

**SECONDO CONGRESSO NAZIONALE
DELLA SOCIETA' ITALIANA DI
NUTRACEUTICA - SINUT**

RIASSUNTI

PROGRAMMA GENERALE DEL CONGRESSO

GIOVEDÌ 24 FEBBRAIO 2011		
9:00-9:15	INAUGURAZIONE	
9:15-10:45	COME VALUTARE I NUTRACEUTICI IN CLINICA IN VISTA DELLA RICHIESTA DI APPROVAZIONE DELL'HEALTH CLAIM? – PARTE 1 Moderatori: Prof. Carlo V. Agostoni, Università degli Studi di Milano; Dr. Bruno Scarpa, Ministero della Salute; Prof. Bruno Trimarco, Università Federico II, Napoli	pag.
9:15-9:30	Organizzazione di una sperimentazione clinica efficiente ed economicamente sostenibile Prof. Cesare R. Sirtori, Università degli Studi di Milano	8
9:30-9:45	La valutazione del Comitato Etico dei protocolli di studio con nutraceutici Dr. Eleonora Sfreddo Gallotta, Ospedale Niguarda, Milano	9
9:45-10:00	Valutazione clinica di nutraceutici per l'ipertensione arteriosa Prof. Bruno Trimarco, Università Federico II, Napoli	10
10:00-10:15	Valutazione clinica di un nutraceutico ad azione ipocolesterolemizzante Dr. Arrigo Cicero, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	11
10:15-10:30	Valutazione clinica dei nutraceutici per il diabete e la sindrome metabolica e possibili implicazioni sul rischio cardiovascolare Prof. Marco Bertolotti, Università degli Studi di Modena e Reggio	12
10:30-10:45	Come si possono valutare gli antiossidanti in clinica? Prof. Giovanni Scapagnini, Università degli Studi del Molise	13
10:45-11:15	COFFEE BREAK	
11:15-12:15	COME VALUTARE I NUTRACEUTICI IN CLINICA IN VISTA DELLA RICHIESTA DI APPROVAZIONE DELL'HEALTH CLAIM? – PARTE 2 Moderatori: Prof. Carlo V. Agostoni, Università di Milano; Dr. Bruno Scarpa, Ministero della Salute; Prof. Giovanni Scapagnini, Università degli Studi del Molise	
11:15-11:30	La valutazione dei batteri probiotici: quale caratterizzazione e quali marcatori di attività? Prof. Lucio Capurso, Ospedale San Filippo Neri, Roma	--
11:30-11:45	Come valutare i nutraceutici per l'artrosi? Prof. Carlomaurizio Montecucco, Università degli Studi di Pavia	14
11:45-12:00	Quali sono gli approcci più efficaci allo studio dell'efficacia dei nutraceutici psicoattivi? Prof. Maurizio Fava, Massachusetts General Hospital, Boston	15
12:00-12:15	Valutazione clinica dell'attività dei probiotici nelle patologie immunomediate Prof. Annamaria Castellazzi, Università degli Studi di Pavia IRCCS e Fondazione Policlinico San Matteo	16
12:30-14:00	COLAZIONE – SESSIONE POSTER – CONFERENZA STAMPA	
14:00-15:00	COME VALUTARE I NUTRACEUTICI IN CLINICA IN VISTA DELLA RICHIESTA DI APPROVAZIONE DELL'HEALTH CLAIM? – PARTE 3 Moderatori: Dr. Bruno Scarpa, Ministero della Salute; Dr. Vincenzo Maglione, Rottapharm	
14:00-14:15	Il ruolo della CRO nella pianificazione e realizzazione di uno studio su un nutraceutico Prof. Stefano Marini, Dimensione Ricerca S.r.l, Roma	--
14:15-14:25	Regolamento CE 1924/2006 sui claims: il punto di vista dell'industria su difficoltà e prospettive future Dr. Paolo Casoni, Presidente AIIPA	17
14:25-14:35	Gli health claims e l'attuazione del Reg. 1924/2006: le preoccupazioni dell'industria. L'importanza delle evidenze scientifiche Dr. Germano Scarpa, Presidente FederSalus	18
14:35-15:00	Discussione	

15:00-15:20	CERIMONIA DI CONFERIMENTO DEL PREMIO DELLA FONDAZIONE ALPRO	
15:20-16:30	SISTEMA NERVOSO Moderatori: Prof. Giorgio Racagni, Università degli Studi di Milano; Dr. Aleardo Koverech, Sigma-Tau SpA	
15:20-16:00	Effetti antidepressivi dei nutraceutici psicoattivi Prof. Maurizio Fava, Massachusetts General Hospital, Boston	20
16:00-16:15	La L-acetilcarnitina (LAC) nell'encefalopatia epatica (EE) <u>Mariano Malaguarnera</u> , Marco Vacante, Massimo Motta, Università degli Studi di Catania	21
16:15-16:30	Efficacia di un nutraceutico a base di fosfatidilinositolo, acidi grassi n-3 e melatonina in pazienti affetti da mild cognitive impairment: studio pilota Mariangela Rondanelli, <u>Marco Mozzoni</u> , Annalisa Opizzi, Milena Faliva, Neldo Antoniello, Rita Savarè, Renata Cerutti, Enzo Grossi, Roberta Cazzola, Benvenuto Cestaro, Azienda di Servizi alla Persona di Pavia, Università degli Studi di Pavia	22
16:30-16:55	COFFEE BREAK	
16:55-18:35	COMUNICAZIONI Moderatori: Prof. Benvenuto Cestaro, Università degli Studi di Milano; Dr. Paolo Morazzoni, INDENA SpA	
16:55-17:15	Prodotti botanici standardizzati innovativi dalla preclinica all'utilizzo umano <u>Paolo Morazzoni</u> , Antonella Riva, INDENA SpA	23
17:15-17:30	Effetti della genisteina aglicone in donne con sindrome metabolica: trial clinico <u>Francesco Squadrito</u> , Alessandra Bitto, Domenico Altavilla, Herbert Marini, Università degli Studi di Messina	24
17:30-17:45	Ruolo delle antocianine del mais nel contenimento delle micotossine e nella prevenzione delle malattie croniche <u>Katia Petroni</u> , Roberto Pilu, Elena Cassani, Valentina Calvenzani, Eleonora Cominelli, Marie-Claire Toufektsian, Michel de Lorgeril, Chiara Tonelli, Università degli Studi di Milano	25
17:45-18:00	Nuova terapia nutrizionale per la cura di leucodistrofie e patologie neurodegenerative <u>Anna Petroni</u> , Marco Cappa, Carla Bizzarri, Sebastiano Banni, Università degli Studi di Milano	26
18:00-18:10	Effetti comparativi di due formulazioni per il trattamento dell'ipertrofia prostatica benigna a base di <i>Serenoa repens</i> <u>Francesco Squadrito</u> , <u>Alessandra Bitto</u> , Giuseppe Morgia, Letteria Minutoli, Domenica Altavilla, Università degli Studi di Messina	27
18:10-18:20	Effetti dei lactotripeptidi assunti come alimento funzionale su monitoraggio pressorio ambulatoriale nelle 24 h, incremento della pressione sanguigna stress-indotta, pulse wave velocity e parametri correlati all'output cardiaco: una sperimentazione clinica, a doppio cieco, randomizzata Arrigo F.G. Cicero, Martina Rosticci, <u>Beatrice Gerocarni</u> , Claudio Borghi, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	28
18:20-18:35	Effetto antiradicalico di estratti fenolici da <i>Thebroma cacao</i> L., clovamide ed epicatechina su cardiomioblasti H9c2 di ratto esposti a stress ossidativo <u>Marco Arlorio</u> , Andrea Zamperone, Jean Daniel Coisson, Fabiano Travaglia, Monica Locatelli, Stefano Pietronave, Aldo Martelli, Maria Prat, Università del Piemonte Orientale	29

VENERDI' 25 FEBBRAIO		
9:00-11:00	PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE E LONGEVITA' (1) Moderatori: Prof. Ettore Novellino, Università di Napoli Federico II; Dr. Paolo Vintani, Associazione Chimica Farmaceutica Lombarda fra Titolari di Farmacia	
9:00-9:30	Proteine di soia e prevenzione cardiovascolare Prof. Cesare Sirtori, Università degli Studi di Milano	30
9:30-9:50	Aminoacidi ramificati: salute e longevità Prof. Enzo Nisoli, Università degli Studi di Milano	31
9:50-10:10	Acetilcarnitina e ipertensione Prof. Piero Ruggenenti, Ospedali Riuniti di Bergamo	32
10:10-10:30	Nella prevenzione secondaria, utilizzo di un integratore alimentare per raggiungere i valori target terapeutici di colesterolo Andrea Macchi, Irene Franzoni, Fabio Buzzetti, Isabella Rosa, Riccardo Gorla, Giovanni V. Gaudio, Alberto Margonato, Ospedale San Raffaele, Milano	33
10:30-11:00	Obesità, omega-3 e fluidità di membrana Benvenuto Cestaro, Roberta Cazzola, Università degli Studi di Milano	34
11:00-11:30	COFFEE BREAK	
11:30-13:00	PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE E LONGEVITA' (2) Moderatori: Prof.ssa Marina Carini, Università degli Studi di Milano; Dr. Francesco Mauri, Azienda Ospedaliera Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano	
11:30-12:00	Assunzione di acidi grassi omega-3. Qual'è il veicolo migliore: capsule, pesce o latte? Prof. Claudio Galli, Università degli Studi di Milano	35
12:00-12:30	I meccanismi degli effetti benefici degli antiossidanti naturali Prof. Francesco Visioli, IMDEA-Food, Madrid	37
12:30-13:00	Prospettive industriali della nutraceutica Dr.ssa Diana Bracco, Presidente e Amministratore Delegato di Bracco SpA	--
13:00-14:00	COLAZIONE – SESSIONE POSTER	
14:00-14:50	QUALITA' DI VITA E PREVENZIONE DELL'OBESITA' Moderatori: Prof. Michele Carruba, Università degli Studi di Milano; Dr. Enzo Grossi, Bracco SpA	
14:00-14:20	I disturbi del sonno nel paziente anziano Mariangela Rondanelli, Annalisa Opizzi, Milena Faliva, S. Perna, Neldo Antonello, Filippo Segù, M. Zavaglia, D. Cavigliani, Azienda di Servizi alla Persona di Pavia, Università degli Studi di Pavia	38
14:20-14:50	Changes in intestinal microflora in obesity: cause or consequence? Prof. Fredrik Bäckhed, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden	39
14:50-15:40	SIMPOSIO ASSOBIOTEC NUOVE SFIDE DELLA NUTRACEUTICA: SPIN-OFF E START-UP Moderatore rappresentante Assobiotec	
14:50-15:00	Nutriliipidomica: innovazione dalle membrane cellulari Dr. Carla Ferreri, Lipinutragen	40
15:00-15:10	Lupino come fonte di proteine e peptidi per la prevenzione cardiovascolare Anna Arnoldi, Giovanna Boschin, Silvia Greco, Donatella Resta, Graziana Scigliuolo, Elena Sirtori, HPF-Nutraceuticals	41
15:10-15:20	Nutraceutici di origine lipidica. Importanza della loro formulazione e dell'attività sinergica dei diversi componenti Gianfranca Carta, Elisabetta Murru, Lina Cordeddu, Annarita Sirigu, Claudia Vacca, Antonio Piras, Barbara Batetta, Enzo Tramontano, Sebastiano Banni, Nutrisearch	42
15:20-15:30	Culture cellulari vegetali: un metodo innovativo per produrre nutraceutici di alta qualità Dr. Elena Sgaravatti, IRB	--
15:30-15:40	Innovazione e trasferimento tecnologico in nutraceutica: il modello di Fondazione Filarete Massimo Galbiati, Fabio Rusconi, Katia Petroni, Chiara Tonelli, Fondazione Filarete	43

