometria ossea valutata nel presente studio mediante l'analisi ultrasonografica

della falange, viene refertata sulla base dei valori di Amplitude Dependent Speed of Sound T- Score (AD-SOS T-score) che misura la velocità dell'onda ultrasonora calcolata nel momento in cui il segnale supera una soglia di ampiezza prestabilita (Tabella 1).

#### Scopo dello studio

Alla luce di tutte le considerazioni, scopo dello "studio pilota" è stato quello di valutare, in una popolazione di donne osteopeniche, gli effetti di una supplementazione naturale a base di silicio (CELLFOOD® SILICA PLUS gocce) determinando, in campioni di sangue, parametri biochimici riguardanti il metabolismo osseo, lo stato nutrizionale e quello ossidativo.

## Materiali e metodi

#### Soggetti

Il presente studio pilota retrospettivo osservazionale è stato condotto presso la "Unità Operativa di Medicina del Lavoro" della Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale

Maggiore Policlinico di Milano per l'arruolamento dei soggetti e presso il laboratorio di "Biochimica Clinica, Fattori Nutrizionali, Nutraceutica" del Dipartimento Scienze Biomediche, Chirurgiche ed Odontoiatriche, Unità Operativa di Ematologia e CTMO della Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano per la parte riguardante le fasi preanalitica, analitica e postanalitica dello studio.

A 10 donne osteopeniche (età media di  $65,6 \pm 5,5$  anni), afferenti consecutivamente presso il centro Obesità e Lavoro, Clinica del Lavoro "L. Devoto", Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, è stato consigliato l'utilizzo di un integratore naturale a base di silicio (CELLFOOD® SILICA PLUS gocce) secondo le regole della *Good Clinical Practice* attenendosi ai seguenti criteri di inclusione:

- valutazione della densità ossea comprovante lo stato di osteopenia ( $-1 \geq \text{AD-SOS T-score} \geq -3,2$ ,
- indice di Massa Corporea (BMI)  $< 30 \text{ Kg/m}^2$ ,

- assenza di patologie croniche e neoplastiche,
- assenza di gravidanza, allattamento e terapia estro-progestinica,
- assenza di supplementazione e/o terapia farmacologica per osteoporosi.

Le informazioni sulle abitudini alimentari di ciascun soggetto sono state indagate tramite il questionario auto-compilato Nutrition Status Assessment Score (NSAS) (29).

A tutti i soggetti è stata effettuata una valutazione della densità minerale ossea, dei parametri antropometrici (peso; altezza; circonferenza vita; BMI) e dei parametri biochimici riguardanti il metabolismo e lo stato ossidativo al momento della prima visita ( $T_0$ ), dopo tre ( $T_1$ ) e cinque ( $T_2$ ) mesi di utilizzo del prodotto CELLFOOD® SILICA PLUS gocce. Inoltre è stata consigliata una dieta equilibrata per tutto il periodo del trattamento.

#### Nutraceutico utilizzato

Per tale studio è stata proposta l'utilizzo della supplementazione "CELLFOOD® SILICA PLUS gocce", il quale è un integratore naturale antiossidante completo che contiene, in aggiunta a Deutrosulfazyme®, principio attivo della Formula Everett Storey, silicio organico in sospensione colloi-

**Tabella 1** - Categorie diagnostiche basate sui valori densitometrici del T-score

| AD-SOS T-score                            | Diagnosi    |
|---|-------------|
| $> -1$                                    | normale     |
| $-1 \geq \text{AD-SOS T-score} \geq -3,2$ | osteopenia  |
| $< -3,2$                                  | osteoporosi |

dale nella quantità di 6,6 g per 100 g. Tale sospensione rappresenta la modalità che rende l'elemento assimilabile e biodisponibile più rapidamente (30). La supplementazione prevedeva l'assunzione per tre mesi di 15 gocce di "CELL-FOOD® SILICA PLUS gocce" solubilizzate in 250 mL di acqua (a basso residuo fisso), due volte al giorno, 30 minuti circa prima della colazione e della cena.

