

C. GALLI, P. RISÉ,
F. MARANGONI

Acidi grassi Omega 3. Dagli alimenti all'uomo: biodisponibilità, conversione metabolica e livelli ematici in popolazioni

PROGRESS IN NUTRITION
VOL. 9, N. 2, 88-93, 2007

TITLE

From foods to human consumption: bioavailability, metabolic conversion and blood levels in populations

KEY WORDS

Omega 3 FA in "niche" foods, bioavailability of omega 3 FA, omega 3 FA status in large populations and population groups, innovative analytical strategies

PAROLE CHIAVE

Omega 3 in alimenti nicchia, biodisponibilità degli omega 3, status in omega 3 in popolazioni, strategie analitiche innovative

Dipartimento di Scienze
Farmacologiche
Università degli studi di Milano

Summary

The massive and rapidly growing interest in the effects of Omega 3 Fatty Acids (FA) on human health requires awareness of: a) the biological and nutritional "peculiarities" of these compounds, and b) the very relevant and yet not adequately appreciated issues concerning the design, development and the evaluation of results of epidemiological and controlled intervention studies.

In fact: a) Omega 3 FA are present in very limited amounts in conventional diets, especially when compared to the Omega 6 FA, being present exclusively in organisms that in the course of evolution have adapted to the aquatic environment; in certain, not yet adequately explored, "niche" foods, and, in organisms at higher levels in the evolutionary scale, only in functionally specialized biological structures (e.g.. synapses, contractile cells, ecc.), where they play essential roles. b) The assessment of the basal and the final Omega 3 FA "status" (information that cannot be adequately derived from the use of food questionnaires) is required in any population or group in planning epidemiological or intervention studies. These data can be obtained exclusively with the analysis of the FA composition of circulating lipids (plasma, whole blood), and in turn can be correlated with dietary intakes of Omega 3 FA, and with physiopathological parameters. In addition this type of information is useful in the assessment of the bioavailability of Omega 3 FA in relation to the sources and types of formulations. An innovative analytical strategy developed in our lab for the collection of blood drops from a fingertip and the direct preparation of FA derivatives for gas chromatographic analysis, allows to assess the Omega 3 FA "status" in large populations, including groups that cannot be easily handled, such as neonates, pregnant women, population groups in remote countries (e.g.. Cambodia and Tibet), and to address all the issues that have been raised (from foods to humans).

Riassunto

Il grande interesse, in rapida crescita, per gli aspetti salutistici degli Acidi Grassi Omega 3 richiede: a) attenzione verso le "peculiarità" biologiche e nutrizionali di tali composti, e b) consapevolezza delle problematiche nella programmazione, sviluppo e valutazione dei risultati in studi epidemiologi-

ci e di intervento controllato sugli effetti degli Omega 3. Infatti: a) Gli Omega 3 hanno una reperibilità assai limitata negli alimenti convenzionali, essendo presenti esclusivamente in organismi che nel corso dell'evoluzione si sono adattati ad ambienti acquatici; in certi alimenti "nicchia" non adeguatamente esplorati, e, negli organismi superiori, solo in strutture ad alta specializzazione funzionale (es. sinapsi, strutture contrattili, ecc.) dove svolgono ruoli essenziali. b) È necessaria la valutazione dello "status" in AG Omega 3 in qualsiasi popolazione o gruppo (dato non estrapolabile dall'uso di questionari alimentari), nella programmazione di studi epidemiologici e di intervento. Tali dati sono esclusivamente ricavabili dall'analisi della composizione in AG dei lipidi circolanti (plasma, sangue intero), a sua volta correlabile con i consumi alimentari di Omega 3, e con parametri fisiopatologici dall'altro. Inoltre tale informazione è utile per valutare la biodisponibilità di Omega 3 a seconda delle fonti e formulazioni, parametro tuttora non adeguatamente valutato. Una strategia analitica innovativa da noi sviluppata per la raccolta di gocce di sangue dal polpastrello e la preparazione dei derivati per l'analisi gas cromatografica, permette di valutare lo "status" in Omega 3 in ampie popolazioni, anche difficilmente gestibili, quali i neonati, donne in gravidanza, in paesi remoti (es. Cambogia e Tibet), e di affrontare i problemi sopra indicati (dagli alimenti all'uomo).

