



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea Magistrale in

BIOLOGIA MOLECOLARE E APPLICATA

*Curriculum Scienze Della Nutrizione*

---

SENSIBILITA' GUSTATIVA E ANTIOSSIDANTI SALIVARI IN  
PAZIENTI ADOLESCENTI CHE SOFFRONO DI DISTURBI DELLA  
NUTRIZIONE E DELL'ALIMENTAZIONE, ALL'ESORDIO E DOPO 6  
MESI DI TERAPIA INTEGRATA.

TASTE SENSITIVITY AND SALIVA ANTIOXIDANTS IN  
ADOLESCENTS SUFFERING FROM FEEDING AND EATING  
DISORDERS, AT ONSET AND AFTER 6 MONTHS OF INTEGRATED  
THERAPY.

Tesi di Laurea Magistrale di:  
TIZIANA DI CRESCENZO

Relatrice: Chiar.ma  
Prof.ssa ARIANNA VIGNINI

Correlatrice:  
Chiar.ma Dott.ssa ALICE DI PAOLO

ANNO ACCADEMICO 2022/23

*“Le persone perfette non combattono,  
non mentono,  
non commettono errori  
e non esistono”  
(Aristotele)*

# INDICE

1	INTRODUZIONE .....	5
1.1	I disturbi della nutrizione e dell'alimentazione .....	7
1.1.1	Eziologia.....	9
1.1.2	Epidemiologia .....	13
1.1.3	Classificazione dei DNA.....	17
1.2	Anoressia nervosa .....	18
1.2.1	Criteri diagnostici.....	19
1.3	Bulimia nervosa .....	20
1.3.1	Criteri Diagnostici.....	21
1.4	Trattamento terapeutico integrato.....	22
1.5	La sensibilità gustativa.....	23
1.5.1	Il sistema gustativo.....	28
1.5.2	Il gusto dolce .....	36
1.5.3	Il gusto salato .....	38
1.5.4	Il gusto umami.....	39
1.5.5	Il gusto amaro.....	41
1.5.6	Il gusto acido .....	42
1.5.7	Il gusto grasso o oleogusto.....	43
1.5.8	Il gusto acqua o neutro .....	45
1.5.9	Gusto e comportamento alimentare .....	46
1.6	Stress ossidativo.....	48
1.6.1	Stress ossidativo e disturbi dell'alimentazione .....	51
2	SCOPO DELLA TESI.....	55

3	MATERIALI E METODI .....	59
3.1	Caratteristiche dei pazienti.....	60
3.2	Criteri di inclusione e di esclusione .....	60
3.3	Test del gusto .....	62
3.4	Campionamento della saliva .....	65
3.5	Determinazione del contenuto di polifenoli totali (TPC) .....	66
3.6	Determinazione dei flavonoidi totali (TFC) .....	66
3.7	Determinazione della capacità antiossidante (ORAC) .....	67
3.8	Determinazione dell'attività della superossido dismutasi (SOD).....	68
3.9	Analisi statistica .....	69
4	RISULTATI SPERIMENTALI.....	70
4.1	Dati clinici dei partecipanti.....	71
4.2	Determinazione della sensibilità gustativa .....	73
4.3	Determinazione dei livelli di antiossidanti salivari.....	74
5	DISCUSSIONE .....	78
6	CONCLUSIONE .....	85
7	BIBLIOGRAFIA .....	88
8	RINGRAZIAMENTI.....	103

# **1 INTRODUZIONE**

## **PREMESSA**

La sensibilità gustativa è la capacità fisiologica della percezione sensoriale dei gusti ed è di fondamentale importanza per il mantenimento dello stato di salute generale dell'organismo; infatti, può subire alterazioni in diversi stati patologici, così come a sua volta, se alterata, può rappresentare essa stessa la causa di patologie o disturbi.

In particolare, la percezione degli stimoli gustativi può modificare direttamente o indirettamente il comportamento alimentare, in quanto si tratta del primo passaggio necessario all'essere umano per valutare il cibo in termini qualitativi, per riconoscere i nutrienti e i composti tossici presenti, per preparare il tratto digestivo alla successiva trasformazione dei nutrienti, oltre che per influenzare le conseguenti scelte e abitudini alimentari della persona (Breslin 2013).

La percezione del gusto sembra essere strettamente correlata con le variazioni di peso e con l'indice di massa corporea (BMI) degli individui: infatti, diminuisce in situazioni di aumento del BMI e di obesità come riportato in alcuni recenti studi (Fathi et al. 2023; Vignini et al. 2019).

Per questo è interessante valutare come cambia la sensibilità gustativa proprio nei pazienti affetti da disturbi della nutrizione e dell'alimentazione (DNA), in modo da comprendere meglio la relazione che interessa questo aspetto e

ampliare le possibili prospettive di trattamento di tali stati patologici complessi, alla luce del crescente problema di salute pubblica degli ultimi anni.

### **1.1 I disturbi della nutrizione e dell'alimentazione**

I disturbi del comportamento alimentare (DCA), rinominati nel DSM5 come “disturbi della nutrizione e dell'alimentazione” (DNA o DAN) sono patologie complesse caratterizzate da un disfunzionale comportamento alimentare, un'eccessiva preoccupazione per il peso e per la forma fisica e un'alterata percezione dell'immagine corporea (Ministero della Salute 2023).

Si tratta di disturbi che compromettono l'aspetto psicosociale, oltre che la salute fisica delle persone che ne soffrono, portandole a modificare le proprie abitudini alimentari fino a renderle pericolose per la salute e a volte anche letali.

Tali aspetti sono solitamente correlati a bassi livelli di autostima e possono presentarsi in correlazione con altri disturbi psichici, come disturbi d'ansia o dell'umore; infatti, per evitare l'elevata morbilità e mortalità associata a questa condizione si rendono necessari una diagnosi e un trattamento tempestivi da parte di team interprofessionali competenti (Balasundaram e Santhanam 2023).

Il Ministero della Salute riporta che, pur essendo primariamente disturbi psichiatrici, lo stato di salute fisica dei soggetti affetti è quasi sempre compromesso a causa delle alterate condotte alimentari adottate, che spesso

comprendono una eccessiva restrizione calorica o al contrario un eccessivo consumo di cibo, dovuto a perdita di controllo, e sono associate a condotte di eliminazione e/o compensatorie (attività fisica compulsiva, purghe, vomito autoindotto e uso improprio di lassativi/diuretici), le quali di conseguenza alterano lo stato nutrizionale. Dunque, si spiega la difficoltà dell'individuazione di parametri diagnostici chiari e ben definiti che non possono fermarsi alla semplice valutazione del basso peso corporeo, il quale, come spesso erroneamente si ritiene, non è affatto un marcatore unico e specifico, in quanto anche in condizioni di normopeso e sovrappeso, fino all'obesità, si può essere in presenza di disturbi dell'alimentazione (Fernández-Aranda, Granero, e Jiménez-Murcia 2023; American Psychiatric Association 2013).

Altri fattori che concorrono alla complessità della gestione clinico-sanitaria dei pazienti con DNA sono molto frequentemente la mancanza di consapevolezza dello stato patologico in cui si trovano questi soggetti e di conseguenza il rifiuto del trattamento, che viene visto come minaccia e viene affrontato con scarso entusiasmo, rendendo difficile la collaborazione al programma di cura stabilito. Questi aspetti sono ulteriormente aggravati se si considera che la maggior parte dei soggetti affetti da disturbi alimentari è in età adolescenziale e ancor di più se si tiene conto che, da diversi anni, la letteratura scientifica registra un



progressivo abbassamento dell'età di insorgenza e di diagnosi. Questi rappresentano dati da non sottovalutare nel programma di cura in quanto la famiglia ricopre sicuramente un ruolo sociale fondamentale nel coinvolgimento e nella partecipazione attiva al trattamento integrato del paziente (Rapporti ISTISAN 2012; Quaderni del Ministero della Salute n.29 2017).

### *1.1.1 Eziologia*

Nonostante le ricerche approfondite condotte negli anni, ad oggi c'è ancora un po' di incertezza nel descrivere in modo accurato e definitivo quali siano le cause che portano all'insorgenza di un disturbo alimentare.

L'eziologia dei disturbi del comportamento è multifattoriale e dipende da un insieme di componenti che contribuiscono in maniera sinergica allo sviluppo e al mantenimento dei disordini alimentari (Feng et al. 2023). Nella letteratura scientifica si fa riferimento a fattori biologici, psicologici, comportamentali e socio-ambientali che interagiscono tra di loro senza una specificata predominanza di ciascuno sugli altri (Klump et al. 2009).

Nei dati a disposizione si denota un ruolo importante della familiarità nell'eziopatogenesi dei DNA: è statisticamente confermato che nei familiari di primo grado c'è un rischio 10 volte maggiore di svilupparli (Riccardo Dalle Grave 2020).

La componente socio-ambientale, invece, contribuisce per il 40-60% alla comparsa dei disordini alimentari, anche se bisogna tener conto dei limiti di queste evidenze scientifiche, dovuti alla prevalenza di indagini retrospettive, le quali non permettono di chiarire le relazioni di causalità dei fattori citati.

L'Istituto Superiore di Sanità riconosce le seguenti condizioni come predisponenti:

- Familiarità, depressione, abuso di sostanze;
- Possibili eventi avversi/traumatici, malattie croniche dell'infanzia e difficoltà alimentari precoci;
- L'appartenenza a gruppi sociali nei quali è maggiore la pressione socioculturale verso la magrezza (mondo della moda, sport d'élite...);
- L'insoddisfazione dell'immagine corporea;
- La scarsa autostima e perfezionismo;
- Stati emotivi negativi;
- Comportamenti dietetici persistenti;
- Sovrappeso/obesità in infanzia e adolescenza;
- Critiche e vissuti di stigma riguardo al peso e al corpo;

Riporta, inoltre, la possibilità di avere una predisposizione genetica, una sorta di vulnerabilità a questi disturbi, la quale viene attivata da particolari situazioni

ambientali nel corso della vita delle persone che ne soffrono (Ministero della Salute 2023; Culbert et al. 2015).

Nel 2017 uno studio condotto su adolescenti di sesso femminile e pubblicato sul *Journal of Abnormal Psychology* ha dimostrato che esistono fattori di rischio predittivi che accomunano i vari disturbi della nutrizione e dell'alimentazione classificati nel DSM 5, come: il perseguimento dell'ideale di magrezza, l'insoddisfazione corporea, percorsi dietetici severi o ripetuti nel tempo, la sovralimentazione, il controllo del peso malsano e l'assistenza sanitaria mentale (Stice et al. 2017). È importante notare che l'adolescenza coincide con l'età di insorgenza di tali disturbi nella quasi totalità dei casi clinici; dunque, corrisponde a un fattore di rischio aggiuntivo per l'esordio dei DNA; con tutti i profondi cambiamenti psico-fisici che implicano la trasformazione del corpo, la maturazione sessuale e l'affermazione identitaria (Swanson et al. 2011).

Nel vasto gruppo di condizioni predisponenti alla comparsa di DNA ne sono state distinte alcune, che vengono definite fisse, come il genere e gruppo etnico di appartenenza in quanto non possono essere modificate, e altre definite variabili, sulle quali focalizzare i programmi di prevenzione. I marcatori fissi, riconosciuti in bibliografia, sono l'appartenenza al sesso femminile e all'etnia occidentale (Culbert, Sisk, e Klump 2021), anche se la

ricerca negli ultimi anni sta cercando di ottenere sempre più evidenze scientifiche su pazienti di sesso maschile, che sono in aumento, così come negli individui appartenenti alla comunità LGBTQ+, i quali vivono spesso episodi traumatici di bullismo ed emarginazione (Batista et al. 2018; Solmi et al. 2020; Breton et al. 2023; Barakat et al. 2023).

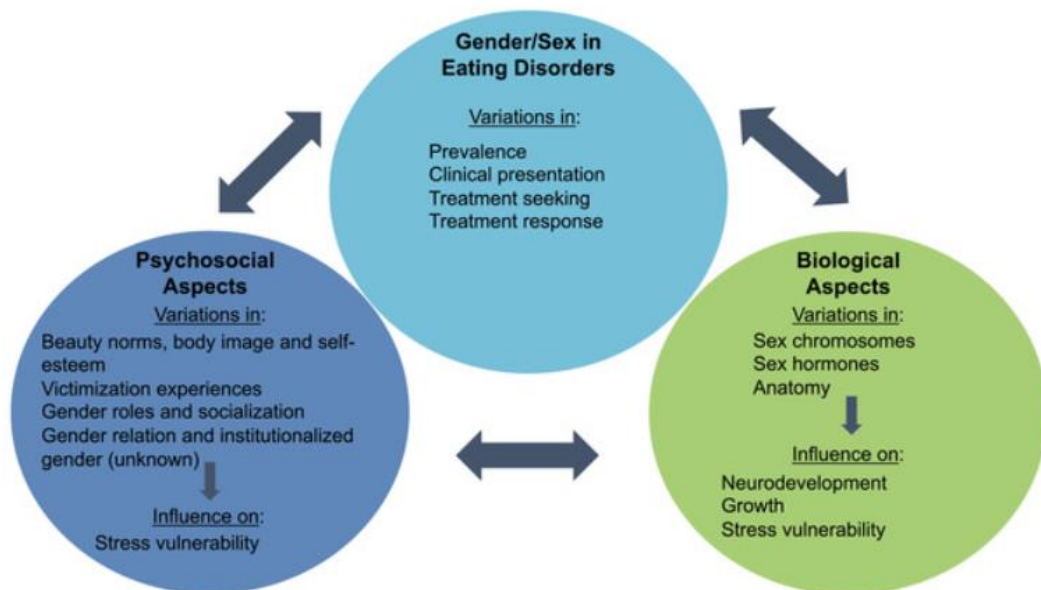


Figura 1 (da Brenton et al. 2023, Gender and sex in eating disorders: A narrative review of the current state of knowledge, research gaps, and recommendations)

Recentemente, sono state riscontrate evidenze sugli effetti di un prolungato isolamento sociale su un possibile sviluppo di un DNA, in seguito alla pandemia di COVID-19 (Sideli et al. 2021), e sono emerse situazioni di risonanza sempre più elevata nel mondo dello sport a livelli agonistici dove il controllo costante del peso corporeo e della forma fisica, per il raggiungimento degli obiettivi atletici, ma anche per soddisfare le aspettative

estetiche richieste dallo sport in questione (sport estetici: mettono in relazione la performance atletica alla forma fisica dello sportivo ad es. atletica, ginnastica ritmica e artistica, danza classica, ecc.), è risultato un fattore precipitante non indifferente (Magee et al. 2023).

### *1.1.2 Epidemiologia*

A livello globale, la prevalenza dei disturbi dell'alimentazione sta aumentando in modo allarmante e i dati sono ulteriormente peggiorati in seguito alla pandemia di COVID-19.

Si confermano tra le principali cause di morte nei giovani rivelandosi un grande problema di salute pubblica, che recentemente registra un aggravamento della morbilità, dei tassi di incidenza e un progressivo abbassamento dell'età di esordio (Herpertz-Dahlmann 2015).

Con il nuovo DSM 5 si riporta, per giovani di sesso femminile, una prevalenza a 12 mesi per l'anoressia nervosa (AN) dello 0.4%, mentre dell'1-1.5% per la bulimia nervosa (BN). Al contrario, per i giovani di sesso maschile i dati non sono definiti chiaramente, ma si riscontra una frequenza con un rapporto di 10:1 tra femmine e maschi (Rapporti ISTISAN 2012; Ministero della Salute 2023).

In effetti, storicamente i disturbi alimentari sono stati presentati come le malattie psichiatriche più di genere in assoluto, considerando che l'amenorrea

sia stata una caratteristica distintiva dell'AN finché i dati hanno dimostrato una sostanziale componente maschile tra i casi diagnosticati.

Al giorno d'oggi, si attribuisce un caso su quattro di AN o BN ad un ragazzo e non sono riscontrabili differenze di sesso per l'età di esordio, anche per i casi di esordio precoce (<14 anni) sempre più in aumento (Gorrell e Murray 2019).

Le recenti scoperte focalizzano l'attenzione sull'aumentato rischio di mortalità associato ai disturbi della nutrizione, più in particolare all'AN e alla BN, che sono i più diffusi e quelli con esiti peggiori. I tassi di mortalità non sembrano mostrare differenze di sesso, ma un ampio studio longitudinale, confrontando pazienti maschi e femmine contemporaneamente trattati nello stesso ospedale e per gli stessi disturbi alimentari ha riportato esiti letali più precoci nei ragazzi (Fichter et al. 2021); sebbene i risultati siano ancora inconcludenti, questo ed altri studi suggeriscono un rischio di mortalità maggiore per i maschi sottolineando l'importanza clinica del riconoscimento e del trattamento precoci con la progettazione di programmi di prevenzione rivolti alla popolazione generale oltre ai gruppi ben noti di donne giovani occidentali più comunemente a rischio (van Eeden, van Hoeken, e Hoek 2021).

La situazione epidemiologica italiana conferma la crescente incidenza di casi, con la diagnosi di: 8 nuovi casi di AN su 100.000 persone in un anno per il sesso femminile e di 0.02 e 1.4 nuovi casi nel sesso maschile; 12 e 0.8 nuovi

casi su 100.000 di BN rispettivamente di sesso femminile e maschile. I dati sono comunque sempre delle stime data la natura subdola tipica di questi disturbi e sono necessari ulteriori studi epidemiologici per confermarli (Ministero della Salute 2023).

La fascia di età per l'esordio si aggira tra i 15 e i 19 anni, anche se si osserva una tendenza in discesa verso fasce di età inferiori, probabilmente dovuto all'approccio sempre più precoce con la tecnologia, con il mondo dei social e all'influenza negativa di ambienti sociali e familiari sempre più esposti al giudizio altrui con un'eccessiva pressione sull'ideale di magrezza.