#### Metodi

La valutazione della densità minerale ossea è stata effettuata utilizzando il metodo della ultrasonografia quantitativa alla metafisi distale della prima falange del II, III, IV, V dito della mano, mediante l'utilizzo di un'apparecchiatura trasportabile non invasiva (DBM Sonic Bone Profiler; IGEA, Carpi, Italia) (25-27).

Il protocollo routinario prevedeva per ciascun soggetto un prelievo di sangue venoso periferico a digiuno per l'esame emocromocitometrico e per il dosaggio dei livelli dei seguenti parametri ematochimici:

- stato glicemico (glicemia; insulinenemia);
- parametri riguardanti il metabolismo osseo (calcemia, Ca; fosforemia, P; livelli di fosfatasi alcalina, ALP);
- assetto lipidico (colesterolemia totale, t-Col; trigliceridemia, TG; colesterolemia HDL,

HDL; colesterolemia LDL, LDL);

- omocisteinemia;
- stato ossidativo (livelli di ox-LDL, ROS e TAC).

Il pannello lipidico e lo stato glicemico venivano valutati su analizzatore automatizzato Modular P Analytics (Roche, Switzerland). Il dosaggio delle concentrazioni di omocisteina veniva effettuato mediante metodica immunoenzimatica utilizzando il kit commerciale ST AIA-Pack HomoCYS su analizzatore automatizzato AIA 600II Analyser (Tosoh Bioscience, Tokyo-Japan).

Le concentrazioni sieriche di ROS e la TAC venivano misurate utilizzando i kit commerciali (dROMs test and OXY-Adsorbent test, rispettivamente, Diacron International, Grosseto, Italia) su spettrofotometro dedicato F.R.E.E. analyzer (Diacron), come descritto in precedenza (31).

Le concentrazioni sieriche di ox-LDL venivano valutate mediante metodica ELISA, utilizzando il rispettivo kit commerciale (ELISA, Mercodia, Uppsala, Sweden) su lettore di piastra EASIA reader (Medgenix Diagnostics, Fleurus, Belgio), come descritto in precedenza (9).

#### Analisi statistica dei dati

L'analisi statistica dei dati è stata effettuata usando un test non parametrico (Wilcoxon test) uti-

lizzando il software MedCalc (citazione); sono stati considerati significativi i dati con  $p < 0,05$ .

#### Comitato etico

Per il presente studio retrospettivo osservazionale è stato ottenuto il consenso informato per il trattamento dei dati ai fini di cura e ricerca al momento dell'ingresso presso l'Unità Operativa di Medicina del Lavoro. Tale studio, inoltre, è stato comunicato al Comitato Etico della Fondazione, che ne ha preso atto (delibera n. 852).

#### Risultati

In Tabella 2 sono riportati i dati dei parametri antropometrici e biochimici riscontrati nelle 10 donne partecipanti allo studio e rilevati al momento dell'arruolamento ( $T_0$ ), dopo 3 mesi di supplementazione con CELL-FOOD® SILICA PLUS gocce ( $T_1$ ) e dopo altri 2 mesi di ininterrotta supplementazione ( $T_2$ ).

Tutti i soggetti osteopenici erano e restavano normopeso. Dopo tre mesi di trattamento il valore di AD-SOS T-score aumentava leggermente, anche se non in modo significativo, mentre si notava la presenza di un trend di miglioramento del metabolismo osseo (con incremento significativo di calcemia a  $T_2$ ). Pannello glucidico, as-

**Tabella 2** - Parametri antropometrici e biochimici al tempo basale (T<sub>0</sub>), dopo 3 mesi (T<sub>1</sub>) e dopo 5 mesi di supplementazione (T<sub>2</sub>). I dati sono riportati come media ± DS