L'interesse per l'utilizzazione alimentare e/o l'impiego farmacologico degli acidi grassi (AG) Omega 3 (o n-3) a fini salutistici, di prevenzione e trattamento di varie forme di patologie è letteralmente "esploso" in questi ultimi decenni. In particolare le applicazioni sono rivolte al trattamento di malattie a sviluppo progressivo e ad ampia diffusione (cardiovascolari, neurodegenerative, metaboliche, ecc) o ad ottimizzare lo stato fisiologico dell'individuo in determinate condizioni (sviluppo perinatale, gravidanza, invecchiamento). Il gran numero di studi a sostegno di tali indicazioni, documentato dal numero impressionante di pubblica-

zioni, ha reso il termine Omega 3 familiare anche ai non addetti e pertanto ad un'ampia porzione della popolazione in generale.

Tuttavia, nonostante i notevoli progressi in queste aree di ricerca, vi sono molti aspetti non chiaramente percepiti, anche da chi utilizza gli AG Omega 3 al fine di trattamenti, che riguardano le caratteristiche assai peculiari di tali composti. Inoltre vi sono problematiche non ancora risolte, per quanto riguarda la loro utilizzazione e l'interpretazione dei risultati da essa ottenuti.

Le peculiarità degli AG Omega 3 sono dipendenti dai seguenti requisiti:

a) Si tratta di composti presenti, in genere, in concentrazioni assai limitate negli organismi viventi e pertanto nella nostra alimentazione convenzionale. Infatti, nelle strategie biologiche legate all'evoluzione delle specie, la loro presenza negli organismi è legata a processi di adattamento o della specie "in toto", anche ai livelli inferiori della scala evolutiva, o di componenti di determinati sistemi biologici evoluti, in organismi superiori, dove svolgono ruoli chiave nella regolazione di funzioni. In particolare, gli AG Omega 3 compaiono in sistemi biologici relativamente semplici, quali le al-

ghe, per adattamento all'ambiente acquatico in cui si sviluppano: l'alta pressione idrostatica, la temperatura in genere bassa, e la ridotta tensione di ossigeno hanno richiesto la produzione di AG ad elevato livello di insaturazione. Questi composti caratterizzati da una assai bassa temperatura di fusione, quando incorporati in strutture biologiche, impartiscono un'elevata fluidità alle membrane cellulari e subcellulari, necessaria per la sopravvivenza e sviluppo delle specie indicate nelle condizioni descritte. Le alghe, soprattutto quelle di mari freddi, hanno pertanto un alto contenuto in AG Omega 3 altamente insaturi ed a lunga catena, quali gli AG EPA (eicosapentaenoico, 20:5 n-3) e DHA (docosaesaenoico 22:6 n-3) (1, 2). Per contrasto nel mondo vegetale terrestre, che si è sviluppato in un ambiente con caratteristiche assai diverse da quelle del modo acquatico, non sono presenti gli Omega 3 indicati (EPA e DHA), ma si riscontrano solo (in alcune piante) gli Omega 3 a minor grado di insaturazione ed a più corta catena (alfa linolenico, ALA 18:3 n-3). Nel mondo acquatico e in particolare marino, a loro volta pesci ed altre specie animali, si sono sviluppate per la disponibilità, fornita dalle alghe, di composti che ne permettessero la sopravvivenza e lo sviluppo nel mondo subacqueo.

Negli organismi animali superiori, la presenza di AG Omega 3 ad elevato grado di insaturazione si riscontra selettivamente in membrane di cellule altamente specializzate, in sistemi biologici complessi (nervoso, cardiovascolare, immunitario, ecc.), dove svolgono ruoli articolati: strutturali (come componenti di glicerofosfolipidi nelle membrane sinaptiche del sistema nervoso), o funzionali (canali ionici nelle cellule cardiache, risposte recettoriali, traduzione dei segnali cellulari, mediatori lipidici in cellule infiammatorie, ecc.).