Una metanalisi su larga scala pubblicata nel 2022 ha considerato 192 studi epidemiologici per definire i picchi di fasce d'età interessati maggiormente dall'esordio di disturbi mentali in generale nel mondo e come si può osservare dalla Tabella 1 il 15,8% delle diagnosi si riscontra entro i 14 anni:

	N. di campioni	Età di picco all'esordio (anni)	Esordio della proporzione entro 14 anni	Proporzione esordio entro 18 anni	Proporzione esordio entro 25 anni	p25	Mediano	p75
<i>Disturbi della nutrizione o dell'alimentazione</i>	11	15.5	15,8%	48,1%	82,4%	15	18	23

*Tabella 1 - Fasce d'età prevalenti per l'esordio di disturbi della nutrizione e dell'alimentazione: il picco di esordio per i disturbi alimentari è attorno a un'età media di 15,5 anni, con un buon 15,8% di diagnosi entro i 14 anni - (Solmi et al. 2022)*

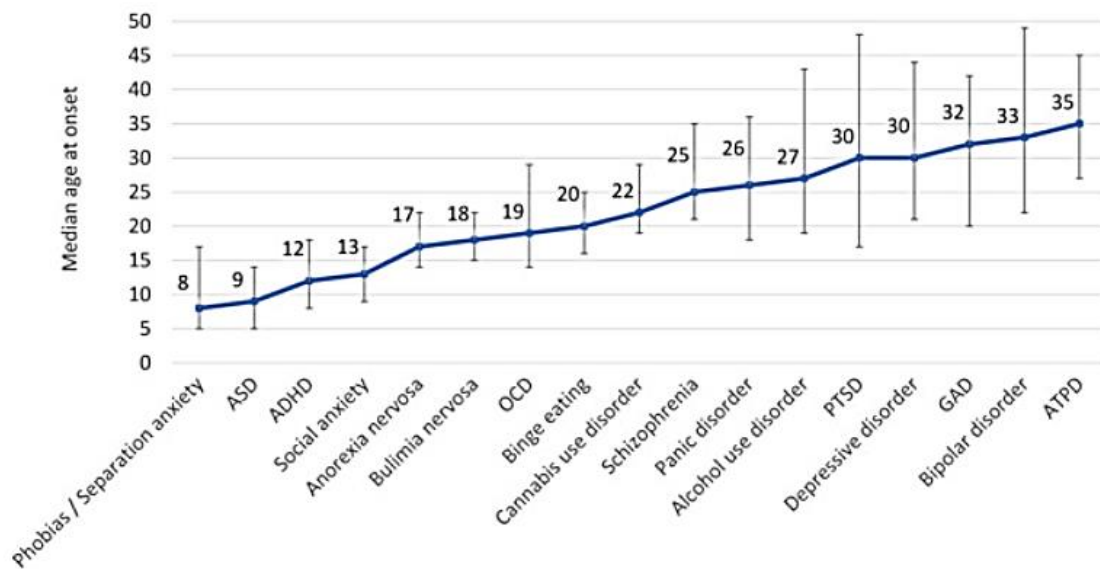


Figura 2 - Grafico in cui si riporta l'età media di esordio relativa a ciascun disturbo mentale - (Solmi et al. 2022) -

Inoltre, nella Figura 2 sono riportati i valori specifici per tutti i tipi di patologie, tra cui l'età media all'esordio di anoressia nervosa e di bulimia, rispettivamente a 17 e 19 anni (Solmi et al. 2022).



### *1.1.3 Classificazione dei DNA*

Nel Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali (DSM-5) pubblicato nel 2013 dall'American Psychiatric Association (APA) è stata definita una classificazione dei disturbi alimentari con definizione di 8 categorie diagnostiche:

- Pica
- Disturbo di ruminazione
- Disturbo da evitamento/restrizione dell'assunzione di cibo
- Anoressia nervosa
- Bulimia nervosa
- Disturbo da alimentazione incontrollata
- Disturbo della nutrizione o dell'alimentazione con specificazione
- Disturbo della nutrizione o dell'alimentazione senza specificazione

Queste categorie sono state condivise dai diversi Stati per poter adeguare al meglio i criteri diagnostici e favorire il riconoscimento tempestivo dei casi di insorgenza; infatti, vengono anche riportate sulle linee guida del Ministero della Salute italiano (Quaderni del Ministero della Salute n.29 2017; Ministero della Salute 2023).

## 1.2 Anoressia nervosa

Dal termine stesso “anoressia” che significa letteralmente “mancanza di appetito” non si ha una chiara definizione della patologia in sé, dato che gli individui che ne soffrono generalmente più che la perdita dell’appetito soffrono costantemente la paura di ingrassare, da cui deriva il rifiuto del cibo. Inoltre, la preoccupazione per il peso corporeo deriva da un cattivo rapporto con il loro aspetto estetico e da un’alterazione della percezione dell’immagine corporea.

Clinicamente viene diagnosticata come anoressia nervosa e si può presentare in forma restrittiva, con un rigido regime ipocalorico ed eccessivo esercizio fisico sportivo, oppure nella tipologia con abbuffate e/o condotte di compensazione, con uso improprio di lassativi e diuretici o con vomito autoindotto.

Esiste una classificazione dei livelli di gravità basata sul BMI (introdotta dal DSM-5), che tiene conto del rapporto tra il peso espresso in kg e il quadrato dell’altezza del soggetto espresso in m:

- Lieve:  $BMI \geq 17 \text{ kg/m}^2$
- Moderato:  $BMI 16.99 - 16 \text{ kg/m}^2$
- Grave:  $BMI 15.99 - 15 \text{ kg/m}^2$
- Estremo:  $BMI < 15 \text{ kg/m}^2$

In base al livello di gravità variano i sintomi e le complicanze legate alla denutrizione associati ai diversi effetti avversi a lungo termine sulla salute successivi alla cura e alla ripresa del peso corporeo adeguato alla fascia d'età e al sesso di appartenenza.

### *1.2.1 Criteri diagnostici*

Nella nuova edizione del DSM-5 sono presenti criteri diagnostici aggiornati per l'anoressia che escludono il fattore dell'amenorrea, perché non valido nei pazienti di sesso maschile.

I criteri per la diagnosi di anoressia nervosa sono:

1. Restrizione dell'assunzione calorica in relazione alle necessità, che porta a un peso corporeo significativamente basso nel contesto di età, sesso, traiettoria di sviluppo e salute fisica. Il peso corporeo significativamente basso è definito come un peso inferiore al minimo normale oppure, per bambini e adolescenti, meno di quello minimo atteso.
2. Intensa paura di aumentare di peso o di diventare grassi, oppure un comportamento persistente che interferisce con l'aumento di peso, anche se significativamente basso.
3. Alterazione del modo in cui viene vissuto dall'individuo il peso o la forma del proprio corpo, eccessiva influenza del peso o della forma del

corpo sui livelli di autostima, oppure persistente mancanza di riconoscimento della gravità dell'attuale condizione di sottopeso (American Psychiatric Association 2013; Ministero della Salute 2023).

### **1.3 Bulimia nervosa**

Con il termine bulimia si intende un disturbo alimentare caratterizzato da una voracità patologica ed eccessiva nel mangiare seguita da comportamenti compensatori tramite utilizzo di lassativi, vomito autoindotto o eccessiva attività fisica.

I sintomi ricorrenti sono: abbuffate incontrollate, compensazione e preoccupazione estrema per il peso corporeo e la forma fisica.

Un episodio di abbuffata è caratterizzato dai seguenti due aspetti: mangiare in un determinato periodo di tempo (per es., un periodo di due ore) una quantità di cibo significativamente maggiore di quella che la maggior parte degli individui mangerebbe nello stesso tempo e in circostanze simili; sensazione di perdere il controllo durante l'episodio (per es., sensazione di non riuscire a smettere di mangiare o a controllare cosa o quanto si sta mangiando).

Nel manuale sono specificati livelli di gravità diversi basati sul numero di condotte compensatorie a settimana:

- Lieve: in media 1-3 episodi di condotte compensatorie inappropriate per settimana.

- Moderato: in media 4-7 episodi di condotte compensatorie inappropriate per settimana.
- Grave: in media 8-13 episodi di condotte compensatorie inappropriate per settimana.
- Estremo: in media 14 o più episodi di condotte compensatorie inappropriate per settimana.

Come per gli altri disturbi vanno considerate le conseguenze a lungo termine e le complicazioni a cui i pazienti vanno incontro in base alla durata della patologia e al livello di gravità.

### *1.3.1 Criteri Diagnostici*

Anche per la bulimia il DSM-5 riporta criteri per la diagnosi aggiornati quali:

1. Episodi ricorrenti di abbuffata.
2. Ricorrenti ed inappropriate condotte compensatorie per prevenire l'aumento di peso, come vomito autoindotto, abuso di lassativi, diuretici o altri farmaci, digiuno o attività fisica eccessiva.
3. Le abbuffate e le condotte compensatorie inappropriate si verificano entrambe in media almeno una volta alla settimana per 3 mesi.
4. I livelli di autostima sono indebitamente influenzati dalla forma e dal peso del corpo.

5. L'alterazione dell'immagine corporea non si manifesta esclusivamente nel corso di episodi di anoressia nervosa (Ministero della Salute 2023; American Psychiatric Association 2013).

#### **1.4 Trattamento terapeutico integrato**

L'approccio terapeutico richiesto per i disturbi dell'alimentazione deve essere multidisciplinare, data la loro natura.

Nelle linee guida nazionali per la riabilitazione nutrizionale nei DNA (Quaderni del Ministero della Salute n.29 2017) si evidenziano tutti i sintomi dovuti alla malnutrizione e vengono chiariti gli interventi possibili per ripristinare questi aspetti; si nota che spesso i sintomi di anoressia e bulimia siano dipendenti direttamente dalle condizioni di squilibrio dell'apporto di macro e micronutrienti e indirettamente dalla patogenesi psichiatrica.

L'importanza di una terapia integrata che mira alla contemporanea riabilitazione nutrizionale e psicologica è ormai nota nella letteratura scientifica ed è la terapia consigliata dalle linee guida aggiornate pubblicate nel 2017 dal National Institute of Health and Care Excellence, le quali danno raccomandazioni sul riconoscimento, la valutazione e il trattamento dei disturbi alimentari (AIDAP 2017; NICE 2017). In breve prevedono una terapia integrata in cui si interviene in modo differenziale: sull'aspetto psicologico, con

psicoterapia individuale e di famiglia, con approccio cognitivo comportamentale e, se necessario, con assunzione di psicofarmaci sotto attenta prescrizione medico specialistica; sull'aspetto nutrizionale, con approccio rieducativo e non di costrizione i cui obiettivi sono il ripristino dell'introito adeguato di nutrienti fondamentali per le funzioni fisiologiche dell'individuo, ma anche e soprattutto la rieducazione alimentare verso un rapporto sano con il cibo e con il proprio corpo.

Tra gli interventi di riabilitazione nutrizionale consigliati ci sono diversi approcci, tra cui il pasto assistito, l'alimentazione meccanica e l'approccio di Training di Familiarizzazione con il Cibo (TFC); si tratta di approcci validi se valutati nel contesto del caso clinico in questione, in quanto l'età del paziente e la gravità della situazione sono aspetti diversificanti da tenere sempre in considerazione che giustificano l'importanza dell'affidamento a figure professionali specializzate in stretta collaborazione tra loro (Quaderni del Ministero della Salute n.29 2017; Resmark et al. 2019; Monteleone et al. 2022).

### **1.5 La sensibilità gustativa**

Il senso del gusto, così come l'olfatto, è definito "senso chimico", poiché viene percepito a partire da uno stimolo chimico che attiva specifici recettori e con

l'olfatto è considerato il senso filogeneticamente più antico rispetto agli altri sensi, quali vista, udito e tatto.

La percezione del sapore, su cui si basa la selezione e la preferenza di cibi e bevande, dipende dalla combinazione del gusto, dell'olfatto e dei processi di trasmissione trigeminali (Eric R. Kandel et al. 2005). Dunque, i sapori della nostra dieta vengono evocati tramite la percezione sensoriale dei diversi gusti, attraverso il riconoscimento di specifiche sostanze chimiche da parte di aggregati cellulari neuroepiteliali chiamati papille gustative, degli odori, grazie alla percezione sensoriale olfattiva e infine tramite le sensazioni trigeminali per la percezione della consistenza, della temperatura e della posizione del cibo nella cavità orale al fine di controllare la masticazione e la deglutizione.

Attualmente sono noti 5 gusti fondamentali: il dolce, il salato, l'acido, l'amaro e l'umami, ai quali, negli ultimi anni, sono stati aggiunti altri 2 gusti: il grasso o oleogusto e il gusto acqua o neutro (Running, Craig, e Mattes 2015; Besnard, Passilly-Degrace, e Khan 2016; Watson et al. 2007).

Le percezioni sensitive derivate dal gusto e dall'olfatto hanno un ruolo fondamentale nel mantenimento della corretta fisiologia umana, permettendo la selezione di nutrienti essenziali per la vita o il riconoscimento di cibi potenzialmente pericolosi.



Sebbene gli stimoli visivi, uditivi e tattili siano coinvolti nell'identificazione, nella scelta e nell'apprezzamento del cibo, non sono considerati nella percezione del sapore in quanto non ci sono recettori specifici che si attivano in questo processo. La stessa preparazione del cibo, gli odori e i suoni della cucina danno inizio all'attivazione del rilascio di segnali ormonali oreosizzanti per stimolare l'appetito e per preparare l'organismo all'assunzione e alla successiva digestione.

Durante il pasto la prima sensazione percepita è l'odore, che è mediata da molecole volatili rilasciate dal cibo che permettono il riconoscimento dell'aroma, legandosi ai recettori della mucosa olfattiva. Queste molecole odorose stimolano la mucosa olfattiva per permettere l'identificazione dell'alimento, per innescare il desiderio di consumarlo e in seguito per indurre un senso di sazietà.

In un secondo momento, si origina la percezione gustativa, quando il cibo viene introdotto nella cavità orale e interagisce con gli specifici recettori del gusto, per poi dare spazio ad un'altra percezione olfattivo-gustativa grazie alla mucosa del rinofaringe e della laringe, quando il bolo viene masticato e deglutito.

A questo punto entrano in gioco nuovamente le terminazioni trigeminali che generano una sensazione di piacevolezza e di gradimento, la quale attiva neuroni di ricompensa nella corteccia orbitofrontale dell'encefalo importanti

per il controllo del comportamento alimentare (Rolls 2006; Chaudhari e Roper 2010; Yin et al. 2017).

La percezione di gradevolezza dipende da molti fattori e influenza le preferenze verso determinati stimoli gustativi rispetto ad altri; si tratta generalmente di caratteristiche innate e ambientali come: l'esperienza individuale, il proprio fabbisogno nutrizionale, il senso di sazietà e la palatabilità dei diversi alimenti (Kershaw e Mattes 2018).

Sulla sensibilità gustativa di ogni individuo influiscono caratteri legati allo stato di salute (patologie o situazioni fisiologiche particolari es. gravidanza), all'età, al genere di appartenenza, ma anche alla concentrazione delle sostanze chimiche presenti nell'alimento assunto. Ad esempio è stato riconosciuto che gli uomini identificano il gusto dolce e salato in modo meno efficace rispetto alle donne, ma sono più sensibili alla percezione del gusto acido. La concentrazione di sale negli alimenti influenza la percezione del gusto; infatti, a basse concentrazioni è percepito come dolce, mentre ad alte concentrazioni è identificato come amaro. Con l'invecchiamento inizia una fisiologica e graduale diminuzione e modificazione della sensibilità gustativa con conseguenze sull'apporto di nutrienti fondamentali. Infine, è riscontrabile l'alterazione della sensibilità gustativa in situazioni patologiche particolari

come diabete, obesità, cancro, ipotiroidismo e ipertensione (Curtis, Stratford, e Contreras 2005; DeVere 2017; Kershaw e Mattes 2018).

Per definire il grado di capacità gustativa di ciascun individuo esistono due parametri che stabiliscono una soglia di percezione e una soglia di riconoscimento. La soglia percettiva rappresenta la concentrazione minima in cui deve essere presente una sostanza per poter stimolare i recettori gustativi ed indurre una sensazione gustativa, mentre per soglia di riconoscimento (superiore rispetto a quella di percezione) si intende la concentrazione minima di sostanza necessaria a consentire l'identificazione di un sapore con sicurezza. Solitamente la concentrazione della sostanza chimica è direttamente proporzionale all'intensità della percezione gustativa e le soglie variano per ciascuno stimolo gustativo relativamente alla sua funzione. Le soglie di riconoscimento sono più basse per i sapori amari, in modo da rendere l'organismo prontamente sensibile a riconoscere una potenziale sostanza tossica o velenosa. La Tabella 2 mostra le soglie di percezione e di riconoscimento di diverse molecole chimiche associate alle 5 sensazioni gustative principali.

Gustatory sensation	Molecular substance	Perception threshold	Recognition threshold
Salty	NaCl	0.00238 mM	0.00815 mM
Sour	HCl	0.179 mM	0.226 mM
Bitter	Quinine hydrochloride	3.99 $\mu$ M	4.75 $\mu$ M
Sweet	Sucrose	0.266 mM	1.33 mM
Umami	MSG	0.0126 M	0.00207 M

Tabella 2 - Concentrazioni di molecole corrispondenti alle soglie di percezione e di riconoscimento

### 1.5.1 Il sistema gustativo

Il sistema gustativo consente all'organismo di ottenere informazioni preziose su tutto quello che viene ingerito, permettendo la valutazione dell'identità, del contenuto energetico e/o nutrizionale, della pericolosità, della concentrazione e della gradevolezza. È un sistema sensoriale specializzato e funge da principale regolatore e motore del comportamento alimentare.

La capacità di assaporare il cibo è esplicata grazie alla presenza di recettori gustativi, detti chemorecettori, cellule specializzate dell'epitelio della superficie dorsale della lingua, del palato molle, della faringe, della laringe dell'epiglottide e del tratto prossimale dell'esofago, raggruppate in "strutture tondeggianti" chiamate bottoni o calici gustativi, ognuno dei quali contiene circa 150 cellule recettoriali, oltre a cellule basali staminali (elementi cellulari immaturi) e cellule di sostegno. Ogni bottone gustativo presenta un'apertura

superficiale, il poro gustativo, che permette la comunicazione con l'ambiente della cavità orale.