15:40-16:40	SIMPOSIO PIZETA PHARMA NUTRACEUTICI E FUNZIONALITA' VASCOLARE Moderatore: Dr. Leonardi, Pizeta Pharma SpA, Spello (PG)	
15:40-15:55	Ruolo della nutraceutica nella riduzione del danno di parete arterioso Dr. Alfio Amato, Servizio di Angiologia, Ospedale Maggiore di Bologna	44
15:55-16:10	L'utilizzo di estratti di piante nella cura dell'insufficienza venosa cronica: dalla teoria alla pratica Dr. Gianluigi Rosi, Centro Angiologico "J. Lugol", Perugia	45
16:10-16:25	La funzionalità dell'unità microcircolatoria nei confronti delle applicazioni della nutraceutica Dr. Arcangela Rozza, Unità di Chirurgia Vascolare, Villa Regina, Bologna	46
16:25-16:40	La nutraceutica nel miglioramento del trofismo e del tono del plesso emorroidario Dr. Raffaele Colucci, Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva, Ospedale di Spoleto	47
16:40-17:00	COFFEE BREAK	
17:00-18:50	COMUNICAZIONI Moderatori: Prof. Maria Augusta Raggi, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna; Dr. Arrigo Cicero, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	
17:00-17:15	Efficacia a lungo termine di un'associazione preconstituita di nutraceutici su parametri emodinamici, lipidici, infiammatori e di rimodellamento vascolare Arrigo F.G. Cicero, Giuseppe Derosa, Beatrice Gerocarni, Martina Rosticci, Elisa Grandi, Claudio Borghi, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	48
17:15-17:30	Soiasaponine "ipocolesterolemizzanti" nei legumi: studio e determinazione mediante analisi SPE-HPLC-MS e MALDI-TOF <u>Gianni Sagratini</u> , Giovanni Caprioli, Gloria Cristalli, Dario Giardinà, Filippo Maggi, Laura Molin, Massimo Ricciutelli, Veronica Sirocchi, Piero Traldi, Sauro Vittori, Università di Camerino	49
17:30-17:45	Cumarine ad azione chemiopreventiva: una risorsa dai frutti del genere Citrus? Valutazione quantitativa Laura Mercolini, Roberto Mandrioli, Anna Ferranti, Massimo Curini, Ferruccio Poli, <u>Maria Augusta Raggi</u> , Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	50
17:45-18:00	Analisi del proteoma di colture primarie di cardiomiociti trattati con il nutraceutico sulforafane <u>Cristina Angeloni</u> , Silvia Turroni, Laura Bianchi, Daniele Fabbri, Elisa Motori, Marco Malaguti, Emanuela Leoncini, Luca Bini, Patrizia Brigidi, Silvana Hrelia, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	51
18:00-18:15	Effetto ipocolesterolemizzante di combinazioni di proteine vegetali e fibre: impatto sui geni che regolano l'omeostasi del colesterolo <u>Cinzia Parolini</u> , Elena Rigamonti, M. Busnelli, Marta Marchesi, Cesare R. Sirtori, Giulia Chiesa, Università degli Studi di Milano	52
18:15-18:25	DATATIPICA: database chemioinformatico per la valorizzazione nutraceutica dei prodotti tipici della filiera agroalimentare <u>Francesca Alcaro</u> , Anna Artese, Carlo Cosentino, Stefano Alcaro, Università degli Studi Magna Graecia, Catanzaro	53
18:25-18:35	In vite veritas: analisi quantitativa dei composti antiossidanti di uva e derivati <u>Laura Mercolini</u> , Roberto Mandrioli, Vittorio Sorella, Maria Augusta Raggi, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	54
18:35-18:50	Metabolismo dell'omocisteina e stato ossidativo in soggetti forti fumatori sani: effetti di una supplementazione nutraceutica <u>Fabrizia Bamonti</u> , Cristina Novembrino, Rachele De Giuseppe, Federica de Liso, Luisella Vigna, Marco Pellegatta, Giuliana Cighetti, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano	55

SABATO 26 FEBBRAIO 2011		
9:00-10:00	NUTRIGENOMICA E METABOLOMICA Moderatori: Prof. Marisa Porrini, Università degli Studi di Milano; Prof. Chiara Tonelli, Università degli Studi di Milano	
9:00-9:40	Lipid responses to nutraceuticals: the genetic factors Prof. Jose M. Ordovas, JM-USDA-HNRCA, Tufts University, Boston	--
9:40-10:00	La risonanza magnetica nucleare come mezzo di validazione di prodotti nutraceutici <u>Antonio Randazzo</u> , Ettore Novellino, Università degli Studi di Napoli "Federico II"	56
10:00-11:00	PREVENZIONE OFTALMICA – TUMORI Moderatori: Prof. Arsenio Veicsteinas, Università degli Studi di Milano; Prof. Angelo Nicolin, Università degli Studi di Milano	
10:00-10:30	Effetti dell'integrazione dietetica con fitoestrogeni in donne in menopausa con sindrome dell'occhio secco: studio clinico randomizzato <u>Gianluca Scuderi</u> , Caterina Gagliano, Daniela Iacoviello, Maria Teresa Contestabile, Università La Sapienza, Roma.	57
10:30-11:00	Terapie integrative in oncologia: il ruolo della nutraceutica <u>Mariano Bizzarri</u> , Simona Dinicola, Università La Sapienza, Roma	58
11:00-11:20	COFFEE BREAK	
11:20-12:20	NUTRACEUTICA E ANDROLOGIA Moderatori: Prof. Mariano Bizzarri, Università La Sapienza, Roma; Prof. Paolo Magni, Università degli Studi di Milano	
11:20-11:50	Gli integratori a supporto della salute sessuale maschile Dr. Giorgio Piubello, Ospedale Policlinico di G.B. Rossi, Università degli Studi di Verona	59
11:50-12:20	Carnitine e antiossidanti a supporto della salute riproduttiva maschile <u>Lamberto Coppola</u> , Daniela D. Montagna, Sara Pinto Provenzano, G. Andrea Coppola, Vita Caroli Casavola, Umberto Caracciolo, Tecnomed Centro Medico-Biologico, Università del Salento, Nardò - Lecce	60
12:20-13:10	SICUREZZA DEI NUTRACEUTICI Moderatori: Prof. Corrado L. Galli, Università degli Studi di Milano; Dr. Alessandro Rizzitano, DIFASS International srl, Coriano (Rimini)	
12:20-12:50	Problematiche tossicologiche legate al consumo dei nutraceutici <u>Patrizia Restani</u> , Chiara Di Lorenzo, Ariana Dos Santos, Cinzia Ballabio, Enzo Moro, Maria Laura Colombo, Università degli Studi di Milano	61
12:50-13:10	Problematiche assicurative relative ai nutraceutici Dr. Irelio Offman, Gruppo GPA, Milano	--

TAVOLA ROTONDA

**COME VALUTARE I NUTRACEUTICI IN
CLINICA IN VISTA DELLA RICHIESTA
DI APPROVAZIONE DELL'HEALTH
CLAIM?**

ORGANIZZAZIONE DI UNA SPERIMENTAZIONE CLINICA EFFICIENTE ED ECONOMICAMENTE SOSTENIBILE

Cesare R. Sirtori

Professore Ordinario di Farmacologia Clinica, Preside Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Milano

Il numero elevato di opinioni negative riguardanti gli "health claims" pubblicate dalla European Food Safety Authority (EFSA) ha messo in luce alcune gravi problematiche insite nella raccolta dei dati clinici sui prodotti nutraceutici. Questi prodotti, infatti, hanno una sicurezza intrinseca elevata, ma dimostrare in modo convincente la loro attività clinica può risultare difficile.

Le linee guida per l'organizzazione di una corretta sperimentazione clinica non possono che fare riferimento a quanto da decenni viene seguito nel settore dei farmaci. Per questi, infatti, sono previste, dopo le sperimentazioni sull'animale, più fasi di sviluppo clinico, da una a quattro. Si parte dalla fase I, normalmente su volontari sani, indirizzata alla valutazione della tollerabilità, si prosegue con la fase II, di tipo controllato, contro placebo o un prodotto di riferimento, per valutare l'attività, e la fase III, con caratteristiche simili alla seconda ma con casistica più estesa, fino ad arrivare alla fase IV, post-marketing.

Nel caso dei nutraceutici è ragionevole ritenere che la fase I sia da considerare acquisita, vista l'eccellente tollerabilità osservata in un consumo consolidato nel tempo. Un aspetto particolare può essere quello di una fase I cinetica, indirizzata a stabilire i livelli ematici raggiunti da un componente considerato attivo (acidi grassi n-3, condroitinsolfato, carnitina, etc.). Questo dato può essere di particolare importanza nei prodotti a base di proteine, la cui attività biologica è legata all'assorbimento di specifici peptidi.

La fase II è invece certamente da programmare con attenzione per quanto riguarda i nutraceutici. E' fondamentale ricorrere ad uno schema non diverso da quello di una sperimentazione clinica di farmaci. Nel caso degli integratori alimentari, il confronto è integratore contro placebo, mentre in quello degli alimenti funzionali si presentano ulteriori problemi che possono in alcuni casi impedire una sperimentazione in doppio cieco. Ad esempio gli alimenti a base di proteine di soia sono testati contro prodotti simili contenenti proteine di origine animale (prevalentemente caseina), ma le diverse caratteristiche organolettiche dei prodotti non sempre consentono la cecità. Anche l'aggiunta di acidi grassi n-3 presenta problemi nell'individuazione del placebo più appropriato. Gli end-points devono essere misurabili in modo preciso e condivisi dalla comunità scientifica: glicemia, peso, pressione arteriosa, colesterolo ed altri. Nel caso dei probiotici lo studio clinico deve tenere in stretta considerazione anche le caratteristiche del batterio impiegato: il placebo potrebbe essere un probiotico con un batterio diverso, ritenuto inattivo.

La dimostrazione statistica di un risultato positivo deve essere convincente: le variazioni percentuali devono collocarsi in un ambito non solo statistico, ma anche terapeutico. Pertanto la Fase II di un nutraceutico deve seguire un iter non diverso da quello di un farmaco: il Comitato Etico, un'organizzazione professionale (CRO) per il monitoraggio dello studio, la consulenza statistica, farmacologico - clinica, ecc.

Una fase II ben condotta può essere sufficiente per convalidare dei claims ragionevoli. La fase III allargata ad una casistica più ampia può richiedere un monitoraggio meno oneroso, ma una raccolta ben condotta di dati è apprezzabile. In genere la fase IV non è da considerare per il nutraceutico, che ha un'ampia diffusione per acquisto diretto da parte del consumatore, e quindi non è facilmente monitorizzabile.

Ne vale la pena? I costi di una sperimentazione clinica di fase II ben condotta possono variare da 500.000 fino a 2-3 milioni di euro. Possono sembrare cifre elevate ma non appaiono proibitive, quando si considerino i costi di una promozione sulla stampa o attraverso i media televisivi. Studi seri consentono di acquisire dati scientifici che siano convincenti per EFSA e ancor di più per i medici, che oggi diventano sempre più spesso prescrittori di nutraceutici.

LA VALUTAZIONE DEL COMITATO ETICO DEI PROTOCOLLI DI STUDIO CON NUTRACEUTICI

Eleonora Sfreddo Gallotta

Responsabile Segreteria Tecnico Scientifica Comitato Etico Azienda Ospedaliera Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano

Ai sensi delle indicazioni contenute nelle "LINEE DI INDIRIZZO SUGLI STUDI CONDOTTI PER VALUTARE LA SICUREZZA E LE PROPRIETA' DI PRODOTTI ALIMENTARI" la conduzione di studi sull'uomo con questa tipologia di prodotti deve tener conto dei principi generali delle norme della buona pratica clinica (GCP). Ciò garantisce sia la tutela dei diritti, della sicurezza e del benessere dei soggetti che partecipano allo studio, in conformità con i principi stabiliti dalla Dichiarazione di Helsinki, sia l'attendibilità dei dati relativi allo studio. Il parere preventivo e vincolante del comitato etico di riferimento è da considerarsi un requisito necessario per l'effettuazione dello studio. Il Comitato Etico è responsabile, tra l'altro, di effettuare la revisione e di dare l'approvazione/il parere favorevole relativamente al protocollo di studio, alla idoneità dello sperimentatore e delle strutture, ai metodi ed al materiale da impiegare per ottenere e documentare il consenso informato dei partecipanti allo studio. I Comitati Etici di riferimento al fine di ottemperare a quanto sopra indicato di fatto, operano esprimendo il proprio parere sulla base degli stessi principi che regolamentano la sperimentazione clinica o osservazionale con farmaci prendendo a riferimento il Decreto Legislativo n. 211 del 24 Giugno 2003, il Decreto Ministeriale 12 Maggio 2006, il Decreto Legislativo n. 200 del 6 Novembre 2007. e la Determinazione AIFA 20 marzo 2008. Tuttavia, in assenza di indicazioni specifiche di legge si possono evidenziare alcune criticità:

1. Identificazione di criteri generali largamente condivisi sulla tipologia di documentazione necessaria al fine dell'ottenimento del parere.
2. Criteri di Valutazione sull'Adeguatezza della copertura assicurativa ove applicabile.
3. Formato del parere in relazione alla presenza/assenza di un Centro coordinatore che si traduce nell'espressione di parere unico oppure di parere come centro satellite.
4. Assenza di un registro analogo a quanto previsto per le Sperimentazioni cliniche e osservazionali con farmaci che dia trasparenza all'operato delle parti in causa.