Ne consegue che nella nostra alimentazione in genere (ad eccezione del consumo di pesce) la quota di Omega 3 a lunga catena (EPA e DHA) sia rappresentata in quantità molto ridotte (< 0.5 g/die rispetto ad un apporto globale di oltre 100 g/die di grassi totali). Quantità apprezzabili dell'AG Omega 3 ALA (18:3 n-3), tipicamente presente in vegetali terrestri, sono presenti in certe fonti alimentari vegetali (es. oli di colza a basso erucico, semi di lino, noci) (3). Tuttavia il grado di convertibilità dell'ALA ai derivati altamente insaturi non è stato adeguatamente valutato in generale, anche se i livelli di EPA, in particolare, non paiono apprezzabilmente inferiori in popolazioni vegetariane, ad alto consumo di ALA, rispetto ai

consumatori di pesce (4) suggerendo che la sintesi di EPA da ALA sia adeguata. La sintesi di DHA dal precursore non pare invece un processo efficiente (5) e pertanto, soprattutto in alcune fasi fisiologiche (sviluppo perinatale) si richiede l'apporto di DHA preformato.

b) La scarsità della presenza di Omega 3 in generale, e soprattutto di EPA e DHA, nella dieta, contrasta con l'assoluta richiesta dell'apporto di quantità apprezzabili di tali composti per lo sviluppo ed il mantenimento di funzioni altamente evolute, soprattutto per quanto riguarda il sistema nervoso e cardiovascolare. È evidente pertanto la richiesta di individuare e sviluppare fonti anche non convenzionali di Omega 3, che possano integrare la nostra alimentazione. Ad esempio, in particolare nella dieta Mediterranea, sono presenti alimenti che possono contribuire ad incrementare l'apporto di Omega 3, almeno sotto forma di ALA (es. noci, legumi, ecc), così come possono essere selezionati a tale proposito alcuni alimenti "nicchia", quali rane, lumache, o carni di erbivori non ruminanti (equini) contenenti anche EPA e DHA (6).

Per quanto riguarda invece le problematiche relative agli studi sugli effetti della somministrazione di Omega 3, o dell'assunzione di pe-

sce, vi sono aspetti di grande rilievo, ma tuttora non adeguatamente apprezzati, nonostante il numero estremamente elevato di dati pubblicati sull'argomento. Infatti:

- 1) Poiché il profilo in acidi grassi ematici dipende soprattutto dalla loro assunzione piuttosto che da processi di sintesi endogena (7), anche i livelli di Omega 3 circolanti variano notevolmente tra popolazioni ed individui con abitudini alimentari diverse. D'altra parte confronti tra popolazioni fondati su dati di consumo alimentare relativi all'apporto di Omega 3 (questionari alimentari) non sono affidabili e non possono sostituire i dati analitici riguardanti i livelli circolanti di tali composti.
- 2) Ne consegue che ogni studio che consideri gli effetti degli Omega 3 su qualunque parametro fisiopatologico, sia per confronto tra popolazioni sia in studi controllati fondati sull'assunzione di pesce o di formulazioni di Omega 3, dovrebbe essere basato sulla conoscenza dei livelli ematici di tali composti nelle popolazioni e dei livelli basali in gruppi sottoposti a trattamenti con Omega 3. Negli studi riportati in letteratura tali dati sono pressoché assenti e pertanto è quasi impossibile valutare le correlazioni tra livelli ematici di Omega 3 e stati fisiopatologici. L'assenza di dati sul profilo in acidi grassi circo-