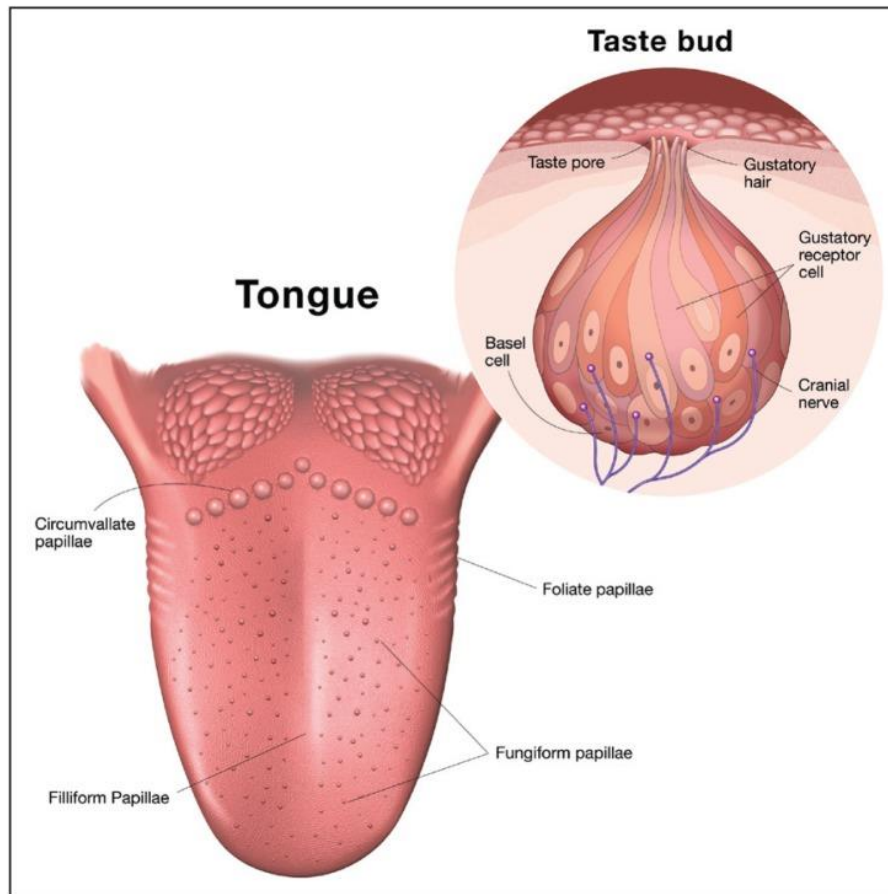


Figura 3 - Struttura papille e bottoni gustativi - (Gravina et al. 2013)

Per di più, i bottoni gustativi (o gemme gustative) sono raggruppati in strutture specializzate che ospitano terminazioni sensoriali definite papille gustative (Figura 3), differenziate in 4 tipologie nell'essere umano: papille circumvallate, fungiformi e foliate, contenenti calici gustativi e le papille filiformi, contenenti terminazioni nervose trigeminali per la trasduzione del tatto, della temperatura e della nocicezione (Gravina, Yep, e Khan 2013; Roper e Chaudhari 2017).

Le papille fungiformi sono localizzate nella parte anteriore della lingua, l'organo principale deputato al riconoscimento del gusto, e contengono ciascuna da 1 a 5 recettori gustativi, complessivamente il 25% delle cellule gustative totali. Le papille foliate sono posizionate per lo più nelle zone laterali della lingua e costituiscono un altro 25% dei recettori totali. Infine, le papille circumvallate contengono la restante quota recettoriale e sono disposte a formare una V rovesciata nella zona posteriore della lingua.

Le papille filiformi, invece, sono presenti indistintamente su tutta la superficie linguale e, come già anticipato, non presentano alcun recettore gustativo.

All'apice delle papille, nel poro gustativo, ci sono estroflessioni filiformi dette microvilli, che aumentano la superficie di contatto delle cellule recettoriali per la captazione e il legame delle molecole chimiche sapide trasportate dalla saliva nel lume della bocca, per dare origine alla percezione sensoriale gustativa.

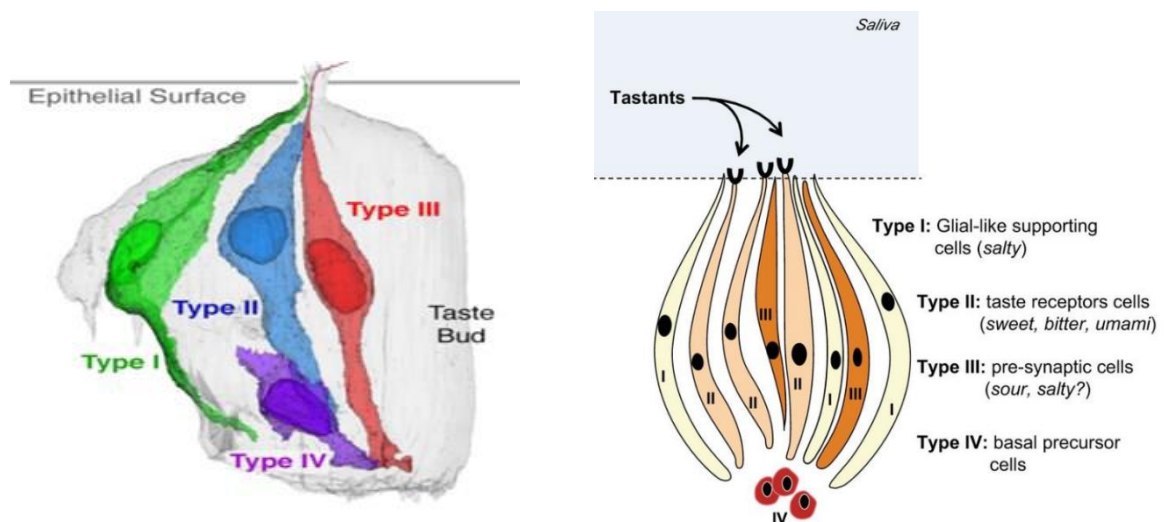


Figura 4 - Tipi di recettori - (Holden e Pakula 1996; Besnard, Passilly-Degrace, e Khan 2016).

Nella Figura 4 è schematizzata la struttura delle gemme gustative (o calici gustativi), le quali contengono quattro tipi diversi di cellule sensoriali recettoriali: tipo I, tipo II, tipo III e tipo IV (Holden e Pakula 1996; Besnard, Passilly-Degrace, e Khan 2016).

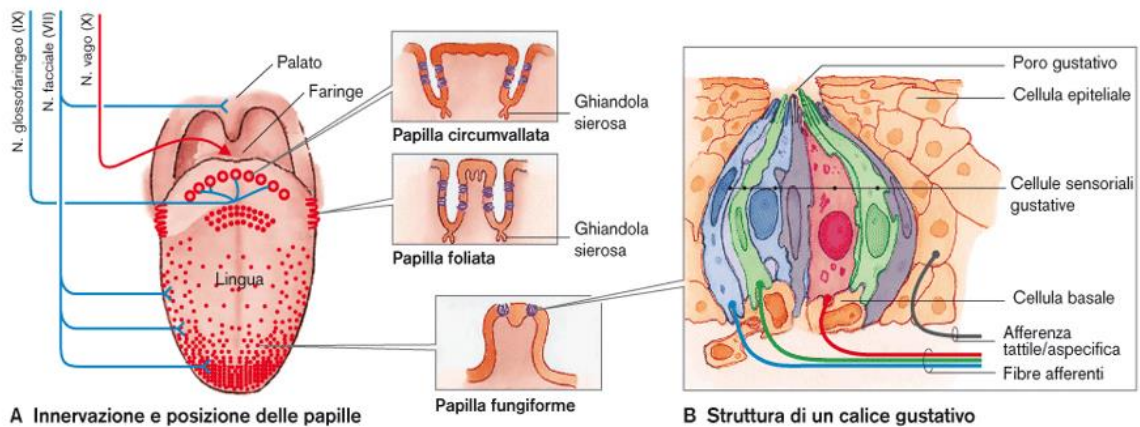
Le cellule di tipo I sono le cosiddette cellule di sostegno, hanno una struttura fusiforme e la loro membrana crea un involucro attorno agli altri tipi di cellule presenti nel calice gustativo. La seconda tipologia di cellule, cellule di tipo II, è costituita dai veri e propri recettori gustativi per stimoli gustativi del dolce, dell'amaro e dell'umami. Queste cellule recettoriali esprimono una classe di recettori gustativi accoppiati a proteina G, TR1 e TR2, che funzionano attivando cascate di trasduzione del segnale in sottopopolazioni diverse di cellule di tipo II. Le cellule di tipo III sono cellule trasduttrici che sembrano essere coinvolte nei meccanismi di percezione del gusto acido, grazie alla presenza di canali ionici nella zona apicale e di vescicole sinaptiche in grado di rilasciare neurotrasmettitori (serotonina e GABA) in risposta a stimoli gustativi acidi. In ultimo sono presenti le cellule di tipo IV, cellule staminali situate nella zona basale dei calici gustativi con la funzione di regolare il turnover delle cellule danneggiate (Kinnamon 2013).

Sebbene l'elaborazione dei gusti principali a livello delle papille non sembri essere affatto semplice, le informazioni sensoriali arrivano al sistema nervoso

centrale tramite una linea specifica di terminazioni nervose che prendono contatto con le cellule recettoriali dei bottoni gustativi (Figura 5).

Tre nervi cranici sinaptano con le papille gustative:

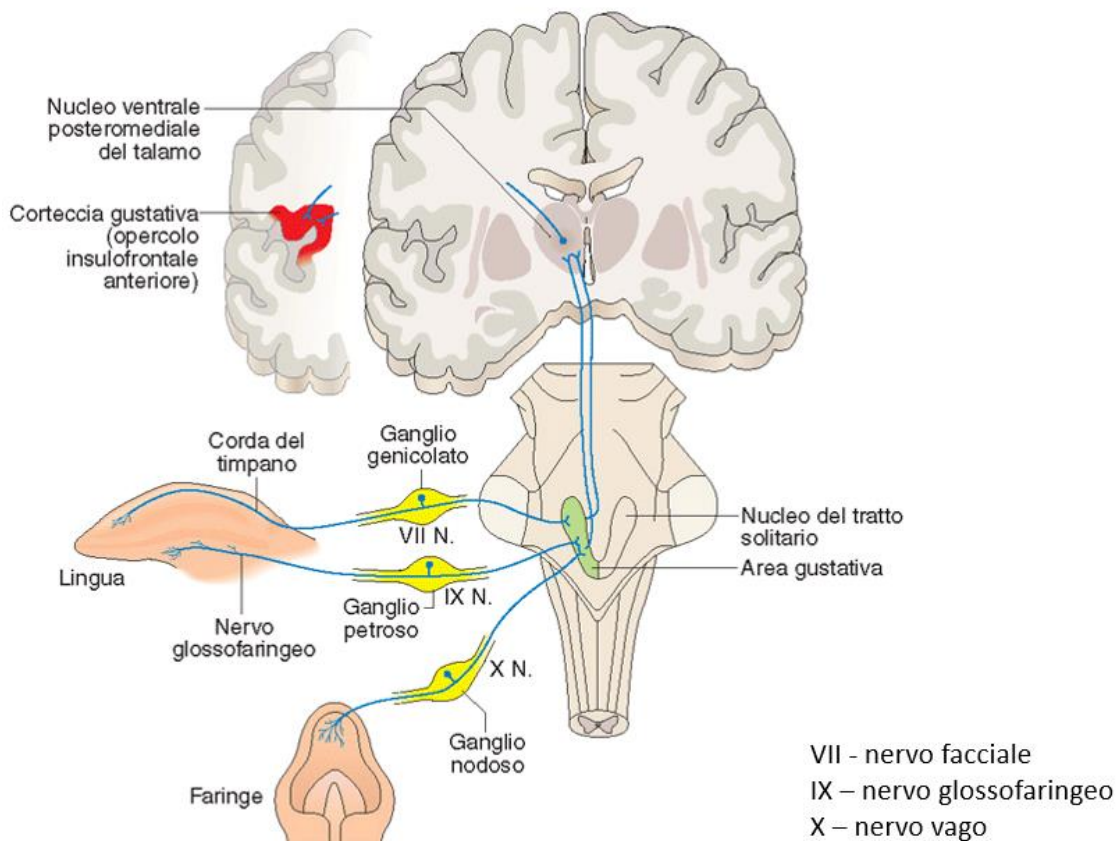
- il nervo facciale (CN-VII)
- il glossofaringeo (CN-IX)
- il vago (CN-X)



*Figura 5 - Innervazione delle papille gustative -*

Le informazioni gustative sensoriali arrivano al Nucleo del Tratto Solitario (NTS) tramite i nervi cranici elencati in un'area ben definita della corteccia cerebrale, la corteccia primaria gustativa, dove si distingue più precisamente una struttura definita insula e un opercolo insulofrontale. In questa posizione si trova l'area 43 di Brodmann, deputata alla sensibilità gustativa (Figura 6).

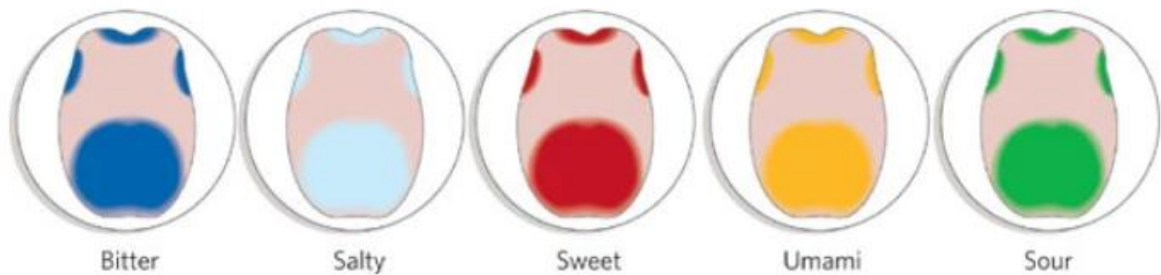




*Figura 6 - Schema della via gustativa -*

La via gustativa, inoltre, prende contatto con il sistema limbico, in particolare con l'ipotalamo e l'amigdala, per l'evocazione delle sensazioni gustative cosiddette "emotive", oltre alla percezione conscia vera e propria dei sapori. Questo aspetto ricopre un ruolo di fondamentale importanza sul controllo delle reazioni emotive e comportamentali legate all'alimentazione. Gusto ed emozioni hanno un collegamento stretto, anche anatomico, che definisce una memoria sensoriale legata al cibo, la quale modula di conseguenza il comportamento e le abitudini alimentari di ciascun individuo (Rolls 2006).

I dati molecolari più attuali hanno dimostrato che non esiste una “mappa” di percezione dei diversi gusti sulla lingua (Figura 7), ma contrariamente alla credenza popolare, la reattività gustativa è ugualmente distribuita su tutte le zone della lingua (Chandrashekar et al. 2006; Huang et al. 2006).



*Figura 7 - Distribuzione della reattività gustativa sulla lingua - (Chandrashekar et al. 2006)*

Il meccanismo di trasduzione dei diversi segnali gustativi è ancora in fase di studio e sono stati proposti due modelli di funzionamento delle cellule recettoriali per il gusto (TRC) (Figura 8): il “modello labelled-line” prevede che le cellule recettoriali siano predisposte a rispondere a singole qualità gustative e che siano in contatto con terminazioni nervose individuali per la trasduzione distinta dei diversi segnali sensoriali; la seconda teoria promuove “modelli a fibre incrociate” accreditati come più accurati, in cui la prima alternativa prevede che le singole TRC siano in grado di rispondere a tutti gli stimoli gustativi e di conseguenza che le fibre nervose trasportino informazioni per più di una modalità gustativa, mentre la seconda teoria di questo modello ipotizza l’esistenza di TRC diverse specializzate per i vari gusti, ma che siano

tutte collegate dalla stessa fibra afferente che trasporta contemporaneamente le informazioni di tutti gli stimoli gustativi percepiti (Chandrashekar et al. 2006).

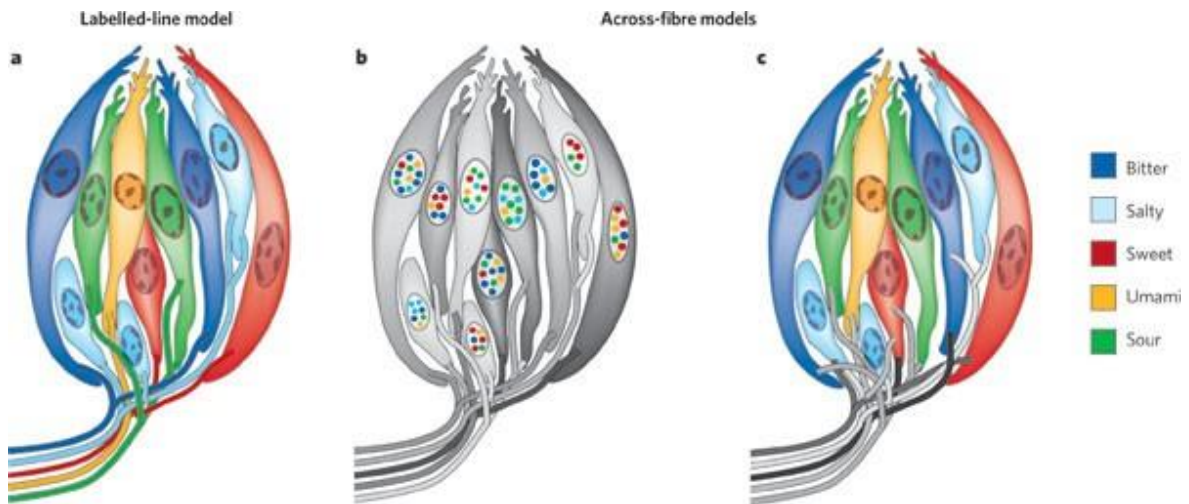


Figura 8 - modelli di trasduzione del segnale nei calici gustativi - (Chandrashekar et al. 2006)

La via di trasduzione del segnale gustativo è particolarmente complessa e può essere distinta schematicamente in due tipologie: tramite l'attivazione di recettori associati a proteine G, per il gusto amaro, dolce e umami oppure tramite apertura di canali ionici di membrana per il gusto acido e per il salato. In generale la cellula recettoriale gustativa risponde ad uno stimolo chimico adeguato generando un potenziale di recettore (depolarizzazione di membrana), il quale regola il rilascio del neurotrasmettitore nello spazio sinaptico; il neurotrasmettitore viene legato nella postsinapsi per depolarizzare i dendriti del neurone afferente sensoriale, che trasporta il segnale fino al SNC.

I meccanismi di trasduzione dei segnali gustativi e i relativi recettori che legano le diverse molecole sapide sono caratteristici per ogni gusto (Figura 9) e verranno descritti singolarmente.