|   | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub>   | T <sub>2</sub>  |
|---|----------------|------------------|-----------------|
| Età   | 65,6 (± 5,5)   |                  |                 |
| Peso  | 74,67 (± 9,98) | 72,5 (± 9,73)    |                 |
| BMI (Kg/m <sup>2</sup> )                      | 27,04 (± 2,71) | 25,26 (± 2,53)   |                 |
| T-score                                       | -2,20 (± 1)    | -2.06 (± 0,97)   |                 |
| ANALITI (intervallo di riferimento o cut-off) |                |                  |                 |
| oxLDL (<70 UI/L)                              | 73,16 (± 24,7) | 66,33 (± 20,15)  | 58,16 (± 26,8)* |
| ROS   | 411 (± 90,23)  | 428,16 (± 52,67) | 431,5 (± 44,76) |
| TAC   | 387 (± 66,21)  | 443,16 (± 81,82) | 439 (± 49,18)   |
| Ca (8.4 – 10.2 mg/dl)                         | 9,58 (± 0,16)  | 9,78 (± 0,21)    | 9,99 (± 0,34) * |
| P (3,30 - 5,10 mEg/l)                         | 3,55 (± 0,37)  | 3,73 (± 0,42)    | 3,83 (± 0,44)   |
| ALP (40 - 129 U/l)                            | 74,0 (± 21)    | 78.16 (± 24,11)  | 87,16 (± 22,86) |

\* *p*<0,05, Wilcoxon test

setto lipidico ed omocisteinemia erano nella norma in quasi tutti i soggetti a T<sub>0</sub> e tali si mantenevano per tutto il periodo dello studio (dati non presentati in tabella).

Il bilancio dello stato ossidativo mostrava che i livelli di ROS, già elevati a T<sub>0</sub>, si mantenevano tali nel tempo, mentre la capacità antiossidante totale tendeva, a seguito della supplementazione, ad un miglioramento, anche se non significativo. Il lieve aumento dell'attività antiossidante che, nei mesi, si era verificato veniva confermato dalla riduzione significativa dei livelli delle LDL ossidate, marker di danno ossidativo.

In figura 1A (soggetto esaminato al tempo basale, T<sub>0</sub>) ed in figura 1B

(stesso soggetto esaminato a T<sub>2</sub>) è riportato un esempio di diagramma della valutazione della densità minerale ossea effettuata con ultrasonografia quantitativa alla falange. In questo caso-esempio, è visibile, dopo i 5 mesi di supplementazione, un lieve miglioramento del AD-SOS T-score.