lanti è legata alle difficoltà oggettive di analizzare in un gran numero di soggetti tale parametro. In particolare la raccolta di campioni ematici nei soggetti, la loro conservazione e spedizione ai laboratori analitici, la preparazione dei campioni per le analisi cromatografiche, ed i costi dell'intero processo rendono poco realizzabile tale operazione. Soprattutto la raccolta di sangue in laboratori specializzati, la loro conservazione e spedizione rappresentano aspetti operativi molto complessi. Per ovviare a queste difficoltà è stata messa a punto nel nostro laboratorio una strategia analitica innovativa per il prelievo dei campioni biologici (sangue) da analizzare. In pratica viene raccolta, una goccia di sangue prelevata dal polpastrello di un dito, su uno speciale supporto costituito da una striscia di carta cromatografica opportunamente selezionata. Tale procedura, praticamente non invasiva, è identica a quella utilizzata per la raccolta di sangue ai fini della determinazione della glicemia. La conservazione e spedizione dei campioni sono notevolmente agevolate, e la preparazione degli esteri metilici degli acidi grassi viene realizzata direttamente senza estrazione dei lipidi (8). Tale metodo è stato applicato a vari studi dedicati alla valutazione degli acidi grassi nell'uomo in

varie condizioni. Agli studi condotti in collaborazione con il gruppo di ricerca presso il Dipartimento di Pediatria dell'Università di Milano, riguardanti i livelli ematici di Omega 3 in neonati (4 giorni di vita, primi dati nella letteratura in soggetti di tale età) nati da madri fumatrici e non, mediante prelievo dal tallone (9), e in bambini malnutriti di 18 mesi, Cambogiani, confrontati con bambini italiani (10), sono seguiti studi riguardanti il profilo in acidi grassi di un gruppo eterogeneo per età, sesso, abitudini alimentari, stili di vita e stati fisiologici, di soggetti sani che frequentano il nostro Dipartimento (11). Riteniamo che tale approccio analitico sia molto utile per valutare lo "status" in acidi grassi in popolazioni, anche ai fini di correlare i livelli osservati con stati fisiologici e processi patologici.

- 3) Un altro aspetto riguardante gli AG Omega 3, poco considerato finora in studi di intervento con tali composti, riguarda la loro biodisponibilità in rapporto alla matrice in cui sono incorporati (alimenti vs formulazioni). Questo dato è molto importante per vari aspetti: sviluppare preparazioni che consentano una più efficiente utilizzazione degli AG Omega 3, stabilire la bioequivalenza di preparazioni diverse degli stessi AG, valutare il grado di

conversione metabolica di determinati precursori ai loro prodotti di trasformazione (es conversione di ALA ad Omega 3 altamente insaturi). Tale tipo di analisi è molto utile anche in quanto gli Omega 3 sono disponibili in piccole quantità negli alimenti comuni e un'ottimizzazione della loro utilizzazione deve far parte di una adeguata strategia con implicazioni di risparmio "ecologico". Questa area di ricerca è iniziata nel nostro laboratorio anni fa confrontando la biodisponibilità di Omega 3 dopo consumo di pesce vs somministrazione di preparazioni farmaceutiche, valutando con metodo convenzionale i livelli plasmatici nei soggetti allo studio. I dati ottenuti indicano che la biodisponibilità è apprezzabilmente più elevata se si ingeriscono Omega 3 tramite consumo di pesce (12). Una ricerca più recente utilizzando il metodo analitico semplificato su una goccia di sangue ha confermato tale osservazione (3). Inoltre uno studio fondato sulla valutazione degli effetti del consumo di noci, alimento molto ricco in ALA (1,2 g/4 noci) sui livelli ematici di Omega 3 in soggetti sani, ha dimostrato che in tali condizioni vi è un aumento notevole sia di ALA, ma ancor più di EPA (13). Tale dato indica che la conversione di ALA ad EPA è efficiente nel-

l'uomo, e che le noci, note per i loro effetti salutistici (14), sono un'ottima fonte di Omega 3, in grado di elevare anche i livelli ematici dei composti altamente insaturi, quali l'EPA.