VALUTAZIONE CLINICA DI NUTRACEUTICI PER L'IPERTENSIONE ARTERIOSA

Bruno Trimarco

Dipartimento di Medicina Clinica e Scienze Cardiovascolari ed Immunologiche, Università Federico II, Napoli

L'impiego dei nutraceutici nella terapia dell'ipertensione arteriosa trova giustificazione nella prospettiva di un controllo di valori pressori elevati più precoce rispetto a quello ottenibile con i farmaci antiipertensivi che, per la maggiore probabilità di indurre effetti collaterali indesiderati, possono essere usati solo in presenza di un rischio cardiovascolare moderato. Questo tipo di strategia si rende necessaria al fine di consentire un controllo precoce della pressione arteriosa che prevenga lo sviluppo del danno d'organo. Conseguentemente prima che i nutraceutici siano accettati come strategia terapeutica antiipertensiva è necessario in primo luogo che essi dimostrino un effetto antiipertensivo maggiore del placebo in studi clinici in doppio cieco disegnati ad hoc, ma soprattutto che si raggiunga l'evidenza che il loro uso cronico è in grado di modificare la storia naturale dell'ipertensione arteriosa.

Mentre per il primo aspetto esistono già delle evidenze di un'efficacia antiipertensiva di alcuni nutraceutici, è ancora in corso la valutazione del secondo aspetto che non può essere fondata sulla riduzione della mortalità o dell'incidenza di eventi cardio e cerebrovascolari, che per definizione sono particolarmente rari in pazienti a basso rischio, ma piuttosto sulla dimostrazione di una riduzione del rallentamento dello sviluppo del danno d'organo, che progredisce al crescere dei valori pressori anche nell'ambito del range di normalità.

L'acquisizione di questo tipo di informazione costituisce un elemento di grande utilità nella prevenzione cardiovascolare perché consentendo di ottenere una piccola riduzione del rischio in un numero estremamente ampio di soggetti offre un vantaggio enorme alla comunità.

VALUTAZIONE CLINICA DI UN NUTRACEUTICO AD AZIONE IPOCOLESTEROLEMIZZANTE

Arrigo F.G. Cicero

Dip. di Medicina Interna, dell'Invecchiamento e Malattie nefrologiche, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

La metodologia da applicarsi allo studio dei nutraceutici con supposte attività ipolipemizzante non dovrebbe essere molto diversa da quella che si applicherebbe ad un farmaco con attività simile. In prima battuta il nutraceutico testato deve avere un meccanismo farmacologico noto ed un profilo di sicurezza sufficiente da poter essere testato nell'uomo. Uno studio clinico dovrebbe essere disegnato in modo da non includere pazienti con patologie estreme del metabolismo lipidico o farmacologicamente trattati, da prevedere un periodo di standardizzazione della dieta basale su di una dieta globalmente corretta (ancora una volta non estrema), da prevedere un tempo di trattamento sufficiente per osservare il risultato atteso (usualmente 4 settimane), da includere un gruppo di controllo in doppio cieco, e da prevedere un set minimo di analisi ematochimiche di routine ma completo. Il campione dovrà essere dimensionato sulla base della potenza del prodotto testato e della varianza del parametro target (maggiore per TG, minore per LDL). In seconda battuta potranno essere pianificati trials di più lunga durata e di maggiore numerosità campionaria con finalità diverse, quali la valutazione del mantenimento dell'efficacia e della tollerabilità sul lungo termine, l'inclusione di parametri laboratoristici più avanzati (es.: apolipoproteine, marcatori di rimodellamento vascolare, biomarkers di infiammazione) e/o strumentali di reattività vascolare (es.: Flow-Mediated Dilatation). In ulteriore analisi potrà essere estesa l'indagine a pazienti con comorbidità note (es.: diabete mellito) e/o già in trattamento farmacologico con agenti ipolipemizzanti.

VALUTAZIONE CLINICA DEI NUTRACEUTICI PER IL DIABETE E LA SINDROME METABOLICA E POSSIBILI IMPLICAZIONI SUL RISCHIO CARDIOVASCOLARE

Marco Bertolotti

Dipartimento di Medicina Endocrinologia Metabolismo e Geriatria, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Nuovo Ospedale Civile, via Giardini 1355 - 41126 Modena. marco.bertolotti@unimore.it

Il diabete mellito si associa ad un significativo aumento del rischio cardiovascolare, tanto che secondo alcuni Autori la probabilità di andare incontro ad un evento cardiovascolare è paragonabile a quella di chi abbia già presentato un primo evento.

Alcuni tentativi di definizione del rischio cardiovascolare globale nel singolo paziente sono stati fatti, ma la loro "performance" è insoddisfacente; inoltre, molti di questi non considerano variabili specifiche per la patologia diabetica.

Diversi approcci farmacologici, mirati alla correzione di singoli fattori di rischio, sono stati utilizzati nella prevenzione di eventi cardiovascolari, con risultati spesso molto buoni.

Le evidenze sull'efficacia degli integratori alimentari non sono numerose, ma alcune di queste hanno dimostrato effetti di potenziale rilievo clinico sul miglioramento di alcuni fattori di rischio cardiovascolare.

Nel campo specifico del diabete, e delle condizioni legate ad insulino-resistenza quali la sindrome metabolica, sono disponibili dati incoraggianti sulla berberina (che si associano a quelli relativi al più noto l'effetto ipolipemizzante), sugli estratti del ginseng, su alcuni polifenoli contenuti nella cannella, oltre ad una serie numerosa di prodotti della medicina tradizionale cinese. E' interessante ricordare, a questo riguardo, come i meccanismi d'azione postulati per queste sostanze siano in molti casi analoghi a quelli dei prodotti farmaceutici comunemente utilizzati nel mondo occidentale.

Questa relazione prenderà in rassegna le principali evidenze clinico-sperimentali attualmente disponibili sull'impiego di integratori nutraceutici nel diabete e nella sindrome metabolica, con le potenziali implicazioni sul rischio cardiovascolare.

COME SI POSSONO VALUTARE GLI ANTIOSSIDANTI IN CLINICA?

Giovanni Scapagnini

Università degli Studi del Molise

Il ruolo degli antiossidanti nutrizionali nella prevenzione delle patologie croniche è un tema sempre più dibattuto e controverso. Il razionale del loro impiego si basa sulla capacità di tali sostanze di limitare o ridurre, a livello dell'organismo o di tessuti bersaglio, il danno ossidativo associato con la genesi di svariate patologie degenerative. Su questa base sono stati sviluppati studi e modelli sperimentali per sostenere claims su cibi e integratori contenenti composti antiossidanti. Sebbene la comprensione della biochimica cellulare dei processi redox abbia negli ultimi anni fatto notevoli passi avanti, si è ancora ben lontani dal comprendere la rilevanza di questi processi in-vivo. Infatti, nonostante le numerose evidenze in-vitro della potenziale azione benefica dei composti antiossidanti, non si è osservata una loro corrispondente efficacia nell'uomo. Uno dei principali problemi, innanzitutto, è legato alla capacità di misurare i livelli di danno ossidativo. Vista la difficoltà di valutare direttamente gli intermedi reattivi dell'ossigeno e dell'azoto, sono stati identificati numerosi biomarkers di modificazioni indotte dallo stress ossidativo su substrati cellulari lipidici, proteici e nucleotidici, come ad esempio gli F2-isoprostani o la 8-oxo-2-deossiguanosina. Finora però non è stato possibile correlare chiaramente nessuno di questi marcatori con lo stato di salute e il rischio di insorgenza di patologie. Recentemente sono stati proposti anche altri approcci in grado di valutare la capacità antiossidante totale in un organismo, come ad esempio l'ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), il TEAC (Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity) e il FRAP (Ferric Reducing Ability of plasma). Anche in questo caso, però, nessuno dei suddetti sistemi si è dimostrato adeguato nel valutare in maniera specifica l'entità dello stress ossidativo e l'eventuale azione antiossidante di composti nutraceutici, nell'ambito di studi clinici. Inoltre molte altre problematiche, relative alla biodisponibilità e alla cinetica degli antiossidanti, al significato del make-up genetico dei singoli individui e soprattutto la mancanza di informazioni sulla rilevanza biologica dei fenomeni redox, rendono il campo degli antiossidanti uno dei più complessi e difficilmente esplorabili nel contesto della nutraceutica clinica.

COME VALUTARE I NUTRACEUTICI PER L'ARTROSI?

Carlomaurizio Montecucco

Divisione di Reumatologia. Università di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo, P.le Golgi 2, Pavia

L'artrosi è la più frequente patologia articolare ed ha un enorme impatto economico socio-sanitario. Si tratta di una patologia degenerativa cronica della cartilagine articolare con ripercussioni di tipo infiammatorio sulla membrana sinoviale e di tipo metabolico sull'osso subcondrale. Colpisce in modo più frequente e grave le persone anziane. Al momento non esiste una terapia causale dell'artrosi ed il trattamento è volto al controllo del dolore ed al mantenimento, per quanto possibile, o al ripristino attraverso interventi di chirurgia ortopedica, della funzione articolare.

Le linee guida internazionali sul trattamento dell'artrosi sono concordi sulla necessità di un trattamento articolato che associ interventi farmacologici a misure non farmacologiche: fisiche, riabilitative, comportamentali, dietetiche e chirurgiche. Sul piano farmacologico le molecole più spesso utilizzate sono il paracetamolo, gli analgesici oppiacei e, soprattutto, gli anti-infiammatori non steroidei, inclusi i coxib.

E' evidente che l'impiego a lungo termine di questi farmaci, in soggetti anziani con frequenti e talora multiple co-morbidità, può presentare non indifferenti problemi di tollerabilità e sicurezza. Da qui la necessità di valutare l'effetto terapeutico di sostanze in grado di contribuire alla riduzione dei sintomi e al rallentamento della progressione di malattia, garantendo una maggiore sicurezza di impiego cronico anche in pazienti con polipatologie e politerapie.

I nutraceutici appaiono candidati ideali per questo scopo e molte sostanze di questo tipo sono state proposte nel trattamento dell'artrosi.

Le più note e sperimentate sostanze accreditate di un possibile effetto "condroprotettore" nell'artrosi umana sono la glucosamina solfato, il condroitin solfato e l'estratto di avocado e soia. Questi prodotti hanno effettivamente mostrato una buona efficacia nel ridurre i sintomi nel medio-lungo periodo, consentendo anche un significativo risparmio nell'uso di analgesici e anti-infiammatori. Per alcuni di essi, in particolare la glucosamina solfato, esistono anche evidenze di un possibile effetto condroprotettivo. Va tuttavia detto che gli studi riguardanti queste sostanze sono stati condotti impiegando dosaggi o formulazioni di tipo farmacologico e non nutraceutico. Questo dato è di fondamentale importanza perché nessuno dei numerosi prodotti nutraceutici contenenti le sostanze sopra citate, in varia combinazione, ha finora fornito una chiara documentazione di efficacia clinica. Oggi esistono precisi sistemi di valutazione dell'efficacia clinica, ad esempio l'indice WOMAC, nella gonartrosi e nella coxartrosi; l'impiego scientifico di queste scale di valutazione in studi controllati è assolutamente necessario in una malattia in cui l'effetto placebo è sorprendentemente elevato. Per questi motivi i dati ottenuti con preparazioni di tipo farmaceutico non possono essere portati *sic et simpliciter* a supporto di nutraceutici contenenti sostanze analoghe a dosaggi diversi. Studi clinici rigorosi in questo campo appaiono pertanto indispensabili.

Più recentemente, la terapia dell'artrosi è stata approcciata sul piano nutraceutico anche con sostanze ad azione specificamente anti-infiammatoria. Studi clinici recenti, condotti su in pazienti artrosici, hanno evidenziato l'efficacia antinfiammatoria, analgesica e la sicurezza di impiego della bromelina, un estratto naturale della pianta di ananas. In particolare è stato visto come l'associazione di glucosamina solfato a bromelina sia in grado di migliorare l'indice di WOMAC in modo superiore rispetto alla sua associazione con analgesico, ma con un minor rischio di eventi avversi.

I nutraceutici hanno pertanto le carte in regola per divenire una valida opzione terapeutica nel campo dell'artrosi. E' tuttavia indispensabile che le valutazioni di efficacia siano condotte in modo rigoroso e scientificamente inappuntabile perché se ne possa trovare il giusto posizionamento nella strategia terapeutica di una patologia non solo cronica e invalidante ma anche complessa e multidisciplinare.

HOW DO WE BEST ASSESS THE EFFICACY OF PSYCHOACTIVE NUTRACEUTICALS?

Maurizio Fava, M.D.

Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School

One of the main challenges in the study of psychoactive nutraceuticals is that the funding for such studies is typically rather limited, thereby allowing for only rather small sample sizes. The risk in conducting under-powered studies is both type I and type II errors. Furthermore, clinical trials in most psychiatric disorders tend to yield relatively high placebo responses, which may further diminish or confound the detection of meaningful clinical effects. There is a clear need, for researchers in the field of psychoactive nutraceuticals, to go beyond the standard parallel comparison designs, which have clearly performed very poorly over the years. In the past few years, novel study designs have emerged, including crossover designs, adaptive designs, and the sequential parallel comparison design. These approaches have shown the ability to draw firmer conclusions from more limited sample sizes and have, in some instances, contributed to relatively lower placebo responses. It is also imperative to utilize measures of outcome that most sensitively detect therapeutic signals and that are less confounded by medical and psychiatric comorbidity.

VALUTAZIONE CLINICA DELL'ATTIVITÀ DEI PROBIOTICI NELLE PATOLOGIE IMMUNOMEDIATE

Annamaria Castellazzi

Direttore Centro Interuniversitario (Università di Pavia e di Bologna) di Immunità e Nutrizione, Dipartimento di Scienze pediatriche, Università degli studi di Pavia

La letteratura scientifica relativa ai probiotici è in costante aumento, con numerosi articoli, pubblicati su riviste di prestigio, che dimostrano effetti benefici di specifici ceppi di batteri probiotici sull'organismo umano. Le aree della funzionalità intestinale normale o patologica e della modulazione dei meccanismi dell'immunità sono quelle nelle quali, ad oggi, sono stati ottenuti i risultati più favorevoli. L'attiva ricerca nel settore deve tuttavia fronteggiare alcune complessità e specificità, in parte di natura scientifica ed in parte di carattere regolatorio, che meritano di essere considerate con attenzione. Sul piano scientifico esiste ormai consenso sul fatto che una caratterizzazione tassonomica precisa ed univoca del ceppo probiotico utilizzato è irrinunciabile in qualunque lavoro sperimentale. L'azione di un probiotico dipende infatti dall'interazione tra le sue attività metaboliche o funzionali e quelle dell'ospite: ed è quindi certamente ceppo-specifica. Non va trascurato che l'interazione stessa è esplorabile solo con metodiche di notevole rigore, e soprattutto implica, per raggiungere un adeguato livello di certezza in relazione ad effetti di possibile rilevanza pratica, l'esecuzione di studi nell'uomo con *end-points* ben codificati, la cui scelta risulta oggettivamente complessa. L'esecuzione di lavori sperimentali nell'area di ricerca dei probiotici è ulteriormente complicata, sul piano normativo, dall'interazione con la normativa "*claims*" (Regolamento Comunitario 1924/2006), relativa ad alimenti ed integratori, cui la maggior parte dei prodotti contenenti probiotici deve necessariamente fare riferimento. Gli alimenti o gli integratori contenenti probiotici, infatti, non possono vantare (nell'ambito della normativa attuale) effetti di natura preventiva o terapeutica nei riguardi di alcuna malattia. Questo limita l'allestimento di studi su soggetti portatori di patologie (eventuali effetti favorevoli su tali condizioni non potrebbero essere utilizzati nella comunicazione di prodotto): ma è evidente, d'altra parte, che lo studio di soli soggetti "sani" raramente potrà consentire di evidenziare vantaggi significativi per il consumatore. Una serie di recenti osservazioni ha permesso di meglio chiarire i meccanismi della risposta immune che hanno luogo a livello intestinale. Molti di questi meccanismi possono essere influenzati da specifici ceppi probiotici. Con un uso mirato di specifici ceppi probiotici è possibile indurre una risposta di tipo immunostimolante sia sulla componente linfocitaria di tipo B (incremento dell'immunità umorale) e T (incremento dell'immunità cellulo-mediata), sia sulla componente fagocitaria, in particolare sulle cellule polimorfonucleate. La possibilità di stimolare risposte di questo tipo è utile in circostanze cliniche ben precise, per esempio quando s'intenda realizzare un'immunoprofilassi delle infezioni delle alte vie respiratorie durante il periodo invernale, o in aggiunta alla vaccinazione anti-influenzale per aumentare la risposta anticorpale al vaccino o, più in generale, per aumentare la vigilanza immunitaria aspecifica verso patogeni di varia natura. L'educazione del sistema immune nei primi momenti di vita è fondamentale nel minimizzare la comparsa di questi disordini immuno-mediati. Gli antigeni fondamentali a questo processo "educativo" sono proprio quelli della flora batterica, che il neonato acquisisce dalla madre, e che colonizza l'intestino già dopo 48 ore di vita (*E. coli* e Streptococchi). La dieta, poi, influisce sul *microbiota* del neonato: infatti i bambini allattati al seno presentano una colonizzazione prevalente con Bifidobatteri, *E. coli* e Streptococchi, mentre quelli allattati con latte formulato, presentano un microbiota con prevalenza di Bifidobatteri, Bacteroidi, Clostridi ed altri Enterobatteri. L'instaurarsi graduale di una flora autoctona fin dalle prime ore di vita è in grado di modulare la risposta immunitaria in favore dell'acquisizione della tolleranza orale definibile come "*un'iporesponsività immunologica specifica a seguito di una precedente esposizione mucosale all'antigene*".

Bibliografia

- 1.NASPGHAN Nutrition Report Committee; Michail S, Sylvester F, et al: Clinical efficacy of probiotics: review of the evidence with focus on children.J Ped Gastroenterol Nutr **2006**;43:550-557.
2. Valsecchi C, Marseglia A, Ricci A et al, Castellazzi AM. Probiotics and children: is an integration useful in allergic diseases? *Pediatr Med Chir.* **2008**;30:197-203

REGOLAMENTO CE 1924/2006 SUI CLAIMS: IL PUNTO DI VISTA DELL'INDUSTRIA SU DIFFICOLTA' E PROSPETTIVE FUTURE

Paolo Casoni

Presidente del Gruppo "Prodotti per un'alimentazione particolare- Integratori alimentari" di AIIPA, Associazione Italiana Industrie Prodotti Alimentari aderente a Confindustria.

AIIPA ha condiviso e continua a condividere gli obiettivi iniziali del Regolamento claims 1924/2006: favorire scelte informate del consumatore; garantire informazioni chiare, veritiere e fondate scientificamente; favorire la corretta alimentazione; promuovere l'innovazione.

Le difficoltà incontrate dagli operatori nel presentare la giustificazione scientifica richiesta a supporto delle affermazioni sui benefici dei prodotti/sostanze sulla salute (i cosiddetti Health claims) per le valutazioni da parte dell'EFSA, unite alla complessa e lunga applicazione del Regolamento, hanno comportato un allontanamento da tali principi: come conseguenza il consumatore avrà meno informazioni utili per compiere scelte informate e consapevoli e, nel caso degli integratori, ciò potrebbe tradursi in una minore sicurezza d'uso del prodotto e nel ricorso a fonti di informazioni non "controllate" e meno garantite.

AIIPA, anche con l'ausilio del network associativo al quale appartiene, da tempo dialoga con le Autorità nazionali ed europee per rappresentare le difficoltà del mondo produttivo per trovare soluzioni che cerchino di bilanciare i criteri di valutazione scientifica e gli standard di protezione del consumatore, per arrivare alla fine ad un punto di incontro che preservi la capacità dell'industria di comunicare e di investire in ricerca e sviluppo.

GLI HEALTH CLAIMS E L'ATTUAZIONE DEL REG. 1924/06: LE PREOCCUPAZIONI DELL'INDUSTRIA. L'IMPORTANZA DELLE EVIDENZE SCIENTIFICHE

Germano Scarpa

Presidente FederSalus

L'health claim (di cui al Reg. 1924/06) caratterizza la destinazione d'uso dell'integratore alimentare consentendo al consumatore una scelta razionale del prodotto ritenuto più adatto alle sue attese. Da questa premessa è scaturito l'impegno delle Associazioni nazionali a strutturare una lista di indicazioni salutiste, scientificamente fondate, relative agli estratti vegetali utilizzati tradizionalmente in Italia.

Lacune procedurali e incertezza sui criteri di valutazione dei claims hanno giustificato il ricorso FederSalus al Mediatore europeo. Viste le nuove impostazioni procedurali dichiarate dalla Commissione UE, FederSalus ha deciso di ritirare il ricorso rispettando i nuovi orientamenti europei.

Alcune ricerche economiche stimano la contrazione del mercato dovuta all'applicazione del Reg. 1924/06 secondo i criteri correnti. I costi industriali prospettati non sono compatibili con le risorse e le dimensioni medie delle aziende nazionali e comunitarie.

Contraddette nella pratica le premesse logiche e gli scopi finali del Regolamento 1924/06.

RIASSUNTI DELLE RELAZIONI ORALI E DELLE COMUNICAZIONI

ANTIDEPRESSANT EFFECTS OF NUTRACEUTICALS

Maurizio Fava, M.D.

Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School

Over the past few decades, a number of nutraceutical compounds have shown promising antidepressant effects. Recently, a Task Force on Complementary and Alternative Medicine of the American Psychiatric Association has reviewed the efficacy in major depressive disorder (MDD) of the best studied nutraceuticals, omega-3 fatty acids, St. John's wort (hypericum), folate, and S-adenosyl-L-methionine (SAMe) (Freeman MP et al, J Clin Psych 2010; 71:669-681). This presentation will focus on the results of such review, as the author was part of such Task Force. The review concluded that the effects of omega-3 fatty acids in MDD are rather modest and tend to favor lower dosages (e.g., 1 gr/day) of combinations of EPA and DHA. There is substantial evidence for the efficacy of St. John's wort (hypericum) in mild to moderate MDD, although not all studies have shown an advantage of this compound over placebo, particularly in severe MDD. S-adenosyl-L-methionine (SAMe) has shown antidepressant efficacy both as a monotherapy and as an augmentation strategy, and similar findings have been observed with methylfolate. The consistency of the efficacy of these two nutraceutical compounds in MDD and their role in methylation processes suggest novel approaches to the treatment of MDD. Overall, there is a relative paucity of adequately powered studies assessing the efficacy of these compounds in MDD, and most of the existing evidence is derived by relatively small studies. There is a clear need to study these and other compounds with promising antidepressant effects in a more systematic way.

LA L-ACETILCARNITINA (LAC) NELL' ENCEFALOPATIA EPATICA (EE)

Mariano Malaguarnera, Marco Vacante, Massimo Motta

Dipartimento di Scienze della Senescenza, Urologiche e Neurourologiche, Ospedale Cannizzaro Via Messina 829, 95125 Catania, Italia

L'Encefalopatia Epatica (EE) è una sindrome neuropsichiatrica caratterizzata da alterata funzionalità del sistema nervoso centrale che si osserva in pazienti con cirrosi. L'EE è caratterizzata da alterazioni cerebrali e cognitive, alterazione dell'umore, rallentamento psicomotorio con ritardo nell'esecuzione dei movimenti volontari (bradicinesia) alterazioni delle capacità di calcolo, alterato livello di coscienza, debolezza, tremori, anomalie dei riflessi, mioclonie, convulsioni, coma. I cambiamenti nella funzione motoria comprendono anche rigidità, disturbi nella produzione vocale, tremore a riposo, asterixis, iper o iporeflessia (movimenti coreici) alterazioni metaboliche, alterazioni dell'ammoniemia¹. Le sostanze tossiche responsabili dell'Encefalopatia Epatica non sono del tutto conosciute. L'ammoniaca, che è un prodotto della digestione delle proteine, probabilmente riveste un ruolo importante, ma anche le amine biologiche, gli acidi grassi a catena corta o altri prodotti di origine intestinale possono essere responsabili o possono agire insieme all'ammoniaca². L'Acetil-L-carnitina è una molecola endogena sintetizzata nei mitocondri dall'enzima Carnitina Acetil Transferasi ed è l'Acil-carnitina predominante nei tessuti normali. La Acil-carnitina, svolge un ruolo importante nel trasporto degli acidi grassi a lunga catena nei mitocondri e della loro successiva β -ossidazione. L'Acilcarnitina sierica è composta principalmente da acidi grassi di carnitina a catena corta, specialmente acetil-carnitina. Sebbene il 99% dell'ammontare di carnitina sia intracellulare, il rapporto tra acil-carnitina sierica e carnitina libera è altamente sensibile alle alterazioni metaboliche intramitocondriali³. In validi modelli sperimentali la LAC (estere della L-carnitina) ha mostrato di possedere varie attività farmacologiche a livello del sistema nervoso centrale: potenziamento dell'attività colinergica, probabilmente attraverso un'azione di riserva di gruppi acetilici per la sintesi di acetilcolina e per l'avvio del ciclo di Krebs; attivazione dell'attività neuronale serotoninergica; effetto competitivo inibitorio sul complesso recettoriale GABA, mediato dai recettori nicotinici dell'acetilcolina; inibizione della downregulation del complesso recettoriale GABA-A/BDZ, dei recettori NMDA e dei recettori dopaminergici D2; prevenzione della riduzione dei siti di legame per il Nervous Growth Factor (e incremento dei livelli cerebrali di NGF) osservata nell'ippocampo di ratto sottoposto a stress. La LAC presenta la caratteristica di attraversare la barriera ematoencefalica; questa infatti aumenta la concentrazione di Acetil CoA, indispensabile sostanza che esplica un ruolo rilevante sul neurotrasmettitore dopamina⁴. L-acetil carnitina, nei soggetti con encefalopatia epatica, costituisce una fonte primaria di energia, è una sostanza il cui effetto sull'attività a livello cerebrale si esprime sulle attività cognitive, come documentato dai numerosi lavori effettuati sull'Alzheimer. In quest'ultima grave sindrome, la forma acetilata (L-acetil-carnitina) costituisce un importante trattamento adiuvante per ridurre la sintomatologia clinica in atto⁵. I nostri studi condotti per valutare l'efficacia della L-carnitina e della L-acetil-carnitina nella prevenzione dei sintomi neurologici dovuti ad encefalopatia epatica e sulla tossicità dei livelli di ammonio hanno prodotto risultati incoraggianti non solo nel ridurre l'ammonio ma anche nel migliorare le funzioni cognitive e la qualità della vita^{6,7}.