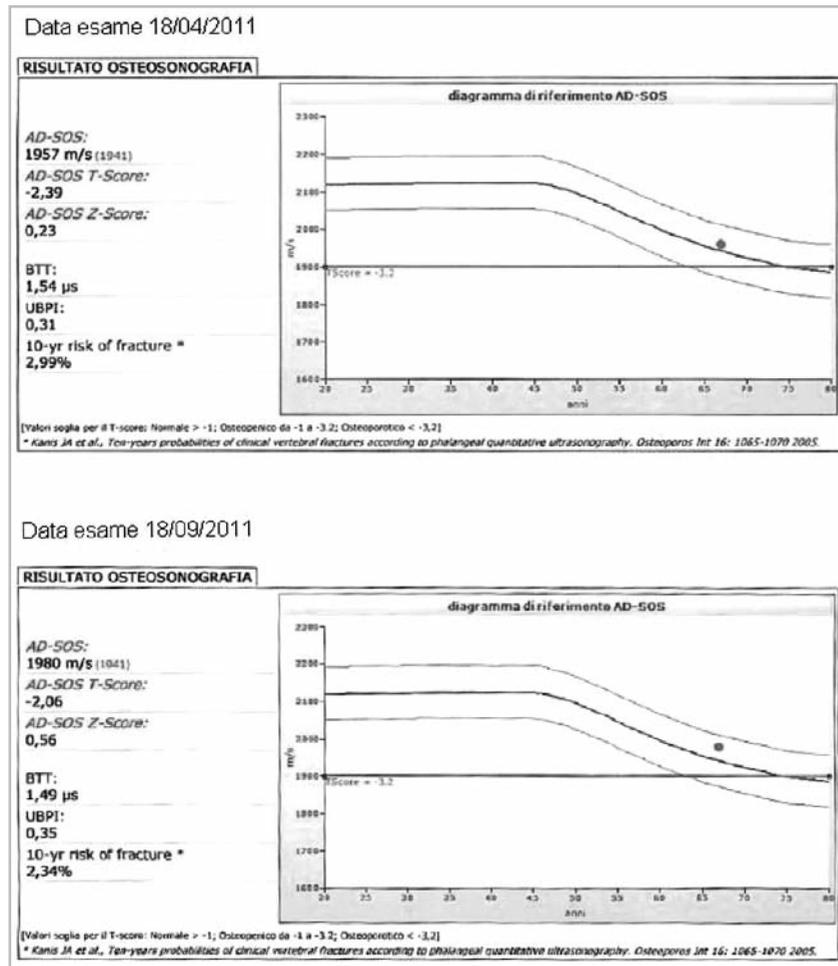
### Discussione

Il presente studio pilota si è proposto di valutare gli effetti di un nutraceutico sullo stato metabolico-nutrizionale-ossidativo di donne osteopeniche ed ha dimostrato, anche se in un esiguo numero di casi, l'efficacia di una supplementazione

giornaliera dell'integratore naturale antiossidante CELLFOOD® SILICA PLUS. Questo integratore, essendo arricchito con Silicio organico in forma colloidale, che è maggiormente biodisponibile e più facilmente assimilabile, è risultato infatti essere in grado di influenzare, anche se lievemente dato il breve periodo ed il numero limitato di soggetti esaminati, il processo di riassorbimento osseo ma anche di apportare un netto miglioramento allo stato ossidativo dei partecipanti allo studio.

Il primo dato, ed anche il più nuovo ed interessante, che emerge da tale studio è la diminuzione significativa delle concentrazioni di oxLDL riscontrata nelle donne che

**Figura 1** - A. Esempio di referto della valutazione della densità minerale ossea di un soggetto osteopenico al tempo basale ( $T_0$ ); B. Esempio di referto dello stesso soggetto al termine della supplementazione ( $T_2$ )



hanno assunto giornalmente per cinque mesi il prodotto. Recentemente numerosi studi hanno evidenziato l'utilità clinico-diagnostica del dosaggio dei livelli di ox-LDL (primo "movers" della placca aterosclerotica) quale potente marker di danno da perossidazione lipidica e, di conseguenza, di evoluzione

dell'aterosclerosi nonché fattore predittivo per eventi cardiovascolari. L'European Food Safety Authority (EFSA) Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) ha riconosciuto "attendibile marker di stress ossidativo" in studi nutrizionali la concentrazione di ox-LDL misurata con im-

munoassays dotati di appropriata specificità, quale il Mercodia Oxidized LDL ELISA, metodo da noi utilizzato (32). Il dosaggio dei livelli ematici di ox-LDL, tuttavia, in generale nella pratica clinica, è ancora poco utilizzato e non inserito tra i tradizionali esami della routine per la prevenzione di patologie cardiovascolari mentre potrebbe risultare molto utile in quanto consente di valutare inizio e progressione dell'aterosclerosi.

La produzione di ROS, situazione fisiologica, "transitoria", riveste un ruolo indispensabile per un buon funzionamento del nostro organismo (bilancio energetico nella respirazione mitocondriale, risposte del sistema immunitario, produzione di "molecole-messaggeri cellulari", quali anione superossido ed ossido nitrico). Fortunatamente, la riserva organica di antiossidanti, endogeni ed esogeni, fanno fronte alla presenza/eccesso di ROS che si formano in varie sedi. Uno sbilanciamento tra fattori pro-ossidanti e fattori antiossidanti provoca la condizione di "stress ossidativo" che, se non eliminato o almeno contenuto e ridotto in tempi brevi, può causare la distruzione di molecole biologiche vitali (lipidi, proteine, DNA), di cellule e tessuti con conseguente invecchiamento precoce, comparsa e/o progressione delle principali patologie cronico-degenerative (33, 34). L'invecchiamento, anche se è un processo fisiologico, può essere

rallentato e/o ritardato da una serie di accorgimenti, quali alimentazione equilibrata, adeguato stile di vita e assunzione costante di idonei prodotti naturali ben dosati e ben inseriti nella dieta quotidiana (10). Il nostro studio pilota ha evidenziato che una supplementazione regolare con l'integratore CELLFOOD® SILICA PLUS gocce può risultare utile anche a livello preventivo. Infatti, il contenuto antiossidante di tale prodotto va ad aggiungersi all'attività antiossidante individuale, endogena ed esogena, deputata a controbilanciare l'eccesso di ROS i quali, prodotti dagli osteoclasti, possono favorire la progressione da osteopenia ad osteoporosi (13-15). Infatti, come riportato in letteratura, un aumento di ROS, ed in particolare dell'anione superossido, ha un'azione particolarmente nociva sul processo di riassorbimento osseo (11-15).