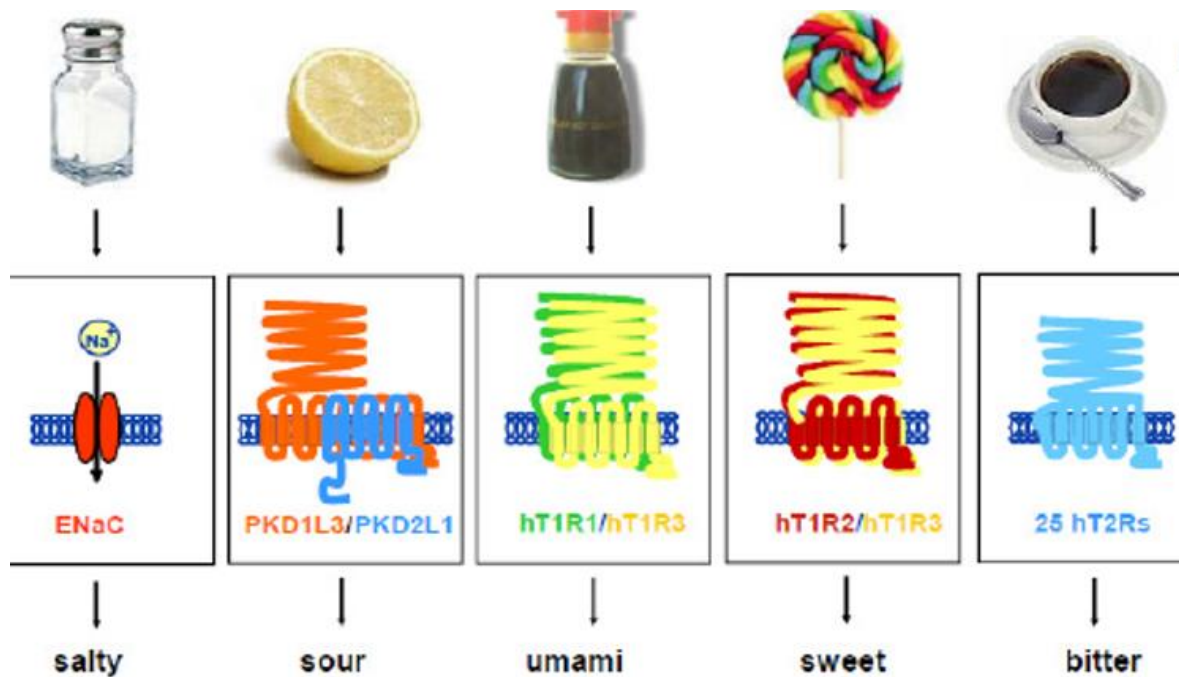


Figura 9 - Recettori per i diversi stimoli gustativi -

### 1.5.2 Il gusto dolce

La percezione sensoriale del gusto dolce corrisponde alla sensazione gustativa più piacevole e attrattiva. Il gusto dolce ha l'obiettivo di permettere il riconoscimento delle fonti nutritive più energetiche per l'organismo, degli zuccheri semplici e complessi, in quanto corrispondono anche alla percentuale maggiore di macronutrienti metabolicamente utili derivanti dalla dieta. Il dolce evoca una sensazione di piacevolezza e assume generalmente un valore edonico positivo, inoltre l'ampia accettazione e palatabilità degli alimenti dolci

spiegano l'evoluzione di questi adattamenti per migliorare il riconoscimento delle fonti con elevato valore energetico (Chandrashekar et al. 2006).

Il dolce, così come l'umami, è un gusto attraente e condivide con questo una piccola famiglia di recettori accoppiati a proteina G (GPCR) di classe C denominati T1R1, T1R2 e T1R3 espressi nella superficie apicale delle cellule recettrici. Si tratta di recettori assemblati in complessi di omodimeri o eterodimeri, con un ampio dominio N-terminale extracellulare, che sembra costituire il sito di riconoscimento del ligando (molecola dolce o amminoacido). Presentano poi una regione a cerniera ricca di cisteina e un dominio 7-TMD, composto da 7  $\alpha$ -eliche transmembrana. Quando si lega una molecola ad un GPCR, si verifica un cambiamento conformazionale nel complesso proteico, con la conseguente attivazione della proteina G associata eterodimerica intracellulare composta da tre subunità:  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , che possono attivare diverse vie di amplificazione del segnale a valle. (Gilbertson, Damak, e Margolskee 2000).

La cascata di eventi parte dall'attivazione della via fosfoinositidica da parte della proteina G, la quale porta all'aumento della concentrazione intracellulare di calcio e alla depolarizzazione della membrana attraverso l'apertura del canale cationico TrpM5. L'azione combinata dell'aumentata concentrazione citoplasmatica di calcio e della depolarizzazione di membrana porta al rilascio

di neurotrasmettitore nello spazio sinaptico. Studi di espressione funzionale in cellule eterologhe hanno rivelato che T1R3 si combina con T1R2 (T1R2+3) per formare un recettore del gusto dolce che risponde a tutte le classi di aromi dolci, compresi gli zuccheri naturali, i dolcificanti artificiali, gli aminoacidi D e le proteine intensamente dolci (Kant 2005). Infatti, sono moltissime le molecole chimicamente diverse che vengono legate e percepite con gusto dolce grazie alla struttura tridimensionale di questo recettore.

### *1.5.3 Il gusto salato*

Il gusto salato viene percepito grazie alla presenza di sodio, questo minerale è essenziale per la salute umana, in quanto è il catione più abbondante nel fluido extracellulare ed assolve l'importante funzione di regolare l'equilibrio osmotico corporeo, oltre a garantire il corretto svolgimento delle funzioni cellulari fisiologiche. L'assunzione di sodio con la dieta deve essere ben regolata in quanto un elevato consumo costituisce un fattore di rischio per le malattie cardiovascolari (Taruno et al. 2021).

Nella percezione del gusto salato sono coinvolti canali del Na<sup>+</sup> sensibili all'amiloride (ENaC) sulla membrana apicale delle cellule gustative composti da tre subunità che permettono l'ingresso dello ione e l'attivazione delle cellule recettoriali stesse (Chandrashekar et al. 2010). È noto che le cellule gustative

del sale sono presenti nelle papille fungiformi situate maggiormente nella zona anteriore della lingua e non nelle papille circumvallate situate posteriormente. Tuttavia, rimangono incertezze sull'identificazione delle popolazioni cellulari coinvolte nella percezione del gusto salato e anche sulla comprensione dei meccanismi molecolari di segnalazione intracellulare alla base della percezione di tale stimolo. La sensazione di gradevolezza si avverte in seguito alla percezione del salato con basse concentrazioni di sale, a differenza della reazione di avversione al cibo che sembra essere indotta dalla percezione di alte concentrazioni di sale; questo spiegherebbe l'utilità di assumerne quantità moderate per mantenere ottimali le contrazioni muscolari, la creazione di potenziali d'azione e molte altre funzioni (Liman, Zhang, e Montell 2014).

#### *1.5.4 Il gusto umami*

All'inizio del XX secolo, il chimico giapponese Kikunae Ikeda descrisse per la prima volta il gusto umami identificandolo con il gusto saporito degli amminoacidi, in particolare del glutammato monosodico (MSG). Successivamente molti ricercatori negli anni hanno discusso su questa qualità gustativa e sulle sue caratteristiche proponendola infine come un ulteriore gusto di base nel 1985 (Kurihara 2009).

Nella cultura orientale il gusto umami è stato da sempre ben distinto e riconosciuto in quanto è rappresentato da molti ingredienti tipici della loro cucina; infatti, con questo termine si identifica il sapore di un brodo tipico giapponese a base di carne e alghe konbu, i vegetali più ricchi di acido glutammico in natura. Il termine “umami” significa letteralmente sapore delizioso, appetitoso, brodoso, ma nel mondo occidentale la sua accettazione come gusto caratteristico è stata meno immediata, poiché non sono presenti molti alimenti o ingredienti tipici che lo evocano (spesso si fa riferimento al sapore del parmigiano o del brodo di carne). Anche i recettori del gusto umami appartengono alla famiglia dei GPCR di classe C, con la subunità T1R3 in comune con quello del gusto dolce e un'altra subunità T1R1 unica. Nell'uomo sono attivati da tre sostanze che interagiscono sinergicamente per attivare la percezione di tale sapore: il glutammato monosodico (MSG), il disodio guanosina monofosfato (GMP) e il disodio inosina monofosfato (IMP) (Katarzyna Stańska , Antonii Krzeski 2016).

I recettori T1R1+3 sono espressi nella membrana apicale delle papille foliate e rispondono in modo promiscuo a tutti i 20 amminoacidi, ma di recente sono stati evidenziati altri recettori metabotropici e ionotropici specifici per il glutammato (es. mGluR4, mGluR1, mGluR2 e mGluR3), che è l'amminoacido più presente negli alimenti che evocano questo sapore e che dimostrano il fatto



che sia un gusto completamente differente dagli altri. Il legame con le molecole sapide elencate in precedenza attiva una cascata di eventi di amplificazione e trasmissione del segnale molto simile a quella dei recettori del gusto dolce, con cui è condivisa una successiva risposta attrattiva comportamentale derivante dalla comune origine evolutiva.

#### *1.5.5 Il gusto amaro*

Il significato evolutivo del gusto amaro è quello di impedire l'ingestione di sostanze nocive strutturalmente diverse tra loro come meccanismo di difesa dell'organismo. Difatti, è sorprendente come così tanti composti esistenti riescano ad evocare la stessa sensazione gustativa nota come "amaro" grazie alla famiglia altamente eterogenea di circa 30 recettori GPCR, denominati T2R (Li 2013). È stato evidenziato che l'evoluzione ha portato ad esprimere tutti i vari recettori T2R nelle stesse TRC, differenti da quelle che esprimono i recettori per il dolce e per l'umami, comportando il riconoscimento del gusto amaro derivato da molte sostanze differenti tra loro, senza la sostanziale necessità di distinguerle qualitativamente.

La sensibilità al gusto amaro è stata studiata prevalentemente per comprendere la differente capacità di apprezzare due composti amari particolari nella popolazione: il 6-n-propiltiouracile (PROP) e il feniltiocarbamide (PTC). Gli

individui si distinguono in “taster” e “non taster” sulla base della presenza o assenza del gene TAS2R3 nel loro corredo genetico, i primi percepiscono tali composti come amari, mentre i “non taster” li percepiscono come insipidi; anche se statisticamente i “taster” sono prevalenti (Bray e Carek 2020). La grande varietà di composti chimici amari riconoscibili rende ancora difficile la comprensione esatta dei meccanismi molecolari alla base del legame con le cellule T2R e degli eventi a cascata consecutivi utili alla trasduzione del segnale, ma è noto che anche in questo caso si determinerebbe un aumento del calcio intracellulare con conseguente rilascio del neurotrasmettitore nello spazio sinaptico (Amrein e Bray 2003).

#### *1.5.6 Il gusto acido*

Le cellule maggiormente coinvolte nella percezione del gusto acido sono le cellule di tipo III del calice gustativo, descritte in precedenza come cellule traduttrici sensibili agli stimoli acidi, in quanto esprimono sulla superficie apicale i recettori ASIC (canali ionici sensibili all'acido), CNG (canali ionici a nucleotidi ciclici) e i TRP (canali del potenziale di recettore transiente), tra cui PKD2L1 e PKD1L3 proposti come i recettori responsabili della captazione degli stimoli acidi grazie all'azione dello ione idrogeno  $H^+$ , che causa l'ingresso di  $Na^+$  e  $Ca^{2+}$  determinando la depolarizzazione della cellula gustativa e il

rilascio del neurotrasmettitore (Chandrashekar et al. 2010; Taruno et al. 2021). In recenti studi, il canale ionico selettivo al catione idrogeno suggerito per la risposta allo stimolo acido, è l'otopetrina 1 (OTOP1) che agirebbe aumentando l'afflusso in entrata di ione  $H^+$  con conseguente diminuzione del pH intracellulare (Liman e Kinnamon 2021).

Evolutivamente parlando il gusto acido, se eccessivo, può essere associato al riconoscimento di cibi avariati potenzialmente dannosi per la salute.

#### *1.5.7 Il gusto grasso o oleogusto*

In accordo con le evidenze scientifiche più attuali sembrerebbe che esista una reattività delle cellule gustative alla percezione di un sesto gusto di base, l'oleogusto. Questa percezione gustativa sembra derivare dalla capacità dei recettori TRC di individuare e legare acidi grassi a lunga catena (LCFA), l'elemento gustativo che evocherebbe il gusto grasso (Mattes 2011; Running, Craig, e Mattes 2015). Le principali fonti alimentari di grassi introdotte con la dieta contengono per lo più trigliceridi, che attraverso l'azione della lipasi salivare, vengono idrolizzati in acidi grassi liberi più semplici, i quali sono trasportati nelle cellule attraverso i recettori TRC delle cellule gustative o tramite i trasportatori specifici per gli acidi grassi. Gli alimenti ricchi di grassi sono altamente energetici ed evocano una sensazione di piacere in seguito alla

loro assunzione. Infatti, la lipasi assume un ruolo fondamentale nel regolare la propensione al loro consumo, dato che studi recenti hanno confermato il contributo della gustazione oro-sensoriale nell'attrazione per i cibi appetibili ricchi di lipidi, insieme alla percezione di segnali strutturali, olfattivi e post-ingestivi. La glicoproteina CD36 linguale sembra essere un candidato plausibile per fungere da recettore per la percezione dell'oleogusto, in quanto mostra elevata affinità con gli LCFA ed è localizzata nelle papille gustative. Da un punto di vista fisiologico sembra contribuire alla preferenza per i cibi grassi dal momento che, il gene che lo codifica regola la sensibilità ai grassi negli individui: i soggetti con la variante attiva del gene CD36 sintetizzano molti recettori che legano i grassi e possiedono la capacità di regolare facilmente l'assunzione di cibi ipercalorici, mentre i soggetti con la variante ipoattiva del gene CD36 possiedono meno recettori sulla superficie linguale e non giungono ad un senso di sazietà nei confronti dei grassi. La variante ipoattiva è stata riscontrata nel 20% dei soggetti obesi, mostrando difficoltà a soddisfare il desiderio continuo di introdurre cibi grassi (Laugerette et al. 2005; Rać, Safranow, e Poncyljusz 2007).

### *1.5.8 Il gusto acqua o neutro*

Gli animali, compreso l'uomo devono essere in grado di percepire l'acqua e i fluidi iposmotici attraverso la percezione sensoriale chimica gustativa, poiché il consumo di acqua è essenziale per la sopravvivenza ed è regolato dalla sete. Per molto tempo si è discusso sul riconoscimento dell'acqua tramite il sistema gustativo e quindi sul fatto di considerarla una qualità gustativa a sé stante da aggiungere all'elenco dei gusti base, fino a quando non sono state dimostrate risposte nervose in risposta alla stimolazione della lingua con acqua deionizzata (Zocchi, Wennemuth, e Oka 2017). Successivamente è stato osservato che la via gustativa acido-sensibile risulta essere coinvolta nelle risposte gustative all'acqua, in quanto bloccando l'attività delle TRC sensibili all'acido è stata ottenuta una perdita totale delle risposte gustative all'acqua, senza influenzare minimamente le altre qualità gustative. Il meccanismo alla base di questa stimolazione potrebbe essere legato alla variazione locale di pH, indotta dall'ingresso di molecole d'acqua, che attiva le TRC. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per chiarire le basi molecolari del rilevamento sensoriale del gusto acqua.

### *1.5.9 Gusto e comportamento alimentare*

Se il comportamento alimentare fosse regolato esclusivamente da sistemi omeostatici, l'atto di mangiare sarebbe semplicemente una risposta a un bisogno puramente fisiologico e la maggioranza delle persone non avrebbe problemi a mantenere un peso ideale. Infatti, nell'essere umano la regolazione dell'alimentazione è controllata in modo molto complesso da meccanismi omeostatici, fisiologici, metabolici e ormonali che agiscono sull'attivazione nervosa dei centri ipotalamici della fame e della sazietà, ma anche da una vasta gamma di fattori esterni legati alla percezione orosensoriale, all'esperienza e al comportamento alimentare. L'appetibilità del cibo è la caratteristica che conferisce un valore edonico agli alimenti ingeriti, permettendo ai soggetti di provare una sensazione soggettiva di piacere, che controlla l'appetito e che associa una componente emozionale ai pasti. Questa sensazione dipende dalle caratteristiche organolettiche dell'alimento e quindi sono fondamentali le percezioni sensoriali del sapore, dell'odore, del colore o della consistenza per condizionare la scelta e la preferenza verso la sua assunzione (Hernández Ruiz de Eguilaz et al. 2018).

Molti studi hanno cercato di approfondire l'influenza degli stimoli gustativi sul valore edonico di ricompensa attribuito al consumo di un certo alimento ed è stato confermato che lo stesso cibo può essere considerato gradevole ed essere

apprezzato prima di essere ingerito (con lo stimolo della fame), ma dopo averlo assunto fino a sazietà acquisisce un carattere edonicamente neutro o anche sgradevole, causando un rifiuto attivo da parte del soggetto.

Si parla di “senso di sazietà sensoriale specifico” nei confronti di un cibo con stesse proprietà organolettiche e nutrizionali assunto fino a sazietà, dimostrando come l’assunzione di nutrienti diversi e di cibi diversi ritarda la sensazione di sazietà e di perdita dell’appetito. Una caratteristica che può essere considerata positiva in relazione alla maggiore disponibilità di fonti alimentari alternative negli anni, che nell’evoluzione ha agevolato l’assunzione di tutti i diversi nutrienti necessari alle funzioni fisiologiche, ma che al contempo nella società moderna ha un riscontro negativo sugli individui che vivono in contesti di continua esposizione a fonti alimentari abbondanti e altamente energetiche, favorendo un aumento del consumo di cibo per “fame emotiva” piuttosto che per “fame fisiologica” (Rolls 2005). Quando il consumo di cibo ci gratifica siamo spinti a mangiare indipendentemente dal nostro bilancio energetico; in particolare, i cibi ad alta densità calorica, come i grassi e i dolci, stimolano il sistema di ricompensa dopaminergico, coinvolto anche nell’abuso di sostanze (alcol e droghe), il quale si sovrappone alle regioni limbiche legate alle emozioni ed è per questo che emozioni negative facilitano il consumo edonico di questi alimenti permettendoci poi di provare una sensazione momentanea di

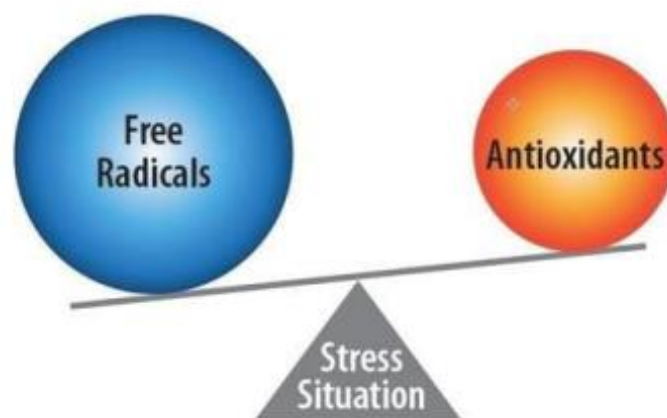
piacere e tranquillità, causata dall'azione dei neuropeptidi oppioidi del sistema mesolimbico. Inoltre, sta diventando chiaro che i mediatori della fame e della sazietà non svolgono un ruolo solo nel sistema omeostatico di regolazione del comportamento alimentare, ma anche in quello emotivo. Per esempio, la diminuzione dei livelli di leptina nei soggetti sottopeso affetti da AN può aumentare la motivazione al digiuno. Dunque, la sensibilità gustativa può avere un ruolo importante nel controllo del comportamento alimentare, dimostrando possibili relazioni di causalità tra disfunzioni sensoriali gustative e risposte eccessive di avversione o di attrazione verso il cibo (Leland et al. 2022).