Bibliografia

1. Amodio, P.; et al. *Hepatology*. **1999**, 29, 1662-7.
2. Rao, K.V.; et al. *Neurosci Lett*. **1997**, 224, 83-6.
3. Gatti, R.; et al. *Amino Acids*. **1998**, 14, 361-9.
4. Malaguarnera, M.; et al. *Dig Dis Sci*. **2006**, 51, 2242-7.
5. Malaguarnera, M.; et al. *Dig Dis Sci*. **2008**, 53, 3018-25.
6. Malaguarnera, M.; et al. *World J Gastroenterol*. **2005**, 11, 7197-202.
7. Malaguarnera, M.; et al. *Am J Clin Nutr*. **2007**, 86, 1738-44.

EFFICACIA DI UN NUTRACEUTICO A BASE DI FOSFATIDILINOSITOLO, ACIDI GRASSI N-3 E MELATONINA IN PAZIENTI AFFETTI DA MILD COGNITIVE IMPAIRMENT: STUDIO PILOTA

M. Rondanelli¹, M. Mozzoni¹, A. Opizzi¹, M. Faliva¹, N. Antonello², R. Savarè³, R. Cerutti³, E. Grossi³, R. Cazzola⁴, B. Cestaro⁴

¹Dipartimento di Scienze Sanitarie Applicate e Psicocomportamentali, Sezione di Nutrizione Umana, Azienda di Servizi alla Persona, Università degli Studi di Pavia; ² Direzione Medica, RSA "F. Pertusati, Pavia; ³Direzione Medica Farma Bracco Spa, San Donato Milanese; ⁴Dipartimento di Scienze Cliniche "L. Sacco"-Facoltà di Medicina e Chirurgia- Università degli Studi di Milano

Introduzione

Molte ricerche scientifiche hanno evidenziato che gli acidi grassi n-3, ed in particolare l'acido docosaesaenoico (DHA) dei fosfolipidi delle membrane neuronali, hanno un ruolo determinante sulle attività del sistema nervoso. Numerosi studi epidemiologici dimostrano che un'assunzione adeguata di acidi grassi n-3 ed un conseguente aumento dei livelli plasmatici dei fosfolipidi che li contengono può contribuire a ridurre il rischio di declino cognitivo e di insorgenza della demenza di Alzheimer. Lo stress ossidativo e la diminuzione di antiossidanti riscontrabili nell'Alzheimer contribuisce alla deplezione di acidi grassi n-3 cerebrali altamente vulnerabili ai radicali liberi; la melatonina svolge una funzione di neutralizzazione dei radicali liberi, proteggendo dal danno ossidativo i fosfolipidi ricchi di acidi grassi polinsaturi del parenchima cerebrale. Questi elementi hanno costituito il razionale per lo sviluppo di un preparato nutraceutico a base di fosfatidilinositolo, acidi grassi n-3 e melatonina che è stato impiegato in uno studio pilota in soggetti affetti da Mild Cognitive Impairment (MCI).

Materiali e Metodi

Lo studio è stato effettuato su due gruppi di soggetti MCI (MMSE > 24) per un periodo di 3 mesi; a un gruppo di 11 soggetti (2 maschi e 9 femmine di età media 85.3 ± 5.3) è stata fornita una supplementazione di 720 mg di DHA, 280 mg di EPA (acido eicosapentaenoico), 5 mg di melatonina, 95 mg di triptofano (il precursore fisiologico della melatonina) e 160 mg di fosfolipidi di soia arricchiti in fosfatidilinositolo, mentre il gruppo di controllo di 13 pazienti (2 maschi e 11 femmine di età media 86.0 ± 6.8) ha assunto un placebo. Ai pazienti è stata somministrata una batteria standardizzata di test neuropsicologici: Mini Mental State Examination (MMSE), Span per cifre, Span per parole, Test di Corsi, fluenza semantica, fluenza fonemica, copia di disegni semplici, 15 Parole di Rey, test di memoria di prosa, Matrici attentive, Figura complessa di Rey e Weigl test. Inoltre è stato valutato il tono dell'umore (Geriatric Depression Scale, GDS), il test del senso dell'olfatto (Sniffin' Sticks) e dello stato di nutrizione (Mini Nutritional Assessment).

Risultati

Al termine dello studio, nel gruppo trattato si è riscontrato un significativo miglioramento nelle funzioni cognitive globali (MMSE, differenza fra medie punteggi grezzi = 1.1, $p < 0.04$), nella memoria a lungo termine episodica dichiarativa per materiale verbale non strutturato (15 Parole di Rey rievocazione immediata, differenza fra medie punteggi grezzi = 4.4, $p < 0.04$), capacità di accesso al lessico per categorie semantiche (fluenza semantica = 1.6, $p < 0.03$). Inoltre, sempre nel gruppo trattato si è dimostrato un significativo miglioramento del tono dell'umore (GDS, differenza fra medie = 3.8, $p < 0.01$), nel test dell'olfatto (differenza fra medie = 0.5, $p < 0.006$) e nello stato nutrizionale (MNA, differenza fra medie = 0.7, $p < 0.03$). Il confronto tra i due gruppi ha evidenziato differenze significative, a favore del gruppo trattato, per tutti i test sopradescritti.

Conclusioni

I risultati di questo studio preliminare dimostrano i benefici del supplemento a base di DHA, fosfolipidi arricchiti in fosfatidilinositolo e melatonina nel controllo del declino cognitivo e della sintomatologia depressiva in pazienti anziani.

PRODOTTI BOTANICI STANDARDIZZATI INNOVATIVI: DALLA PRECLINICA ALL'UTILIZZO UMANO

Paolo Morazzoni, Antonella Riva

Direzione Scientifica e Ricerca di Prodotto, Indena S.p.A., Viale Ortles 12, Milano

L'approccio nutraceutico alla modulazione dei fattori di rischio intermedi collegati a malattie cronico-degenerative rappresenta oggi, soprattutto nei paesi occidentali, una realtà sempre più importante. A questo fine, larghe fasce di popolazione sono oggi infatti coinvolte nell'utilizzo di integratori alimentari (nutraceutici) e ciò implica la necessità di rigorosi controlli della qualità delle materie prime impiegate e degli effetti biologici rivendicati.

In particolare, per quanto riguarda gli estratti vegetali, la disponibilità di metodiche analitiche sempre più sofisticate consente una completa caratterizzazione della materia prima e la verifica della sua riproducibilità a livello industriale. Estratti altamente standardizzati possono quindi essere impiegati per studi sull'organismo animale ed umano consentendo di avvalorare il loro utilizzo in ambito salutistico con particolare riferimento alla modulazione di processi metabolici correlati alla modulazione di fattori di rischio intermedi.

In questo contesto di garanzia della qualità e della solidità dei dati di attività biologica, è anche possibile identificare, attraverso approcci qui di seguito esemplificati, prodotti con un buon grado di innovazione:

- valorizzazione di piante dell'area mediterranea in nuovi ambiti fisiologici (es. controllo della glicemia con l'estratto di carciofo¹);
- miglioramento delle prestazioni funzionali dell'estratto (es. Meriva[®] come aumento di biodisponibilità dell'estratto di curcuma²);
- sviluppo di estratti a partire da piante edibili utilizzate nell'alimentazione mediterranea (es. Oleaselect^{®3}, lupino⁴);
- combinazione razionale di estratti per la modulazione contemporanea di diversi target fisiologici (es. sindrome metabolica).

E' pertanto plausibile assicurare al consumatore finale nutraceutici a base di estratti naturali innovativi, nel rispetto di solidi criteri di qualità chimica e biologica.

Bibliografia

1. Fantini, N. et al. *Phytotherapy Res.* **2010**, DOI: 10.1002/ptr.3285.
2. Jurenka, J.S. *Alternative Medicine Review* **2009**, 14, 141-153.
3. Cerletti, C. et al. 1° Congresso SINut, Milano, Febbraio **2010**.
4. Magni, C. et al. *J. Nutr. Biochem.* **2004**, 15, 646-650.

EFFETTI DELLA GENISTEINA AGLICONE IN DONNE CON SINDROME METABOLICA: TRIAL CLINICO

Francesco Squadrito¹, Alessandra Bitto¹, Domenica Altavilla¹, Herbert Marini²

¹ Dipartimento Clinico Sperimentale di Medicina e Farmacologia, Università degli Studi di Messina.

² Dipartimento di Scienze Biochimiche, Fisiologiche e della Nutrizione, Università degli Studi di Messina.

La genisteina è stata indicata come una possibile alternativa sicura nel trattamento delle complicanze cardiovascolari della menopausa^{1,2}, ed è stato pertanto ipotizzato un suo ruolo nella terapia della sindrome metabolica post-menopausale. Obiettivo della nostra ricerca è stato quello di valutare, in uno studio clinico randomizzato verso placebo, l'efficacia della genisteina nel trattamento della sindrome metabolica postmenopausale. La scelta delle pazienti da arruolare in questo studio è stata effettuata seguendo i criteri NCEP/ATP III che definiscono la sindrome metabolica. In totale sono state scrinate 250 pazienti e 120 sono state arruolate dopo aver firmato il consenso informato. A tutte le pazienti è stata prescritta una dieta ed è stato consigliato di svolgere una moderata attività fisica. Le pazienti sono state quindi assegnate ad uno dei due bracci di trattamento secondo una tabella di randomizzazione computerizzata. Le compresse contenenti il trattamento attivo contenevano genisteina in forma aglicone derivata da estratti di soia con una purezza >98%, ogni compressa conteneva 27 mg di genisteina per un totale giornaliero di 54 mg. Le pazienti con sindrome metabolica che facevano uso di genisteina hanno avuto una riduzione significativa ($p<0.05$) dei livelli serici di glicemia e di insulinemia che hanno determinato una netta riduzione dell'HOMA-IR. Inoltre le pazienti trattate hanno mostrato una riduzione marcata ($p<0.05$) dei livelli di colesterolo totale, di trigliceridi e del colesterolo LDL, insieme ad un netto aumento del colesterolo HDL, suggerendo un effetto protettivo della genisteina nei confronti dell'aterosclerosi.

E' stata anche evidenziata una riduzione nei livelli di leptina plasmatica ed un incremento nei livelli di adiponectina che suggeriscono un ridotto rischio aterosclerotico e quindi di complicanze cardiovascolari. Le pazienti che assumevano genisteina mostravano una riduzione della pressione arteriosa sistolica, accompagnata da una significativa riduzione ($p<0.05$) nei livelli di proteina c reattiva e omocisteina, noti marker di infiammazione e di disfunzione endoteliale associati al rischio cardiovascolare. Questi dati, complessivamente, suggeriscono che la genisteina migliora la sensibilità all'insulina nelle donne in post-menopausa modificando positivamente alcuni marcatori di malattia cardiovascolare. Inoltre è possibile ipotizzare che la genisteina venga utilizzata come un nuovo approccio terapeutico per il trattamento della sindrome metabolica nelle donne in post-menopausa.