Sulla base di queste conoscenze e dei risultati relativi allo stato ossidativo dei nostri soggetti, la prescrizione di un integratore naturale a base di fattori nutraceutici antiossidanti come il CELLFOOD® SILICA PLUS, sembra essere stata una scelta mirata. Tutti i soggetti partecipanti allo studio presentavano una moderata condizione di stress ossidativo dovuta ad un'eccessiva produzione di ROS anche se ben bilanciata da un buon livello di difese antiossidanti, grazie anche alla dieta mediterranea, comu-

ne a tutte le partecipanti, rilevata mediante il questionario auto-compilato Nutrition Status Assessment Score (NSAS) (29).

Le concentrazioni moderatamente elevate di ROS al momento dell'arruolamento, si mantenevano tali anche dopo supplementazione. Una spiegazione di questo stato potrebbe derivare dal nostro recente studio che, in accordo con la letteratura, ha dimostrato la presenza di moderato stress ossidativo in donne sia osteopeniche sia osteoporotiche dovuta in generale alla carenza di estrogeni in età post-menopausale; tuttavia il dato più nuovo ed interessante emerso da tale studio è stato che l'aumento dei livelli di ROS era significativamente maggiore nell'osteopenia rispetto all'osteoporosi e, probabilmente, era dovuto alla maggiore attività osteoclastica della fase osteopenica (35).

La valutazione clinica dei soggetti arruolabili, basata sull'assenza di problematiche nutrizionali e cardiovascolari come evidenziato dal questionario, dai valori dell'assetto glucidico-lipidico e dai livelli di omocisteina nella norma a T<sub>0</sub>, trovava conferma nella stabilità di tali parametri durante tutto il periodo dello studio. L'effetto benefico della supplementazione naturale CELLFOOD® SILICA PLUS gocce, ricca di molteplici sostanze antiossidanti e, soprattutto, contenente del silicio, elemento impor-

tante nei meccanismi di calcificazione ossea (16-18), si manifestava, come già accennato, già dopo tre mesi di supplementazione, soprattutto in una significativa riduzione dei livelli di ox-LDL ma anche in un lieve miglioramento dell'indice di massa ossea ed in un aumento dei parametri del metabolismo osseo.

Va infine evidenziato che, in questo studio pilota, l'indice di massa ossea è stato valutato con l'ultrasonografia quantitativa alla falange mediante l'utilizzo di un'apparecchiatura ad ultrasuoni, non invasiva ed inoltre portatile (25-27). Molto interessante è risultata la "risposta visiva" immediata fornita dal diagramma della valutazione della densità minerale ossea, che, in alcune donne, presentava un lieve miglioramento, come nell'esempio riportato in figura 3 A e B. L'individualità biologica alla risposta della supplementazione non ha, ovviamente, mostrato lo stesso identico visibile miglioramento in tutte le partecipanti allo studio. I dati ottenuti sono risultati, come ampiamente dimostrato dalla letteratura e da noi verificato in alcuni casi, in pieno sovrapponibili a quelli della MOC con tecnica DEXA (25-27). Pertanto, questa metodica è utilizzabile per il monitoraggio e permette di fare con precisione la diagnosi di osteopenia (una modesta demineralizzazione ossea, che

costituisce un po' un campanello di allarme) o osteoporosi (una demineralizzazione ossea più consistente, che comporta il rischio più o meno grave di fratture).

In conclusione, i risultati preliminari di questo studio pilota sembrano confermare la duplice azione di CELLFOOD® SILICA PLUS gocce quale antiossidante ed adiuvante i processi di rimineralizzazione ossea e suggeriscono di aumentare il numero di soggetti da sottoporre al trattamento con CELLFOOD® SILICA PLUS per validare in modo più certo e scientificamente più credibile i benefici effetti che la popolazione a rischio potrebbe trarre da tale supplementazione.