## **1.6 Stress ossidativo**

L'essere umano, così come tutti gli organismi viventi presenti sulla Terra, vive in un'atmosfera ossidante ed ha sviluppato meccanismi in grado di rilevare e contrastare gli effetti negativi dovuti all'azione degli agenti ossidanti come radicali liberi e specie reattive dell'ossigeno (ROS), i sottoprodotti del metabolismo dell'ossigeno. Infatti, le reazioni ossidoriduttive (redox) sono parte integrante dei sistemi biologici svolgendo un ruolo vitale in processi cellulari come la respirazione cellulare, il metabolismo energetico o di farmaci e tossine. L'azione di enzimi ossidoreduttasi, che facilitano l'attivazione delle reazioni redox, garantisce una corretta regolazione dell'equilibrio redox.



Nei sistemi biologici il mantenimento di un equilibrio tra agenti ossidanti e riducenti (antiossidanti) è fondamentale per ottenere un benessere cellulare generale e uno stato di salute ottimale; i composti ossidanti si formano costantemente nei processi fisiologici metabolici e vengono bilanciati dall'azione protettiva degli antiossidanti enzimatici (di origine endogena) e non enzimatici (derivanti dall'alimentazione). Quando il bilanciamento tra sistemi pro-ossidanti e sistemi antiossidanti viene perso, a causa di una produzione di ROS superiore alla capacità neutralizzante delle difese antiossidanti, si verifica uno stato di stress ossidativo, che causa danni e morte cellulare, oltre che disfunzioni degli organi (Solmi et al. 2015a).



*Figura 10 - Sbilanciamento redox*

L'accumulo dei radicali liberi e delle specie altamente reattive comporta un danneggiamento di substrati come lipidi, acidi nucleici (DNA e RNA), proteine e zuccheri.

È stato osservato che l'alterazione prolungata nel tempo dello stato redox nell'organismo può causare una disfunzione metabolica o un danno cellulare e tissutale che sembrerebbero aumentare le probabilità di andare incontro ad invecchiamento precoce della pelle, vitiligine, problemi ai capelli, infertilità, sviluppo di patologie croniche e degenerative o all'insorgenza di tumori (Aksenova et al. 2005; Filomeni e Ciriolo 2006). Ciò nonostante, una produzione di ROS entro una certa soglia è fisiologica ed è importante per diverse funzioni cellulari, quindi un lieve squilibrio pro-ossidativo non è considerato dannoso per la salute.

I fattori che concorrono all'aumento della produzione di radicali liberi sono: l'attivazione del sistema immunitario a causa di processi infiammatori e di situazioni patologiche; i periodi prolungati di stress psicofisico; la sensazione di fame prolungata; malnutrizione; le alterazioni del metabolismo; l'inquinamento ambientale; il fumo; i raggi UV; l'attività fisica estremamente intensa; le alterazioni ormonali; alcuni farmaci (es. psicofarmaci).

I composti antiossidanti sono molecole che hanno la capacità di stabilizzare o disattivare i radicali liberi prima che questi agiscano danneggiando le cellule. Tra gli antiossidanti enzimatici si distingue l'enzima superossido dismutasi (SOD), che favorisce la dissociazione dell'anione superossido in ossigeno molecolare e perossido di ossigeno. Tra i composti non enzimatici la funzione

antiossidante è esplicitata da molecole come flavonoidi, polifenoli e composti fenolici in generale, che in combinazione con altre molecole costituiscono una componente fondamentale della difesa dall'ossidazione cellulare. Nel complesso tutti questi meccanismi di protezione definiscono la cosiddetta capacità antiossidante generale dell'organismo, la quale può essere valutata e misurata con test di laboratorio specifici tra cui: il test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), il test di Folin–Ciocalteu (TPC), la determinazione dei flavonoidi totali (TFC) e dell'attività della Superossido dismutasi (SOD).

#### *1.6.1 Stress ossidativo e disturbi dell'alimentazione*

Lo squilibrio redox, dovuto all'accumulo di specie reattive dell'ossigeno e/o alla carenza di componenti antiossidanti nell'organismo, comporta effetti dannosi a molti organi e sistemi anatomici, ma sicuramente il sistema nervoso centrale ne risente particolarmente, considerando che il cervello consuma grandi quantità di ossigeno. Pertanto, non è sorprendente riscontrare un ruolo dello stress ossidativo nella patogenesi di molte malattie psichiatriche e neurodegenerative, dunque anche nei disturbi alimentari.

I pazienti affetti da DNA sono solitamente sottoposti a stress psicofisico prolungato e insufficiente apporto di micronutrienti con proprietà antiossidanti, il che li rende molto vulnerabili allo stress ossidativo, soprattutto perché la

malattia emerge spesso in adolescenza. Inoltre, i lunghi periodi di fame, tipici di questi disturbi, sono stati segnalati essere responsabili di ulteriori effetti pro-ossidanti nei mammiferi.

Dai risultati ottenuti in recenti studi sembra che l'AN sia associata all'aumento di marcatori per lo stress ossidativo e contemporaneamente alla riduzione dei composti antiossidanti (diminuzione generale della capacità antiossidante) presenti nei campioni di fluidi corporei come plasma, siero e saliva dei pazienti analizzati; non a caso anche l'esercizio fisico intenso, che viene spesso praticato da questi soggetti, ha un ruolo nell'aumentare la produzione di radicali liberi (Solmi et al. 2015b).

Finora, solo pochi studi hanno valutato lo stato ossidativo nei pazienti con AN o con altri DNA (Moyano et al. 1999; Ruiz-Guerrero et al. 2023) osservando che lo stress ossidativo è associato molto spesso a disturbi mentali che potrebbero essere correlati con i DNA, come la depressione o l'ansia; è stato definito, infatti, che gli individui con anoressia nervosa hanno un aumento dello stress ossidativo maggiormente attribuito alla diminuzione dei livelli di antiossidanti assunti con la dieta, alla carenza di acidi grassi essenziali, come i grassi  $\omega 3$  con azione antinfiammatoria e all'aumento di fattori pro-ossidanti grazie all'attività sregolata del sistema immunitario e ormonale (Gibson e Mehler 2019).

Uno studio del 2022, pubblicato sull'European Journal of Pediatrics, ha ipotizzato una relazione tra lo stato ossidativo nei pazienti adolescenti con AN e la compromissione del turnover osseo con conseguente riduzione della densità minerale ossea riscontrata molto spesso nelle ragazze anoressiche. Sembra che i ROS in eccesso possano ridurre o addirittura bloccare l'attività e la differenziazione degli osteoblasti e indurre l'apoptosi degli osteociti, con conseguenze molto gravi sull'osteogenesi dei pazienti che sviluppano questi disturbi in età pediatrica o adolescenziale, in cui il picco di massa ossea potrebbe non essere raggiunto (Čagalová et al. 2022).

La ricerca attuale sta focalizzando l'attenzione sulla comprensione delle possibili cause di esordio e mantenimento della patogenesi legata ai DNA per ottenere nuove prospettive terapeutiche e, confrontando i dati riportati, sembrerebbe ipotizzare che l'attività fortemente "disregolata" del sistema immunitario, con sovrapproduzione di citochine pro-infiammatorie e il conseguente stato redox sbilanciato prolungato, giocherebbero un'importante azione nella predisposizione a sviluppare queste patologie, in particolare l'anoressia nervosa. Sembra che si possa definire un difetto immunitario primario che concorre ad aumentare la vulnerabilità per lo sviluppo di AN, il quale viene poi aggravato da tutti gli altri fattori descritti precedentemente.

Tuttavia, questa ipotesi rimane speculativa e sono necessarie ulteriori indagini per comprendere il contributo dello stress ossidativo, dello stress psicofisico cronico, del microbiota alterato, dello stato pro-infiammatorio prolungato e della malnutrizione nell'esordio e nel mantenimento dell'anoressia nervosa e di tutti gli altri DNA. Soprattutto per quanto riguarda l'effetto di una terapia integrata su questi aspetti della patogenesi, poiché sono ancora molto scarsi i risultati che descrivono come il recupero del BMI e di un corretto apporto nutrizionale possano comportare modifiche allo stato redox dei pazienti e all'attivazione del sistema immunitario.

## **2 SCOPO DELLA TESI**

Il gusto svolge un ruolo fondamentale nel comportamento alimentare. La capacità di percepire i gusti di base (dolce, salato, umami, amaro, acido, oleogusto e acqua) ci permette di identificare la qualità nutrizionale degli alimenti e di trovare gratificazione nel cibo, la quale a sua volta determina il nostro appetito attraverso il sistema di ricompensa del sistema nervoso centrale. È stato ipotizzato che un'alterata elaborazione della ricompensa possa contribuire ai sintomi chiave dell'AN (Leland et al. 2022), anche se l'esatto meccanismo alla base di questo processo è discusso: una possibile spiegazione consiste nell'ipotizzare che gli individui che soffrono di AN abbiano una soglia di sensibilità ridotta quando "gustano" sapori piacevoli. La proposta ulteriore prevede che le proprietà edoniche degli stimoli gustativi (ossia la misura in cui alcune persone apprezzano un sapore) rimangano inalterate, contrariamente alla motivazione, che è ridotta. Di conseguenza la ricerca scientifica, che riporta la percezione atipica del gusto in presenza di AN, si è concentrata sull'elaborazione del gusto-ricompensa e sulle aree cerebrali ad essa associate. A queste ipotesi si correla la questione del ruolo della sensibilità gustativa, ovvero di quanto accuratamente e rapidamente identifichiamo uno stimolo orosensoriale; infatti, sembra che la percezione alterata del gusto possa contribuire al comportamento alimentare restrittivo osservato nell'AN. Pertanto, se la sensibilità gustativa è attenuata nell'AN, anche la sensazione di



ricompensa derivata dalla percezione di stimoli attrattivi è ridotta in questi soggetti.

Finora, gli studi sul coinvolgimento dell'elaborazione gustativa nell'AN, hanno prodotto conclusioni contrastanti, sia per l'esiguità dei campioni considerati sia per l'utilizzo di metodi diversi e non confrontabili tra loro.

L'attivazione delle aree cerebrali in seguito alla somministrazione di stimoli gustativi di base, sia piacevoli che sgradevoli, in pazienti con AN e BN è stata monitorata con la tecnica della risonanza magnetica funzionale (fMRI) ed ha evidenziato che in questi soggetti lo stimolo dolce induceva un'attivazione maggiore in diverse aree cerebrali rispetto a quella indotta dal gusto amaro; il contrario di quello che si verifica nei controlli sani (Monteleone et al. 2017). Con i risultati ottenuti si dimostra un'elaborazione alterata degli stimoli gustativi nei pazienti con DNA, che potrebbe avere un ruolo importante nella comprensione della fisiopatologia di questi disturbi.

A tal proposito, questo studio si è posto l'obiettivo di valutare la variazione della sensibilità gustativa in soggetti affetti da DNA, in particolare AN e BN, tra il momento iniziale dell'esordio (t0) e dopo 3 e 6 mesi (rispettivamente t1 e t2) di terapia integrata specializzata (farmacologica, psicoterapia e riabilitazione nutrizionale). Inoltre, sono stati analizzati i livelli di antiossidanti (polifenoli e flavonoidi) e la capacità antiossidante in campioni di saliva

prelevati sempre nei tempi t0, t1 e t2 dalla stessa coorte di pazienti affetti da AN e BN, per verificare se il miglioramento delle condizioni fisiche e psicologiche, dovuto alla terapia integrata, potesse avere un riscontro sulla concentrazione di queste molecole.

### **3 MATERIALI E METODI**

### **3.1 Caratteristiche dei pazienti**

Lo studio è stato condotto su 51 pazienti adolescenti, di cui 47 femmine e 4 maschi, affetti da DNA, in particolare da AN e BN, di età compresa tra gli 11 e i 18 anni (con un'età media di  $15 \pm 1,7$  anni), con un BMI medio di  $16,8 \pm 2,0$  kg/m<sup>2</sup> nei pazienti con AN e di  $19,6 \pm 3,0$  kg/m<sup>2</sup> nei pazienti con BN, secondo la SOSD Disturbi dell'Alimentazione in Età Evolutiva in Comorbilità con Patologia Psichiatrica, dell'Azienda Ospedaliero Universitaria delle Marche Ancona, dove sono seguiti.

Tutti i soggetti reclutati sono stati arruolati nel periodo compreso tra ottobre 2022 e ottobre 2023 solo dopo aver ottenuto un consenso informato scritto, firmato dai partecipanti e/o dai genitori/tutori legali, se minorenni.

### **3.2 Criteri di inclusione e di esclusione**

I criteri di inclusione per la partecipazione allo studio sono stati i seguenti:

- i. Primo episodio di DNA, in particolare AN o BN;
- ii. Primo ricovero in terapia per AN o BN;
- iii. Età inferiore o pari a 18 anni;
- iv. Aderenza alla terapia (psicofarmacologica, psicoterapia e riabilitazione nutrizionale);
- v. Consenso informato alla partecipazione all'attività di ricerca.

I criteri che hanno portato all'esclusione di partecipanti allo studio sono stati:

- i. Pazienti affetti da altri DNA diversi da AN o BN;
- ii. Età superiore ai 18 anni;
- iii. Analfabetismo;
- iv. Ritardo mentale;
- v. Storia clinica di malattie pregresse note per poter interferire con il DNA (ad esempio: diabete mellito, ipotiroidismo, cachessia, ecc.).

Una volta selezionata la coorte di partecipanti, sono stati raccolti i dati clinici personali di ogni paziente, come l'età, il peso corporeo, l'altezza, il BMI, i campioni di saliva e i dati sulla sensibilità gustativa nel corso dei sei mesi (t0, t1 e t2) di terapia integrata, caratterizzata da terapia psicologica, riabilitazione nutrizionale e terapia farmacologica, se necessaria, come suggerito dal protocollo terapeutico adeguato anche alle condizioni psicopatologiche frequentemente associate ai DNA (disturbi dell'umore, disturbi d'ansia, disturbi ossessivo-compulsivi, depressione).

### 3.3 Test del gusto

I pazienti sono stati sottoposti ad un test per verificare la loro sensibilità gustativa, tramite un test del gusto che segue il modello dei “Taste Strip Test” (Vignini et al. 2019). È stato effettuato utilizzando tamponi di cotone impregnati di una soluzione contenente una sostanza gustativa in 4 diverse concentrazioni per ciascuno dei 5 gusti fondamentali, oltre all’olio di colza e acqua deionizzata usati puri per l’oleogusto e per il neutro (Tabella 3).

STIMOLO GUSTATIVO	SOSTANZA	CONCENTRAZIONE
<b>Salato</b>	NaCl	0.016 mg/dl 0.04 mg/dl 0.1 mg/dl 0.25 mg/dl
<b>Acido</b>	Acido citrico	0.05 mg/dl 0.09 mg/dl 0.165 mg/dl 0.3 mg/dl
<b>Amaro</b>	Cloridrato di chinino	0.0004 mg/dl 0.0009 mg/dl 0.0024 mg/dl 0.006 mg/dl
<b>Dolce</b>	Saccarosio	0.05 mg/dl 0.1 mg/dl 0.2 mg/dl 0.4 mg/dl
<b>Umami</b>	Glutammato monosodico	0.016 mg/dl 0.04 mg/dl 0.1 mg/dl 0.25 mg/dl
<b>Oleogusto</b>	Olio di colza	Puro
<b>Neutro</b>	Acqua deionizzata	Pura

*Tabella 3 - Sostanze utilizzate come stimoli gustativi per il test del gusto -*

Le soluzioni sono state preparate rispettivamente con cloruro di sodio per il salato, acido citrico per l'acido, saccarosio per il dolce, glutammato monosodico per l'umami e cloridrato di chinino per l'amaro.

Per migliorare la veridicità del test è stato chiesto ai pazienti di non mangiare né bere nulla, tranne l'acqua, e di non masticare gomme e/o caramelle, almeno un'ora prima di sottoporsi al test. Gli stimoli sono stati applicati sul terzo anteriore della parte centrale della lingua tenuta fuori dalla bocca e sono stati utilizzati 22 tamponi di cotone totali seguendo un ordine di somministrazione randomizzato per ciascuno dei 4 livelli di concentrazione. Per la valutazione della sensibilità gustativa i soggetti hanno identificato i gusti percepiti attraverso la compilazione di un modulo a scelta multipla forzata tra nove opzioni di risposta possibili (dolce, acido, amaro, salato, umami, oleogusto, acqua, niente, non so) (Figura 11-12).