Bibliografia

1. Squadrito, F.; et al. *Am J Med* **2003**, 114, 470-6.
2. Crisafulli, A.; et al. *Menopause* **2005**, 12, 186-92.

RUOLO DELLE ANTOCIANINE DEL MAIS NEL CONTENIMENTO DELLE MICOTOSSINE E NELLA PREVENZIONE DELLE MALATTIE CRONICHE

Katia Petroni¹, Roberto Pilu², Elena Cassani, Valentina Calvenzani¹, Eleonora Cominelli¹, Marie-Claire Toufektsian³, Michel de Lorgeril³, Chiara Tonelli¹

¹ Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 26, 20133 Milano (Italy)

² Dipartimento di Produzione Vegetale, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 2, 20133 Milano (Italy)

³ Nutrition, Vieillissement et Maladie Cardiovasculaires, Université Joseph Fourier, Domain de la Merci, 38056 Grenoble (France)

Diversi studi epidemiologici hanno dimostrato che il regolare consumo di alimenti e bevande ricche di flavonoidi è associato con un ridotto rischio di sviluppare malattie degenerative croniche, quali malattie cardiovascolari, cancro e obesità. Le antocianine rappresentano una classe di flavonoidi e costituiscono i pigmenti rossi, porpora, viola e blu presenti in numerosi frutti e ortaggi.

Nell'ambito dei progetti europei FLORA e ATHENA, abbiamo sviluppato tramite incrocio classico diverse linee isogeniche di mais che accumulano elevati livelli di singole classi di flavonoidi, quali acidi idrossicinnamici, flavonoli, flobafeni e antocianine nei semi e negli organi vegetativi attraverso la selezione di opportune combinazioni alleliche di due famiglie di geni regolatori (*C1/Pl1* e *B1/R1*) che controllano l'attivazione della via biosintetica dei flavonoidi in mais¹. Lo scopo è stato quello di fornire cibi modello da utilizzare per determinare il ruolo di specifiche classi di flavonoidi nella prevenzione di malattie cardiovascolari e degenerative in studi pre-clinici su modelli animali.

Alcune di queste linee ad alto contenuto di antocianine o flavonoidi nel seme si sono rivelati un potente sistema di difesa contro la contaminazione da fumonisine, micotossine prodotte da funghi del genere *Fusarium* responsabili di una aumentata incidenza di cancro a fegato ed esofago e dell'insorgenza di spina bifida nel feto. Questi genotipi presentano infatti un livello di fumonisine del 65-87% più basso rispetto a linee incolori di controllo² e comunque inferiore alla soglia di 4 ppm imposta dalla normativa europea per le farine di mais.

Gli studi su modelli animali hanno dimostrato che, a seguito di ischemia coronarica, ratti nutriti per 8 settimane con mais blu ricco in antociani presentano una riduzione del 30% di tessuto cardiaco infartuato rispetto a ratti nutriti con mais incoloro di controllo³. La cardioprotezione si è dimostrata essere associata con un aumento dei livelli di glutazione nel cuore³ e con un aumento dei livelli di omega-3 nel sangue⁴, suggerendo quindi come l'assunzione di antociani nella dieta sia in grado di aumentare le naturali difese dell'organismo.

Bibliografia

1. Pilu, R. et al. *Plant J* **2003**, 36: 510-521.
2. Pilu, R. et al. *J Appl Genet* **2010**, in stampa.
3. Toufektsian, M.C. et al. *J Nutr* **2008**, 138, 747-52.
4. Toufektsian, M.C. et al. *Nutr* **2010**, in stampa.

NUOVA TERAPIA NUTRIZIONALE PER LA CURA DI LEUCODISTROFIE E PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE

Anna Petroni¹, Marco Cappa², Carla Bizzarri², Sebastiano Banni³

¹ Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, via Balzaretti 9, 20133 Milano, Italia

² Unità Operativa di Endocrinologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia 3. Dipartimento di Biologia Sperimentale, Università di Cagliari, Italia

Diverse patologie neurodegenerative possono evidenziare manifestazioni cliniche simili e vie metaboliche comuni, pur avendo una differente eziopatogenesi. Ad esempio nella malattia di Alzheimer, nelle leucodistrofie ed in altre patologie, in particolare croniche, si possono generare degli eventi infiammatori secondari, che contribuiscono alla progressione della malattia. In alcune forme la neurodegenerazione è associata ad alterazioni del metabolismo lipidico.

La terapia nutrizionale è particolarmente importante per una possibile prevenzione o per il controllo del decorso di numerose patologie.

Considerando le leucodistrofie ed in particolare la X-adrenoleucodistrofia (X-ALD), è possibile modulare il metabolismo lipidico e gli eventi infiammatori secondari, con l'apporto di fattori nutrizionali attivi a diversi livelli.

La terapia attuale per la X-ALD a base di un olio :trigliceridi di acido oleico (GTO) ed erucico (GTE), è stata da noi modificata introducendo degli isomeri dell'acido linoleico coniugato (CLA). Questo acido grasso è in grado di aumentare il catabolismo dei lipidi, ha attività antiinfiammatoria, antiossidante ed ha un ruolo nel sistema nervoso ¹.

Lo scopo del nostro studio è stato di somministrare una miscela di isomeri di CLA ed olio (GTO, GTE), a pazienti X-ALD, per determinare se il CLA è in grado di passare attraverso la barriera emato-encefalica e valutarne gli effetti sui parametri biochimici e clinici. Dopo approvazione del comitato etico la miscela è stata somministrata a cinque pazienti per due mesi, le analisi sono state effettuate all'inizio e durante il trattamento.

I risultati ottenuti dimostrano che il CLA passa la barriera emato-encefalica, la funzionalità neurologica viene modificata con un miglioramento dei potenziali evocati, che non si riscontra, in pazienti trattati solo con l'olio (GTO, GTE)².

I nostri risultati aprono la possibilità per una strategia terapeutica nutrizionale mirata alla cura della X-ALD e di altre patologie neurodegenerative.

Bibliografia

1. Fa, M. et al. *BBA* **2005**, 1736, 61-6.
2. Restuccia, D. et al. *Neurology*, **1999**, 4, 810-6.

EFFETTI COMPARATIVI DI DUE FORMULAZIONI PER IL TRATTAMENTO DELLA IPERTROFIA PROSTATICA BENIGNA A BASE DI *SERENOA REPENS*

Francesco Squadrito, Alessandra Bitto, Giuseppe Morgia, Letteria Minutoli, Domenica Altavilla.

Dipartimento Clinico Sperimentale di Medicina e Farmacologia, Università degli Studi di Messina.

I nutraceutici a base di *Serenoa Repens* (SeR) sono spesso utilizzati per il trattamento della ipertrofia prostatica benigna. Le evidenze cliniche di efficacia, della *Serenoa Repens* utilizzata come unico nutraceutico, nella terapia della ipertrofia prostatica sono spesso contrastanti e in alcuni studi non supportano un razionale per l'uso di questi integratori nella pratica clinica. Scopo della nostra ricerca è stato quello di valutare l'efficacia di due formulazioni, una contenente solo SeR e l'altra contenente SeR, Selenio (Se) e Licopene (Ly) in un modello sperimentale "in vivo" ed "in vitro" per ridurre l'ipertrofia prostatica. Nel modello "in vivo" abbiamo utilizzato ratti maschi sottoposti ad iniezioni giornaliere di testosterone (3 mg/kg per 14 giorni) al fine di indurre una ipertrofia prostatica ormono-mediata. Gli animali sono stati contemporaneamente trattati con SeR (25mg/kg) o con la formulazione contenente SeR (25mg/kg)-Se (3mg/kg)-Ly (1mg/kg). Alla fine dei trattamenti è stato valutato il peso della prostata, le caratteristiche istomorfologiche, l'espressione di geni apoptotici (Bax, Bcl-2, caspasi-9) e di fattori di crescita (VEGF, EGF-R). Nello studio "in vitro" abbiamo utilizzato una linea di cellule tumorali (PC3) prostatiche non responsive agli androgeni e le abbiamo incubate con concentrazioni differenti di SeR o di SeR-Se-Ly per 24 ore. Alla fine dell'esperimento sono stati valutati la vitalità ed il numero di cellule, l'espressione di geni apoptotici (Bax, Bcl-2, caspasi-9) e di fattori di crescita (VEGF, EGF-R).

In entrambi i protocolli sperimentali è stato possibile osservare una inibizione della crescita del tessuto e delle cellule prostatiche dopo trattamento con SeR, tale inibizione risultava essere ancora più evidente con l'uso della formulazione SeR-Se-Ly. L'inibizione della crescita prostatica sia "in vivo" che "in vitro", risultava dipendente da una induzione dell'apoptosi mediata sia da caspasi-9 che dall'incremento di Bax e dalla inibizione di Bcl-2. Inoltre anche l'espressione dei fattori di crescita risultava particolarmente ridotta dal trattamento con SeR, soprattutto se usata in combinazione con Se e Ly. Questi risultati ci permettono di delineare un profilo farmacologico della associazione di nutraceutici SeR-Se-Ly che trovano un razionale nel trattamento dell'ipertrofia prostatica benigna in quanto riducono la crescita delle cellule prostatiche indipendentemente dallo "stato ormonale".

EFFETTI DEI LACTOTRIPEPTIDI ASSUNTI COME ALIMENTO FUNZIONALE SU MONITORAGGIO PRESSORIO AMBULATORIALE NELLE 24 ORE, INCREMENTO DELLA PRESSIONE SANGUIGNA STRESS-INDOTTA, PULSE WAVE VELOCITY E PARAMETRI CORRELATI ALL'OUTPUT CARDIACO: UNA SPERIMENTAZIONE CLINICA, A DOPPIO CIECO, RANDOMIZZATA.

Arrigo F.G. Cicero, Martina Rosticci, Beatrice Gerocarni, Claudio Borghi

Dip. di Medicina Interna, dell'Invecchiamento e Malattie nefrologiche, Alma Mater Studiorum Università di Bologna

Dati parzialmente contrastanti supportano una certa efficacia anti-ipertensiva dei lactotripeptidi derivati da trattamenti enzimatici di caseina idrolizzata.^{1,2} Il nostro scopo è stato valutare questo effetto su un largo numero di parametri emodinamici.

Nel contesto di uno studio clinico randomizzato in doppio cieco, effettuato su 52 pazienti affetti da pressione arteriosa normale-alta o ipertensione di primo grado, abbiamo valutato l'effetto di 6 settimane di trattamento con lactotripeptidi (LTP) IPP/VPP 3 mg/giorno assunti come alimento funzionale sui seguenti parametri: pressione ambulatoriale sistolica, diastolica, frequenza e pressione media, pressione sistolica, diastolica, e polso pressorio delle 24 ore, incremento di pressione sistolica, diastolica, e pressoria stress-indotta, pulse-wave velocity, output cardiaco, indice cardiaco, resistenze sistemiche vascolari, indice di resistenza sistemica vascolare, gittata sistolica, indice di gittata sistolica, contenuto di fluido toracico, indice di accelerazione, indice di lavoro cardiaco sinistro, periodo di pre-eiezione, tempo di eiezione ventricolare sinistra, indice di velocità, rapporto di tempo sistolico.

Nei soggetti trattati con LTP, abbiamo osservato una riduzione significativa della pressione arteriosa sistolica ambulatoriale (-5 ± 8 mmHg, $p= 0.013$) ed un significativo miglioramento della pulse-wave velocity (-0.66 ± 0.81 m/s, $p= 0.001$) (biomarker strumentale di rigidità vascolare). Nessun effetto di entrambi i trattamenti è stato osservato per quanto riguarda i parametri della ABPM nelle 24-h e come reazione della pressione sanguigna allo stress. LTP, ma non il placebo, sono associati con una leggera ma significativa variazione della gittata sistolica e dell'indice di gittata sistolica (marcatori della portata cardiaca), indice di accelerazione e indice di velocità (marcatori della contrattilità cardiaca). Nessun effetto è stato osservato su parametri connessi a fluidodinamica o resistenza vascolare.

I LTP assunti come alimento funzionale influenzano positivamente il controllo della pressione arteriosa sistolica ambulatoriale, pulse-wave velocity, gittata sistolica, indice di gittata sistolica, indice di accelerazione e indice di velocità in pazienti con pressione sanguigna normale-alta o ipertensione di primo grado.