Inoltre, l'utilizzo dell'ultrasonografia quantitativa alla falange che ha permesso una rapida selezione dei soggetti osteopenici, ha costi ridotti e risultati ben riproducibili e sovrapponibili alla MOC con tecnica DEXA, permette di fare una prima indagine; qualora fosse necessario, si può approfondire mediante la strumentazione radiologica.

In conclusione, essendo l'osteoporosi una condizione quasi sempre asintomatica e, spesso, sotto-diagnosticata e sotto-trattata, ma nel contempo di importante impatto epidemiologico in Italia e nel mondo, è fondamentale intraprendere e promuovere iniziative di prevenzione globale in previsione della cresci-

ta dell'invecchiamento della popolazione. Il nostro studio pilota si inserisce in pieno in tale contesto mettendo in evidenza l'importanza della prevenzione tramite adeguata e mirata integrazione nutrizionale. Inoltre, l'uso combinato dei parametri ultrasonografici e della valutazione di fattori di rischio può consentire un facile monitoraggio della BMD al fine di individuare una condizione di osteopenia, prevenire osteoporosi e predire il rischio di frattura.

Da ultimo non vanno sottovalutati i vantaggi derivanti da una popolazione a minor rischio di fratture: notevole risparmio di costi a carico del sistema sanitario nazionale, minore impegno di assistenza familiare e/o pubblica, ma e soprattutto, minori sofferenze per l'individuo.

### Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare tutte le persone che volontariamente hanno aderito all'arruolamento dimostrando una encomiabile *compliance* e la ditta Eurodream, nella persona del dott. Giorgio Terziani, per il supporto fornito.

### Bibliografia

1. Sambrook P, Cooper C. Osteoporosis. *Lancet* 2006;367:2010-8.
2. Burns L, Ashwell M, Berry J, et al. UK Food Standards Agency Optimal Nutrition Status Workshop: environmen-

tal factors that affect bone health throughout life. *Br J Nutr.* 2003; 89: 835-40.

3. Gualano MR, Sferrazza A, Cadeddu C, et al. Epidemiologia dell'osteoporosi post-menopausale nel mondo e in Italia. *IJPH.* 2011;8(2):S3-22.
4. Stazi A, Manno V, Torre M. Osteoporosi: cause, prevenzione, terapie e dati epidemiologici. *Notiziario Istituto Superiore Sanità.* 2009;22(12):3-8.
5. Ralston HS and Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2010;31(5):629-62.
6. Hardcastle AC, Aucott L, Fraser WD, Reid DM and Macdonald HM. Dietary patterns, bone resorption and bone mineral density in early post-menopausal Scottish women. *Eu J Clin Nutr.* 2011;65:378-85.
7. Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC, Osteoporosis: now and the future. *Lancet.* 2011;377:1276-87.
8. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T. Biochemical markers of bone turnover as predictors of osteoporosis and osteoporotic fractures in men and women: 10-year follow-up of the Taiji cohort. *Mod Rheumatol.* 2011; 21(6):608-20.
9. Novembrino C, Cighetti G, De Giuseppe R, et al. Effects of encapsulated fruit and vegetable juice powder concentrates on oxidative status in heavy smokers. *J Am Coll Nutr.* 2011; 30(1): 49-56.
10. Vigna L, Cossovic A, Sommaruga D, et al. Controllo del peso in soggetti lavoratori: efficacia di un prodotto vegetale crudo (GoJuvo®) inserito in una dieta moderatamente ipocalorica. *Progr in Nutr* 2012;14(4):265-76.
11. Maggio D, Barabani M, Pierandrei M, et al. Marked Decrease in Plasma Antioxidants in Aged Osteoporotic Women: Results of a Cross-Sectional Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88: 1523-7.
12. D'Amelio P, Cristofaro MA, Tamone