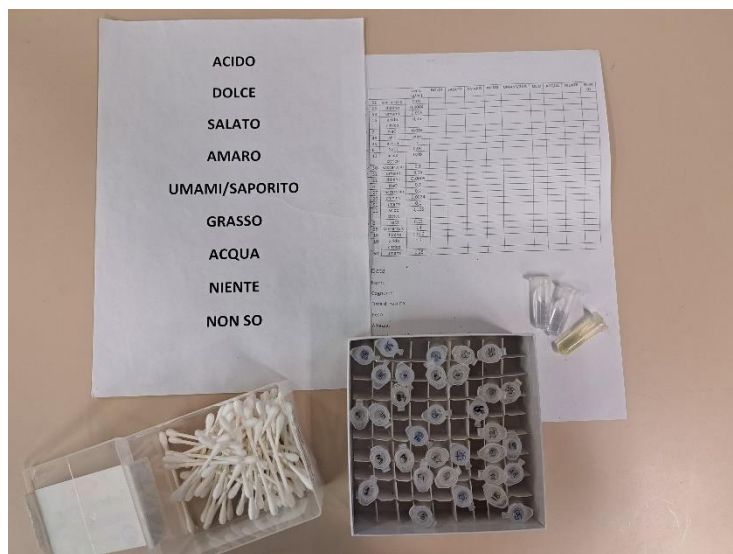


Figura 11- Kit per il test del gusto "Taste strip test" -

		conc. (g/ml)	DOLCE	SALATO	AMARO	ACIDO	UMAMI/SAP.	OLIO	ACQUA	NIENTE	NON SO
32	saccarosio	0,05									
23	chinino	0,0004									
53	umami	0,016									
16	acido citrico	0,05									
7	NaCl	0,016									
48	olio	puro									
39	acqua	/									
6	NaCl	0,04									
13	acido citrico	0,09									
30	saccarosio	0,1									
52	umami	0,04									
22	chinino	0,0009									
4	NaCl	0,1									
27	saccarosio	0,2									
20	chinino	0,0024									
51	umami	0,1									
11	acido citrico	0,165									
2	NaCl	0,25									
25	saccarosio	0,4									
18	chinino	0,006									
10	acido citrico	0,3									
50	umami	0,25									

Data

Nome:

Cognome:

Data di nascita:

Peso:

Figura 12 - Modulo per la raccolta dei dati e delle risposte -



### 3.4 Campionamento della saliva

I campioni di saliva sono stati collezionati grazie all'utilizzo di particolari dispositivi specifici per la raccolta della saliva le Salivette (Salimetrics, Carlsbad, CA) (Figura 13). La saliva è stata campionata non prima di 1 ora dopo che i pazienti avessero mangiato, bevuto (tranne per l'acqua) e lavato i denti. Il tampone è stato rimosso dalla Salivette e masticato delicatamente per 1 minuto per stimolare la salivazione, per poi essere reinserto nell'inserto sospeso e la Salivette è stata chiusa accuratamente con il tappo. Subito dopo le Salivette sono state centrifugate per 2 minuti a 1000 X g, a 4 °C; in questo modo le particelle e i filamenti di muco sono rimasti accumulati nell'estremità a punta appositamente progettata della Salivette. A questo punto i campioni di saliva sono stati conservati a -20 °C fino al momento dell'analisi.



Figura 13 - Salivette -

### **3.5 Determinazione del contenuto di polifenoli totali (TPC)**

Il metodo utilizzato è il saggio di Folin-Ciocalteu (F-C) (Dominguez-López et al. 2023) che è il test di riferimento per la determinazione della concentrazione dei polifenoli totali (TPC) in campioni biologici, come plasma, urina e saliva (Toczewska et al. 2022).

La reazione avviene in condizioni alcaline, in presenza di una soluzione di carbonato di sodio concentrata al 20%, grazie all'utilizzo del reattivo di F-C (FCR) di colore giallo, composto da Acido Fosfomolibdico e Acido Fosfotungstico, i quali vengono ridotti per la produzione di un cromoforo di colore blu con assorbanza a 745-765 nm.

La misurazione della concentrazione dei polifenoli contenuti nei campioni viene effettuata tramite la costruzione di una curva standard di riferimento ottenuta con soluzioni a concentrazione nota crescente di acido gallico (GA). L'assorbanza viene letta a 765 nm attraverso un lettore di micropiastre (Synergy™ HTX, BioTek) per ottenere i valori di concentrazione dei polifenoli contenuti in ogni campione espressi in mgGA equivalenti (GAE)/ml.

### **3.6 Determinazione dei flavonoidi totali (TFC)**

Il Contenuto dei Flavonoidi Totali (TFC) nei campioni di saliva viene determinato con il metodo modificato sviluppato da Smirnova LP et al.

(Smirnova e Pervykh 1998). Viene sfruttata la reazione dei flavonoidi con il cloruro di alluminio ( $AlCl_3$ ) che porta alla formazione di un complesso acido stabile che viene rilevato mediante l'uso di uno spettrofotometro. Per ottenere la curva standard di riferimento della concentrazione di flavonoidi si utilizza una soluzione di catechina (o epicatechina) a concentrazione crescente: infatti i risultati vengono espressi in mg CA equivalenti/ml.

L'assorbanza viene letta a 415 nm con un lettore di micropiastre (Synergy™ HTX, BioTek) per ottenere la concentrazione di flavonoidi totali presenti nei campioni di saliva espressa in mg di CA equivalente (CAE)/ml.

### **3.7 Determinazione della capacità antiossidante (ORAC)**

La capacità antiossidante dei campioni di saliva è stata determinata mediante il saggio Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC). Questo metodo misura la capacità di una molecola antiossidante di ritardare la perdita del segnale fluorescente ottenuto tramite il legame con la sonda fluoresceina, eliminando i radicali perossilici liberi generati dalla decomposizione termica dell'azotocomposto 2,2'azobis (2- metilpropionamidina) dicloruro (AAPH). Per creare la curva standard di riferimento si utilizza un analogo sintetico idrosolubile della vitamina E, il trolox. L'AAPH subisce una decomposizione termica quando la temperatura raggiunge i 37 °C, con conseguente formazione,

a velocità costante, di radicali perossilici idrosolubili. La capacità antiossidante della saliva viene calcolata dalla differenza dell'area sotto la curva (AUC) ottenuta da ogni campione di saliva e dalla lettura del bianco contenente solo il PBS. Si utilizza questo parametro in quanto è proporzionale alla quantità di antiossidanti presenti nel campione e i risultati vengono espressi sotto forma di concentrazione molare di antiossidanti convertiti in Trolox equivalenti (TE)/ $\mu\text{mol}$ . La lettura viene effettuata tramite una cinetica di 3 ore tramite l'utilizzo di uno spettrofotometro per lettura di micropiastre (Synergy™ HTX, BioTek) a  $\lambda_{\text{ex}}485/\lambda_{\text{em}}530$  per ottenere i risultati espressi come  $\mu\text{mol TE/ml}$ .

### **3.8 Determinazione dell'attività della superossido dismutasi (SOD)**

Le superossido dismutasi (SOD) sono metalloenzimi che catalizzano la dismutazione dell'anione superossido in ossigeno molecolare e perossido di idrogeno. Le SOD svolgono un ruolo chiave nel meccanismo di difesa antiossidante delle cellule e la quantità di SOD presente negli ambienti cellulari ed extracellulari è fondamentale per la prevenzione delle malattie legate allo stress ossidativo. Il metodo utilizzato per valutare l'attività della SOD nei campioni di saliva misura i radicali superossido generati dalla xantina ossidasi e dall'ipoxantina, utilizzando un sale di tetrazolio. L'assorbanza viene letta a

450 nm utilizzando un lettore di micropiastre (Synergy™ HTX, BioTek). I risultati sono espressi come U/ml.

### **3.9 Analisi statistica**

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il pacchetto statistico GraphPad Prism (V8.0.2). I valori basali (t0), t1 e t2 sono presentati utilizzando la media  $\pm$  la deviazione standard (SD) o la mediana e il range per le variabili continue. Per confrontare le proporzioni di risposte corrette, nel test del gusto, sono stati utilizzati i test del chi-quadrato o il test esatto di Fisher per le variabili categoriche; invece, per le variabili continue (peso corporeo, BMI, TPC, TFC, ORAC e attività SOD) sono stati utilizzati il test U di Mann-Whitney o il test Kruskal-Wallis. Le differenze con  $p < 0,05$  sono state considerate statisticamente significative.

## **4 RISULTATI SPERIMENTALI**

#### **4.1 Dati clinici dei partecipanti**

Inizialmente sono stati reclutati 56 pazienti adolescenti affetti da DNA; tuttavia, il numero totale dei pazienti effettivamente arruolati nello studio è sceso a 51, perché 3 hanno avuto una diagnosi di Binge Eating Disorder (BED) (DNA diverso da AN o BN), un soggetto era diabetico (DM1) e un altro soffriva di un disturbo psichiatrico. Dei 51 soggetti arruolati, 39 erano affetti da AN e 12 da BN. Per alcuni di loro si è resa necessaria una prescrizione psicofarmacologica che ha previsto prevalentemente l'utilizzo di queste 3 classi di farmaci a seconda dei casi:

- i. Benzodiazepine (BDZ): Xanax (Alprazolam), Tavor (Lorazepam);
- ii. Inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI): Zoloft (Sertralina), Xeredien (Fluoxetina), Fevarin (Fluvoxamina);
- iii. Antipsicotici atipici: Abilify (Aripiprazolo), Seroquel (Quetiapina), Risperidal (Risperidone).

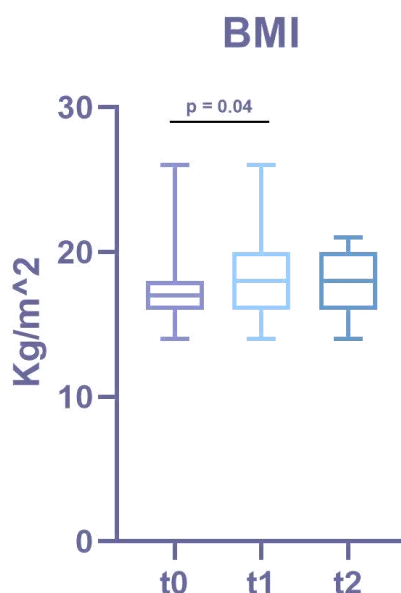
Nella Tabella 4 sono riportate le principali caratteristiche cliniche dei pazienti con AN e BN arruolati nello studio.

DNA (AN+BN)			
	t0	t1	t2
Età (anni)	15.1 ± 1.7	15.3 ± 1.7	15.3 ± 1.6
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	16.8 [13.6, 26.4]	17.6 [14.5, 25.9]	17.8 [14.5, 21.3]

Tabella 4 – Caratteristiche dei pazienti con DNA (AN + BN)

Monitorando il peso e l'altezza, e di conseguenza il BMI, da t0 a t2, si è riscontrato un aumento complessivo del peso corporeo in tutti i pazienti, il BMI è aumentato in modo statisticamente significativo ( $p < 0.04$ ) esclusivamente da t0 a t1 [16.8 (13.6, 26.4) a t0 e 17.6 (14.5, 25.9) a t1] (Figura 14).

Figura 14 - Variazione del BMI totale da t0 a t2 -





## 4.2 Determinazione della sensibilità gustativa

Per quanto riguarda la valutazione della sensibilità gustativa tramite il test del gusto, come si riporta nella Figura 15, la percentuale di risposte corrette è stata del 53% al t0, del 56% al t1 e del 60% al t2 ( $p < 0.0001$ ), considerando il numero complessivo dei riconoscimenti di tutti i diversi stimoli gustativi.

### Taste Strips Test Total Score

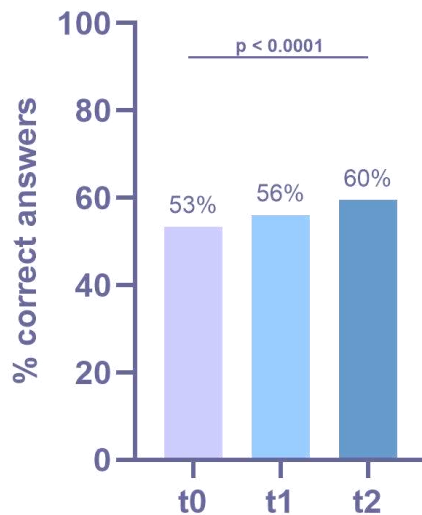


Figura 15 - Percentuale di risposte corrette nel test del gusto -

Analizzando la sensibilità per i singoli gusti è stato evidenziato un miglioramento complessivo significativo nella percezione di tutti gli stimoli, ma il punteggio maggiore è stato riscontrato per il riconoscimento dei gusti umami ( $p < 0.0001$ ) e acqua ( $p < 0.05$ ), come si può osservare dalla Figura 16.

## Taste Strips Test Score

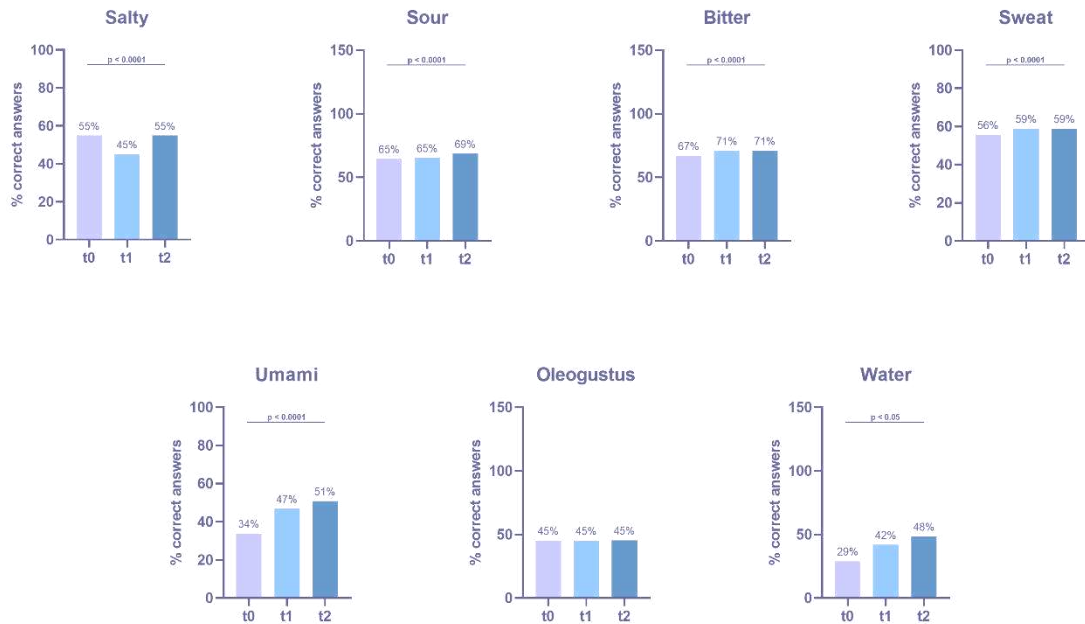


Figura 16 - Percentuali delle risposte corrette per i singoli stimoli gustativi –

### 4.3 Determinazione dei livelli di antiossidanti salivari

- TPC

La concentrazione media dei polifenoli salivari misurata è risultata pari a 0.188 [0.114, 0.250] mg GAE/ml al t0, 0.183 [0.110, 0.330] mg GAE/ml al t1 e 0.169 [0.113, 0.262] mg/GAE al t2. Dunque, è stata rilevata una lieve diminuzione della concentrazione dei polifenoli salivari da t0 a t2, ma non statisticamente significativa (Figura 17).

### Total Polyphenols Content

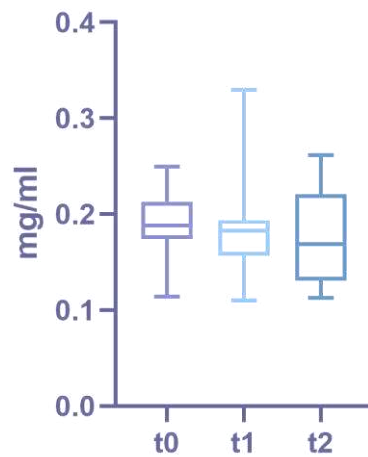


Figura 17 - Contenuto di polifenoli totali -

- TFC

La concentrazione media dei flavonoidi salivari misurata è stata pari a 32.1 [18.5, 74.8] mg CAE/ml al t0, 25.6 [12.1, 49.7] mg CAE/ml al t1 e 25.8 [12.6, 74.4] mg CAE/ml al t2. I valori sono diminuiti significativamente da t0 a t1 e da t0 a t2 ( $p < 0.003$  e  $p < 0.004$ , rispettivamente) (Figura 18).

### Total Flavonoids Content

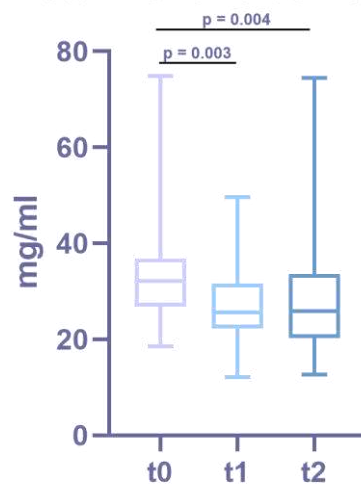


Figura 18 - Contenuto di flavonoidi totali -

- ORAC

La capacità antiossidante misurata è risultata pari a 1046 [468, 1860]  $\mu\text{mol TE/ml}$  al t0, 1240 [641, 2718]  $\mu\text{mol TE/ml}$  al t1 e 1281 [513, 2819]  $\mu\text{mol TE/ml}$  al t2.

Quindi c'è stato un aumento significativo dal t0 al t1 e dal t0 al t2 ( $p < 0.03$ ) (Figura 19).

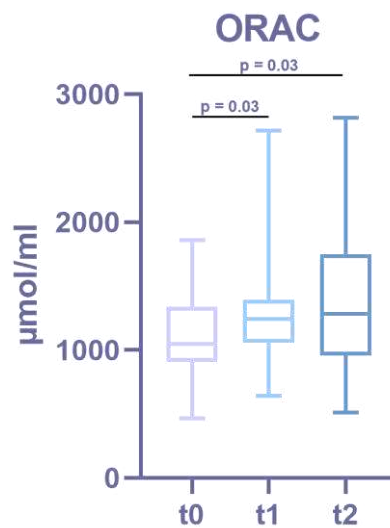


Figura 19 - Capacità antiossidante totale -

- SOD

L'attività della SOD misurata è risultata pari a 1.12 [0.351, 2.803] U/ml al t0, 0.72 [0.079, 2.604] U/ml e 0.60 [0.001, 2.102] U/ml al t2. I valori ottenuti mostrano una diminuzione significativa dei valori di concentrazione dell'attività della SOD sia tra t0 e t1 che tra t0 e t2.