Bibliografia

1. Cicero, A.F.G. et al. *J Hum Hyper* **2010**, in stampa.
2. Cicero, A.F.G. et al. *J Med Food* **2010**, in stampa.

EFFETTO ANTIRADICALICO DI ESTRATTI FENOLICI DA *THEBROMA CACAO L.*, CLOVAMIDE ED EPICATECHINA SU CARDIOMIOBLASTI H9C2 DI RATTO ESPOSTI A STRESS OSSIDATIVO

Marco Arlorio¹, Andrea Zamperone², Jean Daniel Coïsson¹, Fabiano Travaglia¹, Monica Locatelli¹, Stefano Pietronave², Aldo Martelli¹, Maria Prat²

¹ Dipartimento di Scienze Chimiche, Alimentari, Farmaceutiche e Farmacologiche & DFB Center, via Bovio 6, Novara

² Dipartimento di Scienze Mediche, Via Solaroli 17, Novara

Cacao e derivati mostrano proprietà antiossidanti ed antiradicaliche correlabili ad una vasta serie di bioattività funzionali per il mantenimento dello stato di salute dell'uomo. Dagli studi *in vivo* sulla biodisponibilità dei polifenoli del cacao, si può presumere che alcuni di questi (acidi fenolici, epicatechina e catechina, clovamide, procianidine dimere, flavonoidi minori) possano essere bioaccessibili e biodisponibili in larga misura. Come noto le patologie a carico del sistema cardiovascolare rappresentano la prima causa di morbilità e mortalità nei paesi occidentali. I composti fenolici del cacao sono funzionali al miglioramento di quadri legati all'ipertensione, alle dislipidemie ed alle situazioni infiammatorie, fenomeni correlati alle disfunzioni cardiovascolari e cardiocircolatorie^{1,2}. Le proprietà antiradicaliche di clovamide, un composto minore del cacao³ potenziale antiaggregante piastrinico⁴, potrebbero essere funzionali alla riduzione del danno ischemico a livello del tessuto cardiaco, cui segue stress ossidativo nella fase di riperfusione, responsabile ultimo della perdita di cardiomiociti⁵.

In questo lavoro si sono studiate le proprietà *radical scavenging* di clovamide, epicatechina ed acido rosmarinico in un modello di cardiomioblasti (linea cellulare H9c2), valutando l'inibizione sul rilascio di ROS (reactive oxygen species) a seguito di trattamento con H₂O₂. I polifenoli di cacao (frazionati mediante Solid Phase Extraction in basso, medio e alto peso molecolare e caratterizzati per HPLC-DAD) sono stati studiati sullo stesso modello, valutando anche l'effetto di teobromina. Si è inoltre valutato l'effetto protettivo di polifenoli del cacao e di clovamide nella protezione dei cardiomioblasti da morte cellulare programmata (apoptosi), indotta da H₂O₂. Clovamide, epicatechina ed acido rosmarinico, a concentrazioni micro-nanomolari, inibiscono drammaticamente il rilascio di ROS, confermando la funzionalità dei composti fenolici di cacao. Inoltre, in esperimenti preliminari, clovamide e acido rosmarinico proteggono i cardiomioblasti da apoptosi.

I dati ottenuti rappresentano un ulteriore supporto alla biattività del cacao a protezione delle patologie cardiocircolatorie ed in particolare a supporto della protezione al danno ischemico.

Bibliografia

1. Desch, S.; et al. *Am J Hypertens* **2010**, 23(6), 694-700.
2. Mellor, D. D.; et al. *Diabet Med* **2010**, 27(11), 1318-21.
3. Arlorio, M.; et al. *Food Chem* **2008**, 106(3), 967-975.
4. Park, J.B. *FASEB Journal* **2005**, 19, 497-502.
5. Kang, P. M.; et al. *Circ Res*, **2000**, 87, 118-125.

PROTEINE DI SOJA E PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE

Cesare R. Sirtori

Professore Ordinario di Farmacologia Clinica, Preside Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Milano

I bassi livelli di colesterolo nei vegetariani sono un fenomeno noto da decenni ed associato a numerose variabili (pochi grassi saturi, molte fibre, ecc.). La prima dimostrazione dell'effetto benefico delle proteine di soia sulla colesterolemia risale ad uno studio clinico milanese pubblicato nel 1977¹. Si trattava di condizioni estreme: la somministrazione esclusiva di proteine vegetali, senza proteine animali, in pazienti con ipercolesterolemia grave (media attorno a 325 mg/dl), che non avevano alternative a questa dieta essendo ricoverati in ospedale. Questo studio, che ha aperto la moderna nutraceutica, oggi non potrebbe più essere riprodotto in queste stesse condizioni. Negli anni successivi sono stati pubblicati numerosi studi che solo in parte hanno confermato i risultati del primo, in quanto nessuno aveva esattamente le stesse caratteristiche: alcuni erano addirittura su soggetti normocolesterolemici. Questi studi sono stati analizzati criticamente in una storica meta-analisi di Anderson et al² che ha messo in evidenza come la risposta al trattamento con proteine di soia abbia una dipendenza quadratica dalla colesterolemia basale, con un effetto marcatissimo nei gravi ipercolesterolemici e nettamente più modesto nei soggetti con colesterolemia poco sopra la norma. Qualche anno dopo la Food and Drug Administration statunitense ha stabilito che i prodotti a base di proteine di soia riportino in etichetta la frase: "25 g di proteine al giorno possono ridurre la malattia cardiovascolare".

Molti studi hanno esaminato il *meccanismo dell'attività ipocolesterolemica* delle proteine di soia, che non è legata ad un ridotto assorbimento lipidico intestinale, bensì ad un'attivazione del recettore epatico per le lipoproteine a bassa intensità (LDL). Per quanto riguarda il componente effettivamente attivo, la maggior parte dei dati converge sul fatto che si tratti di specifiche frazioni proteiche: recentemente sono stati descritti due peptidi, di diversa lunghezza, in grado di esercitare questo meccanismo.

Alcuni studi pubblicati nell'ultimo decennio hanno tuttavia portato una certa confusione nel settore. Le proteine utilizzate negli esperimenti iniziali condotti a Milano erano prive di *fitoestrogeni*, molecole simili agli estrogeni, ma con caratteristiche farmacodinamiche tuttora controverse. Il loro impiego nella menopausa ha fornito risultati contraddittori, come sono contraddittori i dati epidemiologici che dimostrerebbero un effetto protettivo contro tumori ormono-dipendenti (mammella, prostata, ecc.). Di fatto alcuni studi ed alcune meta-analisi hanno suggerito una possibile attività dei fitoestrogeni sulla colesterolemia.

Sono poi comparsi studi, in particolare uno sponsorizzato dall'American Heart Association (AHA)³, che hanno indicato una risposta colesterolemica media assai modesta negli studi recenti con aggiunte quotidiane di 25-30 g di proteine di soia alla dieta, per lo più con fitoestrogeni. Una rivalutazione di questi dati⁴ ha però dimostrato ancora una volta che vale il criterio previsionale di Anderson, cioè che la risposta risente in modo quadratico della colesterolemia iniziale, generalmente molto bassa negli studi recenti.

Il risultato finale di questa raccolta di dati non sempre razionale è stata la presentazione all'European Food Safety Authority (EFSA) del dossier a sostegno di un health claim europeo per l'attività ipocolesterolemica delle proteine di soia. Gli studi presentati erano per lo più recenti (trascurando quindi gli studi storici tuttora incontestabili) con aggiunte diverse di proteine di soia con e senza fitoestrogeni e senza mettere bene in luce il ruolo delle proteine. Di tutti questi studi EFSA ne ha considerati come validi soltanto quattro e tutti con caratteristiche discutibili! L'opinione negativa da parte di EFSA ha portato ad un danno grave alla diffusione degli alimenti funzionali a base di proteine di soia, che rappresentano invece un utile strumento di prevenzione e trattamento, consolidato da una pratica clinica ormai trentennale.

Bibliografia

1. Sirtori, C. R.; Agradi, E.; Conti, F.; Mantero, O.; Gatti, E., *Lancet* **1977**, 1, 275-7.
2. Anderson, J. W.; Johnstone, B. M.; Cook-Newell, M. E., *N Engl J Med* **1995**, 333, 276-82.
3. Sacks, F. M.; Lichtenstein, A.; Van Horn, L.; Harris, W.; Kris-Etherton, P.; Winston, M., *Circulation* **2006**, 113, 1034-44.
4. Sirtori, C. R.; Eberini, I.; Arnoldi, A., *Br J Nutr* **2007**, 97, 816-22.

AMINOACIDI RAMIFICATI: SALUTE E LONGEVITÀ

Enzo Nisoli

Dipartimento di Farmacologia, Chemioterapia e Tossicologia Medica, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Milano

L'invecchiamento è un processo naturale che riduce la resistenza allo stress, aumenta la suscettibilità a svariate malattie (malattie cardiovascolari, tumori, diabete, sarcopenia, osteoporosi, malattie neurodegenerative) e aumenta la probabilità di morte. Dagli studi più recenti emerge che il processo di invecchiamento è il risultato di eventi che si succedono in modo plastico e sono, quindi, aperti a possibili modificazioni. Tra i numerosi processi biologici influenzati dall'invecchiamento, uno dei più significativi è la ridotta attività e biogenesi mitocondriale, con aumento del danno ossidativo. La restrizione calorica, i polifenoli come il resveratrolo e l'esercizio fisico moderato, che riducono il deficit mitocondriale associato con l'invecchiamento, promuovono il benessere e aumentano la sopravvivenza nei mammiferi.

A metà degli anni '70 si è scoperto che gli aminoacidi ramificati (BCAA) e, in particolar modo, la leucina sono dei potenti regolatori del turnover proteico e possiedono benefici effetti sia negli animali che nell'uomo. In particolare, si è dimostrato che la somministrazione di una miscela di aminoacidi arricchita in BCAA (BCAAem) diminuisce la suscettibilità ad alcune patologie legate all'età, come la sarcopenia, l'insulino-resistenza, il diabete di tipo 2 e le disfunzioni cardiovascolari nell'animale e nell'uomo. Di particolare interesse sono, poi, recenti osservazioni che indicano che leucina, isoleucina e valina aumentano la sopravvivenza dei lieviti. Ciononostante, non è stato finora indagato il loro ruolo nei processi di mitocondriogenesi. A tale scopo abbiamo voluto verificare gli effetti della BCAAem sui marcatori della mitocondriogenesi. In particolare sono stati indagati gli effetti di diverse concentrazioni della miscela sulla quantità di DNA mitocondriale, sui livelli dell'RNA messaggero dei geni coinvolti nella mitocondriogenesi (PGC-1 α , NRF1, Tfam), sull'attività della citrato sintasi e sulla produzione di ATP in diverse linee cellulari cardiache, muscolari scheletriche e adipose. Le stesse analisi sono state condotte nel tessuto muscolare cardiaco e scheletrico, e nel tessuto adiposo bianco e bruno di topi maschi di diverse età. I nostri risultati dimostrano che la miscela aminoacidica è in grado di stimolare la biogenesi mitocondriale in maniera eNOS-dipendente, nelle cellule cardiache e muscolari scheletriche ma non in quelle adipose, oltre che nei tessuti muscolari cardiaci e scheletrici ma non nei tessuti adiposi dei topi anziani (15-18 mesi), più che in quelli di giovane età (4-6 mesi). Inoltre, la funzionalità muscolare degli animali trattati migliora in maniera significativa rispetto ai non trattati. La supplementazione si accompagna a un aumento dei sistemi di difesa contro i radicali liberi (ROS), i cui livelli diminuiscono nel muscolo cardiaco e scheletrico. Infine, la sopravvivenza media degli animali supplementati con BCAAem aumenta in maniera significativa nei topi wild-type ma non nei topi eNOS knockout. Questi risultati suggeriscono che specifiche miscele di aminoacidi possono modulare il metabolismo energetico, diminuendo la produzione di ROS, migliorare la funzionalità muscolare e cardiaca e estendere la sopravvivenza in mammiferi di età avanzata. Studi clinici nell'uomo sono in avanzata fase di attuazione.

ACETYL -L- CARNITINE AND HYPERTENSION

Piero Ruggenenti MD

Clinical Research Center for Rare Diseases, Mario Negri Institute for Pharmacological Research and Unit of Nephrology, Azienda Ospedaliera "Ospedali Riuniti di Bergamo", Bergamo, Italy

In the early 1990s, Capaldo et al.¹ observed that whole body glucose use was acutely increased by L-carnitine intravenous infusion in insulin resistant subjects with type 2 diabetes mellitus. Subsequent studies showed that this effect is mediated by increased glucose storage and oxidative glucose use, possibly through improved carnitine-mediated lipid metabolism. Indeed, carnitine acts as an obligatory cofactor for β -oxidation of fatty acids by facilitating the transport of long-chain fatty acids across the mitochondrial membrane as acylcarnitine esters. Additional mechanisms include a control action of carnitine on key enzymes involved in glucolysis and gluconeogenesis. Similar effects have also been observed with acetyl-L-carnitine, a derivative product of carnitine available for oral administration that, after ingestion, is in large part hydrolyzed to L-carnitine. The acetyl moiety is either rapidly used or stored as acyl-esters of varying chain length, in particular, in skeletal and cardiac muscles. Thus, we hypothesized that chronic acetyl-L-carnitine therapy might help in achieving a sustained improvement of insulin-dependent glucose disposal and, consequently, of the cluster of functional and metabolic abnormalities associated with the insulin-resistant status, including arterial hypertension. To address this issue we evaluated the effects of chronic supplementation of acetyl-L-carnitine on insulin sensitivity and several components of the metabolic syndrome in a cohort of subjects with insulin resistance. Subjects with normal or near-normal insulin sensitivity, but with clinical components of the metabolic syndrome, served as controls.² Data showed that, 6-month oral supplementation with acetyl-L-carnitine significantly reduced the arterial BP, increased plasma adiponectin levels, and improved the overall cardiovascular risk profile: effects that progressively waned after treatment withdrawal. In those who were more insulin resistant at inclusion, treatment also ameliorated insulin sensitivity and glucose tolerance, an effect that was associated with a reduced prevalence of the metabolic syndrome. The above findings could not be explained by changes in diet, physical activity, or pharmacological therapy that were not modified throughout the whole study period, or in body weight and body mass index that were stable over time. Thus, treatment with acetyl-L-carnitine appears to be particularly suitable for patients with obesity and/or type 2 diabetes mellitus, who often are either hypertensive and insulin resistant. With the available armamentarium of antihypertensive medications, achieving recommended systolic BP targets is often difficult, in particular, in patients with type 2 diabetes mellitus and nephropathy. Whether the availability of a novel therapeutic option that appears to be particularly effective in reducing the systolic BP may help limiting cardiovascular disease in this population is worth investigating.