- C, et al. Role of iron metabolism and oxidative damage in postmenopausal bone loss. *Bone*. 2008;43:1010-5.
13. Ozgocmen S, Kaya H, Fadillioglu E, Aydogan R, and Yilmaz Z. Role of antioxidant systems, lipid peroxidation, and nitric oxide in postmenopausal osteoporosis. *Mol Cell Biochem*. 2007;295:45-52.
  14. Sendur OF, Turan Y, Tastaban E, Serter M. Antioxidant status in patients with osteoporosis: A controlled study. *Joint Bone Spine*. 2009; 76: 514-518.
  15. Altindag O. Total oxidative/anti-oxidative status and relation to bone mineral density in osteoporosis. *Rheumatol Int*. 2008;28:317-21.
  16. Mazière C, Savitsky V, Galmiche A, Gomila C, Massy Z, Mazière J. Oxidized low density lipoprotein inhibits phosphate signaling and phosphate-induced mineralization in osteoblasts. Involvement of oxidative stress. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1802:1013-9.
  17. Mancinella A. Silicon, a trace element essential for living organisms. Recent knowledge on its preventive role in atherosclerotic process, aging and neoplasms. *Clin Ter* 1991;37:43.
  18. Jugdaohsingh R, Tucker KL, Qiao N, Cupples LA, Kiel DP, Powell JJ. Dietary silicon intake is positively associated with bone mineral density in men and premenopausal women of the Framingham offspring cohort. *J Bone Miner Res*. 2004; 19(2): 297-307.
  19. Jugdaohsingh R. Silicon and bone health. *J Nutr Health Aging* 2007; 11(2): 99-110
  20. Jugdaohsingh R, Jugdaohsingh R, Anderson SH, et al. Dietary silicon intake and absorption. *Am J Clin Nutr*. 2002; 75: 887-93.
  21. Sripanyakorn S, Jugdaohsingh R, Dissayabutr W, Anderson SH, Thompson RP, Powell JJ. The comparative absorption of silicon from different foods and food supplements. *Br J Nutr*. 2009;102(6):825-34.
  22. G. Arienti, *Le basi molecolari della nutrizione*. Seconda edizione Piccin Editore, Padova, Italy.
  23. McNaughton SA, Bolton-Smith C, Mishra GD, Jugdaohsingh R, Powell JJ. Dietary silicon intake in post-menopausal women. *Brit J Nutr*. 2005; 94:813-7.
  24. Xiaohong Wang et al. Bio-silica and bio-polyphosphate: applications in biomedicine (bone formation) *Current Opinion in Biotechnology* 2012; 23:570-8
  25. Wuster et al Phalangeal osteosonogrammetry study: age-related changes, diagnostic sensitivity, and discrimination power. The Phalangeal Osteosonogrammetry Study Group. *J Bone Miner Res* 2000;15:1603-14.
  26. Omodei U, Benussi C, Ramazzotto F, Feller M, Gambacciani M. Risk identification of osteoporosis in postmenopausal women by a simple algorithm based on ultrasound densitometry and body mass index. *J Clin Densitom*. 2008 Jul-Sep;11(3):412-6.
  27. Guglielmi G, de Terlizzi F. Quantitative ultrasound in the assessment of osteoporosis. *Eur J Radiol* 2009; 71: 425-31.
  28. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. Geneva, World Health Organization, 1994 (WHO Technical Report Series, No. 843).
  29. Calvelli L, Accinni R, Gregori D, et al. Un questionario semplice rapido ed efficace per la valutazione delle abitudini dietetiche e dello stress ossidativo legato all'alimentazione nei pazienti pneumologici. *Progr Nutr*. 2011; 13(1): 55-64.
  30. Lenzi C. CELLFOOD®. La ricerca scientifica. Nuove strategie nel trattamento delle osteopenie. Atti del 12° Congresso Eurodream. Bologna, 6 Settembre 2006.
  31. Campise M, Bamonti F, Novembrino C, et al. Oxidative stress in kidney transplant patients. *Transplantation*. 2003; 76: 1474-8.
  32. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA); Draft guidance on the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health released for public consultation. *EFSA Journal*. 2011; 9(12): 24-74.
  33. Knak Jensen SJ. Oxidative stress and free radicals. *J Mol Struct:Theor Chem*. 2003; 667: 387-92.
  34. Stadtman ER. Importance of individuality in oxidative stress and aging. *Free Rad Biol Med* 2002; 33: 597-604.
  35. De Giuseppe R, de Liso F, Novembrino C, et al. Oxidative status in osteopenic and osteoporotic postmenopausal women. 8<sup>th</sup> Annual Conference of European Nutraceutical Association. *Ann Nutr Metab* 2012; 61: 329.