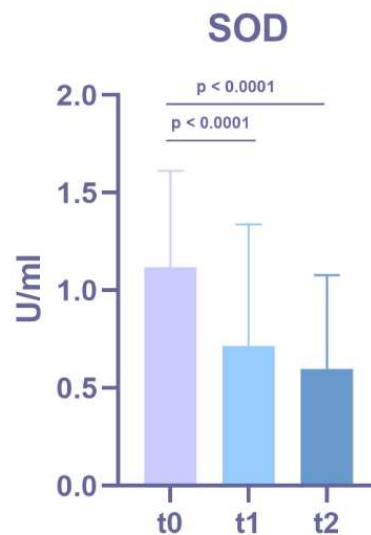


Figura 20 - Attività della SOD -

## **5 DISCUSSIONE**

In linea con i dati epidemiologici, la popolazione di partecipanti allo studio ha incluso adolescenti affetti da disturbi alimentari (DNA), in particolare AN e BN. Complessivamente, nella coorte di partecipanti afferenti alla SOSD Disturbi dell'Alimentazione in Età Evolutiva in Comorbilità con Patologia Psichiatrica, dell'Azienda Ospedaliero Universitaria delle Marche Ancona, si è distinta una prevalenza di adolescenti di sesso femminile rispetto al numero più esiguo di soggetti di sesso maschile.

La presente ricerca si è focalizzata sulla valutazione dell'efficacia di una terapia integrata, comprendente riabilitazione nutrizionale, psicoterapia e terapia psicofarmacologica, sul miglioramento di diverse variabili, quali il peso corporeo, la sensibilità gustativa e i livelli di antiossidanti salivari nell'arco di 6 mesi, a intervalli di 3 mesi, dal tempo basale (t0) al t1 e al t2.

Per quanto riguarda il monitoraggio dei parametri clinici, il peso corporeo medio di tutti i pazienti, più propriamente rappresentato con il BMI, è aumentato durante il periodo di tempo indicato in precedenza, pur rientrando ancora in un range di sottopeso al tempo t2. Va sottolineato che ci sono stati casi particolari in cui il BMI è sceso in modo grave, che hanno influenzato il punteggio totale nella valutazione basata sul valore medio tra tutti i pazienti. Dal punto di vista statistico il cambiamento significativo in aumento relativo al

BMI è stato osservato esclusivamente tra il tempo t0 e t1 ( $p = 0.04$ ), mentre nei tre mesi successivi fino al t2 è rimasto sì è mantenuto stabile.

In letteratura, la relazione tra il BMI e capacità di riconoscimento dei gusti non è ancora stata chiarita, infatti gli studi attualmente pubblicati sulla sensibilità gustativa e sulla percezione edonica del gusto nei pazienti con AN e/o BN sono limitati, anche se si presume che abbiano un ruolo importante nella patogenesi dei disturbi dell'alimentazione. Nei soggetti affetti da DNA i miglioramenti della sensibilità gustativa sono stati ottenuti attraverso una riabilitazione nutrizionale e con la riacquisizione di un peso corporeo adeguato, anche se la capacità di percezione dei sapori è ancora definita scarsa rispetto ai controlli sani (Aschenbrenner et al. 2008).

Dalla ricerca sperimentale eseguita, inizialmente sono emerse difficoltà nel discriminare gli stimoli gustativi in quasi il 50% dei casi; questo risultato sembra dipendere dallo stato di malnutrizione e dal rifiuto del cibo, che innesca un circolo vizioso tipico nei DNA, oltre a suggerire che questi soggetti possano sperimentare una minore sensibilità al gusto. Consultando le evidenze scientifiche disponibili, sembra che siano state rilevate diverse alterazioni delle funzioni gustative nei DNA, in particolare nelle aree dell'elaborazione della ricompensa e della percezione edonica (Leland et al. 2022).



Contemporaneamente, l'alterazione del gusto è stata associata alla carenza di minerali o ai comportamenti alimentari insoliti, come abbuffate e vomito.

Durante il periodo di monitoraggio in cui i partecipanti hanno aderito ad una terapia integrata, le percentuali di risposte corrette ottenute nel test del gusto sono aumentate fino al 56% nel t1 e fino al 60 % nel t2, raggiungendo la significatività statistica ( $p < 0.0001$ ) e dimostrando che questo leggero miglioramento della sensibilità gustativa potrebbe essere legato ad un graduale aumento del peso. In particolare, la sensibilità ai gusti umami e acqua è aumentata, rispettivamente dal 34% al 51% e dal 29% al 48%; contrariamente alla sensibilità per l'oleogusto che è rimasta invariata. Hartman-Petrycka et al., in un recente articolo del 2022, riportano che i pazienti affetti da AN sono caratterizzati da una soglia di riconoscimento del gusto umami più bassa rispetto ai controlli e da una migliore capacità di identificarlo correttamente (Hartman-Petrycka et al. 2022). Nel presente studio i risultati sono stati ricavati uniformemente per tutti i partecipanti affetti da DNA, sia AN che BN, per cui non si evidenzia un andamento differente per i casi di AN e tenendo in considerazione che i pazienti con BN potrebbero risentire di una maggiore compromissione dei recettori gustativi, a causa dell'acidità del vomito autoindotto (Rodin et al. 1990).

Uno stato vitaminico e di micronutrienti non ottimale, che rappresentano cofattori per il sistema enzimatico di scavenging dei composti ossidanti, è comune nei soggetti affetti da DNA, ma potrebbe essere normalizzato con un intervento dietetico. Dalla valutazione dei livelli di antiossidanti salivari, nel presente studio è stata evidenziata una riduzione significativa delle concentrazioni di polifenoli e flavonoidi nel periodo considerato e si prevede che una condizione di impoverimento dei fattori antiossidanti sia associata ad AN e BN. Tuttavia, la capacità antiossidante, rilevata grazie al saggio ORAC, è aumentata in modo significativo; il che non sembra essere correlato con i risultati dell'attività antiossidante della SOD, in quanto si evince una diminuzione significativa ( $p < 0.0001$ ) della sua concentrazione da un valore pari a  $1.12 \pm 0.50$  U/ml nel t0 ad un valore pari a  $0.60 \pm 0.48$  U/ml nel t2. Queste concentrazioni sono simili a quelle ottenute nello studio di Mascitti et al. dove vengono confrontati i valori di pazienti DNA con dei controlli sani e si riscontra un'attività della SOD aumentata nei DNA, (Mascitti et al. 2019) come quella inizialmente registrata al t0. Pertanto, la diminuzione dei valori dovrebbe indicare un andamento decrescente verso il recupero di una condizione fisiologica normale in cui l'organismo non necessita di aumentare le difese antiossidanti (attività della SOD=0.6 U/ml). La SOD può essere considerata il principale enzima antiossidante presente in concentrazione considerevole e

stabile nella saliva, per cui può rappresentare un utile biomarcatore del sistema antiossidante salivare (Alajbeg et al. 2017). In quanto marcatore dello stress ossidativo, la SOD è in grado di aumentare in risposta a varie reazioni infiammatorie (ad esempio, parodontite, tonsillite, ecc.) e nella saliva svolge un ruolo cruciale nella protezione del cavo orale dagli effetti negativi dei ROS esogeni o endogeni, rappresentando così la prima difesa antiossidante nei tessuti. In fin dei conti emergono livelli alterati dei diversi marcatori dello stato ossidativo nella saliva dei soggetti con DNA e si osserva un miglioramento, nel corso del periodo di terapia integrata, esclusivamente nei confronti dell'attività antiossidante della SOD.

Dalle conoscenze pregresse ci si aspetta che l'attività antiossidante della SOD diminuisca dopo il recupero del peso, ma soprattutto dopo la guarigione dal disturbo (Oliveras-López et al. 2015). Questo è riscontrabile nei risultati del presente studio, ma è in contrapposizione agli altri marcatori dello stress ossidativo misurati, suggerendo l'attivazione anomala di un meccanismo di difesa utilizzato dall'organismo, che probabilmente descrive un mancato recupero totale delle condizioni di salute. È infatti inverosimile che questi pazienti abbiano raggiunto un recupero completo dei livelli di antiossidanti salivari, del BMI e delle funzioni gustative nell'arco dei 6 mesi di aderenza alla terapia integrata, non essendo ancora definitivamente guariti dalla patologia.

Nella letteratura si sostiene che un approccio terapeutico comprendente la rialimentazione abbia riscontri positivi sull'aumento della concentrazione dell'enzima catalasi e della capacità antiossidante totale e sulla diminuzione dei livelli di SOD (Solmi et al. 2015), quindi i risultati del presente lavoro sembrano essere in linea con queste evidenze.

Ciò nonostante, bisogna considerare diversi limiti.

In primo luogo, il numero limitato di pazienti coinvolti, in quanto la rappresentazione potrebbe non essere statisticamente corretta. In secondo luogo, è necessario specificare che non sempre la guarigione da AN e/o BN segue un percorso lineare, ma bisogna prevedere alti e bassi, poiché la componente psichiatrica del disturbo è di grande importanza. La guarigione si ottiene pienamente con il benessere psicologico, non solo in termini di riacquisto del peso e/o di rientro del BMI nell'intervallo di peso sano; pertanto, è meglio definirla come un processo continuo, che richiede un tempo personale e variabile. Ulteriori studi dovrebbero essere condotti su periodi più lunghi, per seguire i cambiamenti e poter osservare effettivamente i risultati a lungo termine, altresì perché in letteratura esistono solo poche ricerche esplorano l'interconnessione tra sensibilità gustativa, BMI, livelli di antiossidanti (cioè polifenoli e flavonoidi) e trattamento dei DNA.

## **6 CONCLUSIONE**

L'importanza di una terapia integrata adeguata e tempestiva in condizioni come i DNA è stata dimostrata andando a valutare tutte le complicanze derivanti dallo sviluppo e dal mantenimento di tali situazioni patologiche estremamente pericolose. In particolare, è stato evidenziato che la componente psicopatologica ha una grande influenza sulla riuscita del trattamento ed è quindi, di primaria necessità prevedere una cura totale del paziente da parte di un'equipe multidisciplinare adeguatamente specializzata per questi stati di estrema fragilità e sensibilità. Bisogna instaurare una relazione autorevole tra paziente e terapeuta basata sulla comprensione, sull'ascolto, sulla cooperazione e sulla fiducia. Tutte le componenti della terapia integrata sono ugualmente cruciali, in quanto è necessaria la completa aderenza al trattamento per il successo dello stesso; infatti, i risultati dimostrano che la guarigione completa prevede un processo lungo e solo alcune delle variabili considerate mostrano miglioramenti visibili nel breve termine. Ad esempio, la terapia integrata ha mostrato effetti visibili sulla variazione della sensibilità gustativa e dell'aumento di peso, suggerendo una possibile correlazione, ma non su tutte le altre variabili (es. capacità antiossidante totale), che richiedono tempi più lunghi per rientrare nei valori fisiologici.

Gli studi di questo tipo sono fondamentali per sviluppare nuove strategie di prevenzione e di trattamento; tuttavia, risulta molto complesso definire chiaramente gli aspetti clinici relativi alla programmazione delle indagini sperimentali, proprio per la natura subdola dei disturbi che coinvolgono anche la componente psichiatrica, oltre che per le complicanze legate al susseguirsi di continui alti e bassi nel periodo di recupero.

In ogni caso una terapia integrata che comprende la riabilitazione nutrizionale, la psicoterapia e la terapia psicofarmacologica (se necessaria) rappresenta il metodo più funzionale per guarire definitivamente dai DNA ed è per questo che si rendono necessarie figure professionali sempre più specializzate in questo ambito in grado di collaborare tra loro.

## **7 BIBLIOGRAFIA**



AIDAP. 2017. «Linee guida NICE 2017 per i disturbi dell'alimentazione: la CBT-ED è raccomandata per tutti i disturbi dell'alimentazione e per tutte le età». *AIDAP* (blog). 23 maggio 2017. <https://www.aidap.org/2017/linee-guida-nice-2017-per-i-disturbi-dell'alimentazione-la-cbt-ed-e-raccomandata-per-tutti-i-disturbi-dell'alimentazione-e-tutte-le-eta/>.

Aksenova, Marina V., Michael Y. Aksenov, Charles F. Mactutus, e Rosemarie M. Booze. 2005. «Cell Culture Models of Oxidative Stress and Injury in the Central Nervous System». *Current Neurovascular Research* 2 (1): 73–89. <https://doi.org/10.2174/1567202052773463>.

Alajbeg, Iva Z., Ivana Lapić, Dunja Rogić, Lea Vuletić, Ana Andabak Rogulj, Davor Illeš, Dubravka Knezović Zlatarić, Tomislav Badel, Ema Vrbanović, e Ivan Alajbeg. 2017. «Within-Subject Reliability and between-Subject Variability of Oxidative Stress Markers in Saliva of Healthy Subjects: A Longitudinal Pilot Study». *Disease Markers* 2017: 2697464. <https://doi.org/10.1155/2017/2697464>.

American Psychiatric Association. 2013. «Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th ed.» <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>.

Amrein, Hubert, e Steve Bray. 2003. «Bitter-Sweet Solution in Taste Transduction». *Cell* 112 (3): 283–84. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00077-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00077-1).

Aschenbrenner, Katja, Ninette Scholze, Peter Joraschky, e Thomas Hummel. 2008. «Gustatory and Olfactory Sensitivity in Patients with Anorexia and Bulimia in the Course of Treatment». *Journal of Psychiatric Research* 43 (2): 129–37. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2008.03.003>.

Barakat, Sarah, Siân A. McLean, Emma Bryant, Anvi Le, Peta Marks, Phillip Aouad, Sarah Barakat, et al. 2023. «Risk factors for eating disorders: findings from a rapid review». *Journal of Eating Disorders* 11 (1): 8. <https://doi.org/10.1186/s40337-022-00717-4>.

Batista, Maja, Lana Žigić Antić, Orjena Žaja, Trpimir Jakovina, e Ivan Begovac. 2018. «PREDICTORS OF EATING DISORDER RISK IN ANOREXIA NERVOSA ADOLESCENTS». *Acta Clinica Croatica* 57 (3): 399–410. <https://doi.org/10.20471/acc.2018.57.03.01>.

Besnard, Philippe, Patricia Passilly-Degrace, e Naim A. Khan. 2016. «Taste of Fat: A Sixth Taste Modality?» *Physiological Reviews* 96 (1): 151–76. <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2015>.

Bray, Stefania C., e Peter J. Carek. 2020. «How Bitter Taste Influences Nutrition and Health in Primary Care». *Journal of Family Medicine and Primary Care* 9 (7): 3205–8. [https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe\\_305\\_20](https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe_305_20).

Breslin, Paul A.S. 2013. «An Evolutionary Perspective on Food Review and Human Taste». *Current biology : CB* 23 (9): R409–18. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.010>.

Breton, Édith, Robert-Paul Juster, e Linda Booij. 2023. «Gender and sex in eating disorders: A narrative review of the current state of knowledge, research gaps, and recommendations». *Brain and Behavior* 13 (4): e2871. <https://doi.org/10.1002/brb3.2871>.

Čagalová, Alžbeta, Lubica Tichá, Alexandra Gaál Kovalčíková, Katarína Šebeková, e Ludmila Podracká. 2022. «Bone Mineral Density and Oxidative Stress in Adolescent Girls with Anorexia Nervosa». *European Journal of Pediatrics* 181 (1): 311–21. <https://doi.org/10.1007/s00431-021-04199-5>.

Chandrashekar, Jayaram, Mark A. Hoon, Nicholas J. P. Ryba, e Charles S. Zuker. 2006. «The Receptors and Cells for Mammalian Taste». *Nature* 444 (7117): 288–94. <https://doi.org/10.1038/nature05401>.

Chandrashekar, Jayaram, Christina Kuhn, Yuki Oka, David A. Yarmolinsky, Edith Hummler, Nicholas J. P. Ryba, e Charles S. Zuker. 2010. «The Cells and Peripheral Representation of Sodium Taste in Mice». *Nature* 464 (7286): 297–301. <https://doi.org/10.1038/nature08783>.

Chaudhari, Nirupa, e Stephen D. Roper. 2010. «The cell biology of taste». *The Journal of Cell Biology* 190 (3): 285–96. <https://doi.org/10.1083/jcb.201003144>.

Culbert, Kristen M., Sarah E. Racine, e Kelly L. Klump. 2015. «Research Review: What We Have Learned about the Causes of Eating Disorders – a Synthesis of Sociocultural, Psychological, and Biological Research». *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 56 (11): 1141–64. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12441>.

Culbert, Kristen M., Cheryl L. Sisk, e Kelly L. Klump. 2021. «A Narrative Review of Sex Differences in Eating Disorders: Is there a Biological Basis?» *Clinical therapeutics* 43 (1): 95–111. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.12.003>.

Curtis, Kathleen S., Jennifer M. Stratford, e Robert J. Contreras. 2005. «Estrogen increases the taste threshold for sucrose in rats». *Physiology & Behavior*, Florida State University Special Issue, 86 (3): 281–86. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.002>.

DeVere, Ronald. 2017. «Disorders of Taste and Smell». *Continuum (Minneapolis, Minn.)* 23 (2, Selected Topics in Outpatient Neurology): 421–46. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000463>.

Dominguez-López, Inés, Maria Pérez, e Rosa M. Lamuela-Raventós. 2023. «Total (Poly)Phenol Analysis by the Folin-Ciocalteu Assay as an Anti-Inflammatory Biomarker in Biological Samples». *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, giugno, 1–7. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2220031>.

Eeden, Annelies E. van, Daphne van Hoeken, e Hans W. Hoek. 2021. «Incidence, prevalence and mortality of anorexia nervosa and bulimia nervosa». *Current Opinion in Psychiatry* 34 (6): 515–24. <https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000739>.

Eric R. Kandel, James H. Schwartz, Thomas M. Jessell, Stevan A. Siegelbaum, A.J. Hudspeth; 2005. «Principi di neuroscienze».

Fathi, Mojdeh, Ahmad Zare Javid, e Anahita Mansoori. 2023. «Effects of Weight Change on Taste Function; a Systematic Review». *Nutrition Journal* 22 (1): 22. <https://doi.org/10.1186/s12937-023-00850-z>.

Feng, Bing, Jerney Harms, Emily Chen, Peiyu Gao, Pingwen Xu, e Yanlin He. 2023. «Current Discoveries and Future Implications of Eating Disorders». *International Journal of Environmental Research and Public Health* 20 (14): 6325. <https://doi.org/10.3390/ijerph20146325>.

Fernández-Aranda, Fernando, Roser Granero, e Susana Jiménez-Murcia. 2023. «Editorial: Neurological, Psychological and Endocrine Markers of Eating Disorders and Obesity». *Frontiers in Nutrition* 10: 1289370. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1289370>.

Fichter, Manfred M., Silke Naab, Ulrich Voderholzer, e Norbert Quadflieg. 2021. «Mortality in Males as Compared to Females Treated for an Eating Disorder: A Large Prospective Controlled Study». *Eating and Weight Disorders: EWD* 26 (5): 1627–37. <https://doi.org/10.1007/s40519-020-00960-1>.