In conclusione, la breve rassegna relativa alle peculiarità degli omega 3 nell'organismo ed alle problematiche emergenti nell'affrontare studi su questi composti ed analizzarne i risultati, come riassunto nelle tabelle 1 e 2, rinnova l'interesse per questa area di ricerca, di grande impatto sulla salute dell'uomo, e sottolinea la complessità delle problematiche che stanno emergendo in questo tipo di studi.

Bibliografia

1. Marangoni F, Colombo C, Galli C. A method for the direct evaluation of the fatty acid status in a drop of blood from a fingertip in humans : applicability to nutritional and epidemiological studies. *Anal. Biochem.* 326 (2004), 267-272.
2. Colombo L, Marangoni F, Stival G, Riva E, Galli C, Agostoni C. Fatty acid profile in a blood drop collected in 3-day old infants : Comparisons with adult subjects and correlations with physiologic parameters. *Pediatric Research* 56(3) : 1 Sept 2004
3. Risé P, Salvetti F, Galli C. Application of a direct transmethylation method to the analysis of fatty acid profile in circulating and cultured cells. *Anal. Biochem.* 346 (2005) 182-4
4. Carlo Agostoni, MD, Claudio Galli,

Tabella 1 - Peculiarità degli AG Omega 3

- a. Limitata reperibilità in alimenti convenzionali
- b. Presenza in natura in organismi adattati ad ambienti acquatici e in (piccole quantità) negli organismi superiori, in strutture ad alta evoluzione biologica e specializzazione funzionale (es. sinapsi, strutture contrattili, cellule produttrici di mediatori lipidici).
- c. Presenza in alimenti "nicchia", tuttora non adeguatamente esplorati.

Tabella 2 - Problematiche emergenti da studi sugli effetti degli AG Omega 3.

- a. Richiesta di dati sullo "status" in acidi grassi circolanti in popolazioni per ottimizzare le ottimizzazioni per i consumi di omega 3 o la somministrazione preparazioni formulate. La disponibilità di strategie analitiche "ad hoc" permette di affrontare tale problema.
- b. Valutazione della biodisponibilità relativa agli Acidi Grassi Omega 3 in base alla matrice in cui sono incorporati
- c. Stabilire correlazioni tra livelli di Omega 3 nell'organismo e stati fisiopatologici in studi di popolazione

- MD, Enrica Riva, MD, Claudio Colombo, PhD, Marcello Giovannini, MD, Franca Marangoni, PhD. Reduced docosahexaenoic acid synthesis may contribute to growth restriction in infants born to smoking mothers. *J Pediatr* 2005; 147 : 854-6
5. Marangoni F, Colombo C, Martiello A, Poli A, Paoletti R and Galli C. Levels of the n-3 fatty acid eicosapentaenoic acid in addition to those of alpha linolenic acid are significantly raised in blood lipids by the intake of four nuts a day in humans. *Nutr Metab Cardio Vasc Dis* 2006, 15 : 129-33
6. Marangoni F, Colombo C, Martiello A, Negri E, Galli C. The fatty acid profiles in a drop of blood from a fingertip correlate with physiological, dietary and lifestyle parameters in volunteers. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 76 (2007) 87-92
7. C.Galli and F Marangoni N-3 fatty acids in the Mediterranean diet. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2006, 75 : 129-33
8. Carlo Agostoni, MD, Marcello Giovannini, MD, Debora Sala, MD, Michele Uselli, MD, Luca Livio, MD, Gaia Francescato, MD, Marta Braga, MD, Enrica Riva, MD, Antonella Martiello, PhD°, Claudio Colombo, PhD°, Franca Marangoni, PhD°, Claudio Galli, MD°. Double Blind Placebo Controlled Trial Comparing the Effects of two Micronutrient Sprinkles on Fatty Acid status in Cambodian Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007 44 (1) 136-42
9. Marangoni F, Martiello A, Galli C Dietary fat intake of European countries in the Mediterranean area: An update. *World Rev Nutr Diet* 2007, 97 : 67-84