Filomeni, Giuseppe, e Maria R. Ciriolo. 2006. «Redox Control of Apoptosis: An Update». *Antioxidants & Redox Signaling* 8 (11–12): 2187–92. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.2187>.

Gibson, Dennis, e Philip S. Mehler. 2019. «Anorexia Nervosa and the Immune System—A Narrative Review». *Journal of Clinical Medicine* 8 (11): 1915. <https://doi.org/10.3390/jcm8111915>.

Gilbertson, Timothy A, Sami Damak, e Robert F Margolskee. 2000. «The molecular physiology of taste transduction». *Current Opinion in Neurobiology* 10 (4): 519–27. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(00\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00118-5).

Gorrell, Sasha, e Stuart B. Murray. 2019. «Eating Disorders in Males». *Child and adolescent psychiatric clinics of North America* 28 (4): 641–51. <https://doi.org/10.1016/j.chc.2019.05.012>.

Gravina, Stephen A., Gregory L. Yep, e Mehmood Khan. 2013. «Human Biology of Taste». *Annals of Saudi Medicine* 33 (3): 217–22. <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2013.217>.

Hartman-Petrycka, Magdalena, Ewa Klimacka-Nawrot, Katarzyna Ziora, Wanda Suchecka, Piotr Gorczyca, Katarzyna Rojewska, e Barbara Błońska-Fajfrowska. 2022. «Sweet, Salty, and Umami Taste Sensitivity and the Hedonic Perception of Taste Sensations in Adolescent Females with Anorexia Nervosa». *Nutrients* 14 (5): 1042. <https://doi.org/10.3390/nu14051042>.

Hernández Ruiz de Eguilaz, María, Blanca Martínez de Morentin Aldabe, Eva Almiron-Roig, Salomé Pérez-Diez, Rodrigo San Cristóbal Blanco, Santiago Navas-Carretero, e J. Alfredo Martínez. 2018. «Influencia multisensorial sobre la conducta alimentaria: ingesta hedónica». *Endocrinología, Diabetes y Nutrición* 65 (2): 114–25. <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2017.09.008>.

Herpertz-Dahlmann, Beate. 2015. «Adolescent Eating Disorders: Update on Definitions, Symptomatology, Epidemiology, and Comorbidity». *Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America* 24 (1): 177–96. <https://doi.org/10.1016/j.chc.2014.08.003>.

Holden, R. J., e I. S. Pakula. 1996. «The Role of Tumor Necrosis Factor-Alpha in the Pathogenesis of Anorexia and Bulimia Nervosa, Cancer Cachexia and Obesity». *Medical Hypotheses* 47 (6): 423–38. [https://doi.org/10.1016/s0306-9877\(96\)90153-x](https://doi.org/10.1016/s0306-9877(96)90153-x).

Huang, Angela L., Xiaoke Chen, Mark A. Hoon, Jayaram Chandrashekar, Wei Guo, Dimitri Tränkner, Nicholas J. P. Ryba, e Charles S. Zuker. 2006. «The Cells and Logic for Mammalian Sour Taste Detection». *Nature* 442 (7105): 934–38. <https://doi.org/10.1038/nature05084>.

Kant, Ravi. 2005. «Sweet proteins – Potential replacement for artificial low calorie sweeteners». *Nutrition Journal* 4 (febbraio): 5. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-4-5>.

Katarzyna Stańska , Antonii Krzeski. 2016. «The umami taste: from discovery to clinical use | Polish Journal of Otolary». 2016.  
<https://otolaryngologypl.com/resources/html/article/details?id=119656&language=en>.

Kershaw, Jonathan C., e Richard D. Mattes. 2018. «Nutrition and taste and smell dysfunction». *World Journal of Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery* 4 (1): 3–10.  
<https://doi.org/10.1016/j.wjorl.2018.02.006>.

Kinnamon, Sue C. 2013. «Neurosensory Transmission without a Synapse: New Perspectives on Taste Signaling». *BMC Biology* 11 (aprile): 42. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-11-42>.

Klump, Kelly L., Jessica L. Suisman, S. Alexandra Burt, Matt McGue, e William G. Iacono. 2009. «Genetic and Environmental Influences on Disordered Eating: An Adoption Study». *Journal of abnormal psychology* 118 (4): 797–805. <https://doi.org/10.1037/a0017204>.

Kurihara, Kenzo. 2009. «Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami)12». *The American Journal of Clinical Nutrition* 90 (3): 719S-722S.  
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462D>.

Laugerette, Fabienne, Patricia Passilly-Degrace, Bruno Patris, Isabelle Niot, Maria Febbraio, Jean-Pierre Montmayeur, e Philippe Besnard. 2005. «CD36 Involvement in Orosensory Detection of

Dietary Lipids, Spontaneous Fat Preference, and Digestive Secretions». *The Journal of Clinical Investigation* 115 (11): 3177–84. <https://doi.org/10.1172/JCI25299>.

Leland, Evelyn M., Deborah X. Xie, Vidyulata Kamath, Stella M. Seal, Sandra Y. Lin, e Nicholas R. Rowan. 2022. «Psychophysical Chemosensory Dysfunction in Eating Disorders: A Qualitative Systematic Review». *Eating and Weight Disorders: EWD* 27 (2): 429–47. <https://doi.org/10.1007/s40519-021-01189-2>.

Li, Feng. 2013. «Taste perception: from the tongue to the testis». *Molecular Human Reproduction* 19 (6): 349–60. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat009>.

Liman, Emily R., e Sue C Kinnamon. 2021. «Sour taste: receptors, cells and circuits». *Current opinion in physiology* 20 (aprile): 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2020.12.006>.

Liman, Emily R., Yali V. Zhang, e Craig Montell. 2014. «Peripheral Coding of Taste». *Neuron* 81 (5): 984–1000. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.02.022>.

Magee, Meghan K., Margaret T. Jones, Jennifer B. Fields, Julie Kresta, Chinguun Khurelbaatar, Christopher Dodge, Brandon Merfeld, Abby Ambrosius, Makenna Carpenter, e Andrew R. Jagim. 2023. «Body Composition, Energy Availability, Risk of Eating Disorder, and Sport Nutrition Knowledge in Young Athletes». *Nutrients* 15 (6): 1502. <https://doi.org/10.3390/nu15061502>.

Mascitti, Marco, Erminia Coccia, Arianna Vignini, Luca Aquilanti, Andrea Santarelli, Eleonora Salvolini, Jacopo Sabbatinelli, Laura Mazzanti, Maurizio Procaccini, e Giorgio Rappelli. 2019. «Anorexia, Oral Health and Antioxidant Salivary System: A Clinical Study on Adult Female Subjects». *Dentistry Journal* 7 (2): 60. <https://doi.org/10.3390/dj7020060>.



Mattes, Richard D. 2011. «Accumulating evidence supports a taste component for free fatty acids in humans». *Physiology & Behavior*, Proceedings from the 2010 meeting of the Society for the Study of Ingestive Behavior (SSIB), 104 (4): 624–31.  
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.05.002>.

Ministero della Salute. 2023. «Disturbi dell'alimentazione». marzo 2023.  
<https://www.salute.gov.it/portale/donna/dettaglioContenutiDonna.jsp?lingua=italiano&id=4470&area=indennizzo&menu=vuoto>.

Monteleone, Alessio Maria, Palmiero Monteleone, Fabrizio Esposito, Anna Prinster, Umberto Volpe, Elena Cantone, Francesca Pellegrino, et al. 2017. «Altered Processing of Rewarding and Aversive Basic Taste Stimuli in Symptomatic Women with Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa: An fMRI Study». *Journal of Psychiatric Research* 90 (luglio): 94–101.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2017.02.013>.

Monteleone, Alessio Maria, Francesca Pellegrino, Giovanni Croatto, Marco Carfagno, Anja Hilbert, Janet Treasure, Tracey Wade, et al. 2022. «Treatment of Eating Disorders: a systematic meta-review of meta-analyses and network meta-analyses». *Neuroscience and biobehavioral reviews* 142 (novembre): 104857. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104857>.

Moyano, Dolores, Cristina Sierra, Nuria Brandi, Rafael Artuch, Aurea Mira, Santiago García-Tornel, e M. Antònia Vilaseca. 1999. «Antioxidant Status in Anorexia Nervosa». *International Journal of Eating Disorders* 25 (1): 99–103. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-108X\(199901\)25:1<99::AID-EAT12>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-108X(199901)25:1<99::AID-EAT12>3.0.CO;2-N).

NICE. 2017. «Eating Disorders: Recognition and Treatment». *Eating Disorders*.

Oliveras-López, María-Jesús, Inmaculada Ruiz-Prieto, Patricia Bolaños-Ríos, Francisco De la Cerda, Franz Martín, e Ignacio Jáuregui-Lobera. 2015. «Antioxidant Activity and Nutritional Status in Anorexia Nervosa: Effects of Weight Recovery». *Nutrients* 7 (4): 2193–2208.  
<https://doi.org/10.3390/nu7042193>.

Quaderni del Ministero della Salute n.29. 2017. «Linee di indirizzo nazionali per la riabilitazione nutrizionale nei disturbi dell'alimentazione» Quaderni del Ministero della Salute n.29.  
[https://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2636\\_allegato.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2636_allegato.pdf).

Rač, Monika Ewa, Krzysztof Safranow, e Wojciech Poncyłjusz. 2007. «Molecular Basis of Human CD36 Gene Mutations». *Molecular Medicine (Cambridge, Mass.)* 13 (5–6): 288–96.  
<https://doi.org/10.2119/2006-00088.Raæ>.

Rapporti ISTISAN. 2012. «13/6 - Conferenza di consenso sui Disturbi del Comportamento Alimentare (DCA) negli adolescenti e nei giovani adulti.» ISS. 2012. [https://www.iss.it/rapporti-istisan/-/asset\\_publisher/Ga8fOpve0fNN/content/13-6-conferenza-di-consenso-sui-disturbi-del-comportamento-alimentare-dca-negli-adolescenti-e-nei-giovani-adulti.a-cura-di-giovanni-de-virgilio-daniela-coclite-antonello-napoletano-donatella-barbina-laura-dalla-ragione-giovanni-spera-e-teresa-di-fiandra.-](https://www.iss.it/rapporti-istisan/-/asset_publisher/Ga8fOpve0fNN/content/13-6-conferenza-di-consenso-sui-disturbi-del-comportamento-alimentare-dca-negli-adolescenti-e-nei-giovani-adulti.a-cura-di-giovanni-de-virgilio-daniela-coclite-antonello-napoletano-donatella-barbina-laura-dalla-ragione-giovanni-spera-e-teresa-di-fiandra.-)

Resmark, Gaby, Stephan Herpertz, Beate Herpertz-Dahlmann, e Almut Zeeck. 2019. «Treatment of Anorexia Nervosa—New Evidence-Based Guidelines». *Journal of Clinical Medicine* 8 (2): 153.  
<https://doi.org/10.3390/jcm8020153>.

Riccardo Dalle Grave. 2020. «Quali sono le cause dei disturbi dell'alimentazione?» *AIDAP* (blog). marzo 2020. <https://www.aidap.org/2020/quali-sono-le-cause-dei-disturbi-dellalimentazione/>.

Rodin, J., L. Bartoshuk, C. Peterson, e D. Schank. 1990. «Bulimia and Taste: Possible Interactions». *Journal of Abnormal Psychology* 99 (1): 32–39. <https://doi.org/10.1037//0021-843x.99.1.32>.

Rolls, Edmund T. 2005. «Taste, olfactory, and food texture processing in the brain, and the control of food intake». *Physiology & Behavior*, Proceedings from the 2004 Meeting of the Society for the Study of Ingestive Behavior, 85 (1): 45–56. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.04.012>.

Rolls, Edmund T. 2006. «Brain mechanisms underlying flavour and appetite». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361 (1471): 1123–36. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1852>.

Roper, Stephen D., e Nirupa Chaudhari. 2017. «Taste buds: cells, signals and synapses». *Nature reviews. Neuroscience* 18 (8): 485–97. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.68>.

Ruiz-Guerrero, Francisco, Andrés Gomez del Barrio, Alejandro de la Torre-Luque, Wala Ayad-Ahmed, Luis Beato-Fernandez, Filomena Polo Montes, Magdalena Leon Velasco, et al. 2023. «Oxidative stress and inflammatory pathways in female eating disorders and borderline personality disorders with emotional dysregulation as linking factors with impulsivity and trauma». *Psychoneuroendocrinology* 158 (dicembre): 106383. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2023.106383>.

Running, Cordelia A., Bruce A. Craig, e Richard D. Mattes. 2015. «Oleogustus: The Unique Taste of Fat». *Chemical Senses* 40 (7): 507–16. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjv036>.

Sideli, Lucia, Gianluca Lo Coco, Rubinia Celeste Bonfanti, Bianca Borsarini, Lucia Fortunato, Cristina Sechi, e Nadia Micali. 2021. «Effects of COVID-19 lockdown on eating disorders and obesity: A systematic review and meta-analysis». *European Eating Disorders Review* 29 (6): 826–41. <https://doi.org/10.1002/erv.2861>.

Smirnova, L. P., e L. N. Pervykh. 1998. «Quantitative Determination of the Total Content of Flavonoids in the Flowers of immortelleHelichrysum Arenarium». *Pharmaceutical Chemistry Journal* 32 (6): 321–24. <https://doi.org/10.1007/BF02580519>.

Solmi, Marco, Joaquim Radua, Miriam Olivola, Enrico Croce, Livia Soardo, Gonzalo Salazar de Pablo, Jae Il Shin, et al. 2022. «Age at onset of mental disorders worldwide: large-scale meta-analysis of 192 epidemiological studies». *Molecular Psychiatry* 27 (1): 281–95. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01161-7>.

Solmi, Marco, Joaquim Radua, Brendon Stubbs, Valdo Ricca, Davide Moretti, Daniele Busatta, Andre F. Carvalho, et al. 2020. «Risk factors for eating disorders: an umbrella review of published meta-analyses». *Brazilian Journal of Psychiatry* 43 (3): 314–23. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2020-1099>.

Solmi, Marco, Nicola Veronese, Enzo Manzato, Giuseppe Sergi, Angela Favaro, Paolo Santonastaso, e Christoph U. Correll. 2015 a/b. «Oxidative Stress and Antioxidant Levels in Patients with Anorexia Nervosa: A Systematic Review and Exploratory Meta-Analysis». *International Journal of Eating Disorders* 48 (7): 826–41. <https://doi.org/10.1002/eat.22443>.

Stice, Eric, Jeff M. Gau, Paul Rohde, e Heather Shaw. 2017. «Risk Factors that Predict Future Onset of Each DSM-5 Eating Disorder: Predictive Specificity in High-Risk Adolescent Females». *Journal of abnormal psychology* 126 (1): 38–51. <https://doi.org/10.1037/abn0000219>.

Swanson, Sonja A., Scott J. Crow, Daniel Le Grange, Joel Swendsen, e Kathleen R. Merikangas. 2011. «Prevalence and Correlates of Eating Disorders in Adolescents». *Archives of general psychiatry* 68 (7): 714–23. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.22>.

Taruno, Akiyuki, Kengo Nomura, Tsukasa Kusakizako, Zhongming Ma, Osamu Nureki, e J. Kevin Foskett. 2021. «Taste transduction and channel synapses in taste buds». *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 473 (1): 3–13. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02464-4>.

Toczewska, Joanna, Mateusz Maciejczyk, Anna Zalewska, e Tomasz Konopka. 2022. «Gingival Fluid and Saliva Concentrations of Selected Non-Enzymatic Antioxidants in Periodontitis». *Dental and Medical Problems* 59 (4): 555–64. <https://doi.org/10.17219/dmp/148051>.

Vignini Arianna, Francesca Borroni, Jacopo Sabbatinelli, Sofia Pugnali, Sonila Alia, Marina Taus, Luigi Ferrante, Laura Mazzanti, e Mara Fabri. 2019. «General Decrease of Taste Sensitivity Is Related to Increase of BMI: A Simple Method to Monitor Eating Behavior». *Disease Markers* 2019: 2978026. <https://doi.org/10.1155/2019/2978026>.

Watson, Kristina J., Insook Kim, Arian F. Baquero, Catherine A. Burks, Lidong Liu, e Timothy A. Gilbertson. 2007. «Expression of Aquaporin Water Channels in Rat Taste Buds». *Chemical Senses* 32 (5): 411–21. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjm006>.

Yin, Wenting, Louise Hewson, Robert Linforth, Moira Taylor, e Ian D. Fisk. 2017. «Effects of aroma and taste, independently or in combination, on appetite sensation and subsequent food intake». *Appetite* 114 (luglio): 265–74. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.04.005>.

Zocchi, Dhruv, Gunther Wennemuth, e Yuki Oka. 2017. «The Cellular Mechanism for Water Detection in the Mammalian Taste System». *Nature Neuroscience* 20 (7): 927–33. <https://doi.org/10.1038/nn.4575>.

## **8 RINGRAZIAMENTI**

Giunta alla fine di questo elaborato e del mio percorso di studi, desidero ringraziare tutte le persone che hanno contribuito al raggiungimento di questo traguardo, a cominciare dalla mia relatrice, la Prof.ssa Arianna Vignini per il supporto, per la pazienza e per avermi dato l'opportunità di approfondire un tema che mi sta molto a cuore, coinvolgendomi nelle diverse attività di ricerca e divulgazione. Un grande ringraziamento va anche alla mia correlatrice, la Dott.ssa Alice Di Paolo per aver collaborato attivamente a questo progetto sperimentale e per avermi seguita ed aiutata durante tutto il periodo di tesi. Un ulteriore riconoscimento per la disponibilità e la collaborazione spetta alla dott.ssa Valentina Membrino, al dott. Severini, a tutto il personale della SOSD Disturbi dell'Alimentazione in Età Evolutiva in Comorbilità con Patologia Psichiatrica dell'Azienda Ospedaliero Universitaria delle Marche Ancona (presidio G. Salesi) e ai pazienti che hanno partecipato allo studio. Ringrazio anche la Dott.ssa Lucia Luccarini e il centro HETA che hanno accolto il mio interesse verso questa tematica, permettendomi di avvicinarmi professionalmente alla prevenzione e al trattamento dei disturbi alimentari.

Poi vorrei ringraziare la mia famiglia, che è il mio posto sicuro, per il sostegno, la fiducia e per ricordarmi ogni giorno di credere in me stessa.

Infine, vorrei ringraziare tutte le persone che occupano un posto speciale nel mio cuore, perché fanno parte di me: ogni mia conquista è anche un po' vostra.