References

1. Capaldo B et al., Diabetes Res Clin Pract. 1991; 14: 191–195
2. Ruggenenti P et al, Hypertension. 2009; 54:567-574

NELLA PREVENZIONE SECONDARIA, UTILIZZO DI INTEGRATORE ALIMENTARE PER RAGGIUNGERE I VALORI TARGET TERAPEUTICI DI COLESTEROLO.

*Andrea Macchi, *Irene Franzoni, *Fabio Buzzetti, *Isabella Rosa, *Riccardo Gorla, **Giovanni V. Gaudio, *Alberto Margonato

* Dipartimento di Cardiologia, Ospedale San Raffaele, Milano

** S.O. Somma Lombardo Azienda Ospedaliera S. Antonio Abate Gallarate

Introduzione. L'ipercolesterolemia si associa ad un incremento del rischio cardiovascolare. La terapia ipolipemizzante ha l'obiettivo di ridurre il colesterolo LDL (LDL) e aumentare il colesterolo HDL (HDL). L'ATP III ha indicato che LDL deve essere < 70 mg/dl nei pazienti (pz) con elevato rischio cardiovascolare ed in prevenzione secondaria, valore spesso difficile da raggiungere solo con alti dosaggi di statine, anche per la frequente comparsa di effetti collaterali. Scopo dello studio è valutare l'efficacia e la tollerabilità dell'associazione tra statina e un integratore alimentare di Policosanolo, Lievito Rosso, Berberina, Acido Folico, Coenzima Q10 e Astaxantina sul profilo lipidico in pz in prevenzione secondaria.

Metodi. Sono stati arruolati e randomizzati 65 pz (47 maschi; età 64±7,1 anni) ipercolesterolemici in prevenzione secondaria, con valori non a regime (colesterolo LDL < 70 mg/dl) con sola statina: al primo gruppo (n=32) è stato incrementato il dosaggio di statina; al secondo gruppo, che comprende anche pz che avevano avuto effetti collaterali secondari all'aumento del dosaggio di statina, è stato aggiunto l'integratore alimentare di Policosanolo (10mg), Lievito Rosso (200mg), Berberina (500mg), Acido Folico (0,2mg), coenzima Q10 (2mg) e Astaxantina (0,5mg) (n=33). L'obiettivo primario era valutare i valori di colesterolo totale, LDL, HDL, trigliceridi, glicemia, emoglobina glicata, microalbuminuria, CK, AST, ALT al basale e dopo 4 mesi di terapia con l'aumento del dosaggio di statina o l'aggiunta dell'integratore; l'obiettivo secondario la tollerabilità della terapia e gli eventuali effetti collaterali.

Risultati. Dopo 4 mesi, si osservava nel gruppo trattato con l'aumento del dosaggio di statina una riduzione statisticamente significativa del colesterolo totale (165±13,2 vs 145±12,3 p<0,05), LDL (88±7,5 vs 68±4,5 p<0,05) e dei trigliceridi (157±15,2 vs 134±17,2 p=0,04) ed un aumento significativo dei valori di HDL (44±6,1 vs 50±11,1 p<0,05). Nel gruppo trattato con l'integratore alimentare si evidenziava una riduzione statisticamente significativa di colesterolo totale (169±15,2 vs 148±12,3 p<0,05), LDL (91±6,2 vs 70±1,5 p<0,05) e di trigliceridi (160±8,6 vs 149±21, p<0,05) ed una tendenza all'aumento, pur non significativo di colesterolo HDL (43±3,1 vs 45±12,4 p=0,1). La riduzione di LDL raggiungeva il 20%, simile al valore raggiunto incrementando il dosaggio di statina. Non si sono osservate modificazione di glicemia, emoglobina glicata e microalbuminuria. Inoltre, mentre nel gruppo di pz trattati aumentando dosaggio di statina, abbiamo osservato 3 casi di mialgia con aumento dei valori di CK; nel gruppo trattato con l'integratore alimentare non ci sono stati casi di incremento né dei valori di CK né di transaminasi.

Conclusioni. L'integratore alimentare di Policosanolo, Lievito Rosso, Berberina, Acido Folico ed antiossidanti, in aggiunta a statina, riduce significativamente i livelli di colesterolo totale, LDL e trigliceridi ed aumenta i livelli di HDL in breve periodo ed in assenza di effetti collaterali aggiuntivi in pz ipercolesterolemici in prevenzione secondaria.

OBESITA', OMEGA-3 E FLUIDITA' DI MEMBRANA

Benvenuto Cestaro, Roberta Cazzola

Dipartimento di Scienze Cliniche "L. Sacco" - Facoltà di Medicina e Chirurgia - Università degli Studi di Milano

Numerosi studi, hanno dimostrato una correlazione tra obesità e fluidità di membrana [1, 2]. Alcune recenti ricerche da noi condotte hanno messo in evidenza che gli eritrociti di donne obese rispetto a quelli dei controlli normopeso presentavano una significativa riduzione dei livelli dei principali antiossidanti, della fluidità e del rapporto tra gli acidi grassi omega-3 e omega-6 delle loro membrane, e che le tali alterazioni strutturali e funzionali erano significativamente più marcate nelle obese con sindrome metabolica [3]. La letteratura scientifica ha dimostrato che la fluidità e la composizione fosfolipidica delle membrane eritrocitarie correla significativamente con quella delle cellule neuronali e di molti altri tessuti, e che l'alterata fluidità delle membrane neuronali concorre a ridurre l'efficienza dei recettori per i mediatori del controllo della sazietà e della termogenesi dell'asse "gut-brain" (anandamide, 2-o-arachidonoil-glicerolo, neuropetide Y, Agouti-related peptide, etc.). Da tutto ciò si evince che queste alterazioni strutturali e funzionali delle membrane degli obesi possono contribuire a peggiorare ulteriormente il controllo del peso corporeo ed il rischio di insorgenza della sindrome metabolica. Inoltre, la perdita di fluidità delle membrane e la riduzione dei livelli dei principali antiossidanti diminuisce a livello mitocondriale l'efficienza degli enzimi della catena respiratoria nel produrre ATP. Di conseguenza si riduce l'attività delle ATP-asi per lo ione Ca e ciò comporta un aumento della sua concentrazione intracellulare. L'aumento del Ca attiva la fosfolipasi A2 e promuove il rilascio dai fosfolipidi degli acidi grassi polinsaturi della serie omega-6 (ac. Arachidonico) e della serie omega-3 (ac. Docosaesanoico, DHA). Numerose sono le correlazioni tra queste alterazioni metaboliche e l'obesità. In particolare, le evidenze della letteratura dimostrano che:

- A livello cerebrale, il calo del DHA legato ai fosfolipidi (DHA-PL) concorre a promuovere: a) un ulteriore irrigidimento delle membrane e di conseguenza un aumento della resistenza all'insulina; b) l'attivazione delle lipo- e delle ciclo-ossigenasi e di conseguenza un aumento dell'infiammazione e della vasocostrizione tissutale; c) il rilascio (DHA-PL- indotto) di diversi mediatori che concorrono ad aumentare la sensazione di fame ed a regolare la termogenesi.
- A livello epatico, il calo del DHA-PL diminuisce sia la beta-ossidazione perossisomale degli acidi grassi che l'attività della stearoil-coenzima A desaturasi; un calo d'attività di quest'ultimo enzima si è dimostrato strettamente correlato con l'aumento della steatosi epatica, dell'insulino- resistenza e del peso corporeo.
- A livello eritrocitario, infine, il calo di DHA-PL, promuovendo un irrigidimento della membrana rallenta le velocità di cessione dell'ossigeno ai diversi tessuti. Da qui, una diminuzione del metabolismo ossidativo e della termogenesi ed un aumento dell'infiammazione.

Alla luce di tutte queste evidenze scientifiche si può dunque concludere che uno degli obiettivi più importanti da perseguire per assicurare il corretto funzionamento dei mediatori dell'asse "gut-brain", atto a prevenire sia l'obesità che la sindrome metabolica, è quello di contrastare il calo del DHA-PL conseguente alla diminuzione di fluidità delle membrane ed all'aumento del Ca e dei processi d'infiammazione e di perossidazione ad esso correlati.

Bibliografia

[1] D.A. Pan, A.J. Hulbert, L.H. Storlien, *J Nutr* 124 (1994) 1555-1565.

[2] A. Scalbert, G. Williamson, *J Nutr* 130 (2000) 2073S-2085S.

[3] R. Cazzola, M. Rondanelli, R. Trotti, B. Cestaro, *J Nutr Biochem. Available online 8 July 2010*
[doi:10.1016/j.jnutbio.2010.03.007](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.03.007)

ASSUNZIONE DI ACIDI GRASSI OMEGA 3. QUAL'É IL VEICOLO MIGLIORE : CAPSULE, PESCE O LATTE ?

Claudio Galli

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

Introduzione.

L'importanza nutrizionale e biologica degli acidi grassi polinsaturi a lunga catena (AGP-LC) della serie Omega 3 (n-3), documentata da un'ampia letteratura scientifica, si fonda su solidi principi alla base dell'organizzazione degli organismi viventi, dai più semplici all'uomo. In sintesi : **a.** Svolgono ruoli essenziali nel modulare struttura e funzione delle membrane biologiche, in particolare di quelle a più elevato livello di specializzazione (sinapsi, retina, miocardio); **b.** Non sono biosintetizzabili "de novo" negli animali e, nell'uomo, la sintesi dei composti a lunga catena, EPA (eicosapentaenoico, 20:5 n-3) e soprattutto DHA (docosaesaenoico, 22:6 n-3) dal precursore alfa linolenico (ALA, 18:3 n-3), è poco efficiente; **c.** Sono presenti in quantità limitate nelle diete convenzionali, con notevoli differenze tra popolazioni e individui per diverse abitudini alimentari, e in genere gli apporti sono inferiori alle raccomandazioni (circa 0.5 g / die, FAO/WHO 2009).

Omega 3 nella catena alimentare.

Dalla comparsa di tali AG in organismi semplici nel mondo acquatico e marino, tramite la catena alimentare, coinvolgente specie animali diverse, fino all'uomo, hanno contribuito a mantenere un apporto continuato nel corso dell'evoluzione. La specie umana, caratterizzata da un rapido sviluppo perinatale di organi e sistemi, quali in sistema nervoso centrale, ad alto contenuto in lipidi strutturali per l'alto contenuto in membrane, è "attrezzata" ad affrontare il problema di un'apporto adeguato all'organismo di AGP-LC n-3 in tale periodo, tramite il trasferimento di tali acidi grassi dalla madre al feto tramite la placenta e poi attraverso l'allattamento, essendo il latte umano, rispetto a quello di altri mammiferi, molto ricco in tali composti.

Biodisponibilità degli Omega 3 in rapporto alla matrice.

Le convincenti evidenze di effetti preventivi di un apporto ottimale e continuato di AGP-LC n-3, nei confronti di patologie cardiovascolari e di altri sistemi, in questi ultimi anni hanno molto sviluppato la richiesta di preparazioni "ad hoc" di tali composti per trattamenti adeguati. Tuttavia, mentre i trattamenti di situazioni cliniche che richiedono la somministrazione tempestiva di alti dosaggi, suggeriscono l'uso di formulazioni "ad hoc", assunzioni adeguate si possono ottenere con il consumo sistematico di cibi naturalmente ricchi in tali AG (es pesce) e di alimenti naturali, selezionati per le loro caratteristiche, che consentano un efficiente assorbimento anche di piccole quantità di Omega 3. Studi condotti nei nostri laboratori hanno dimostrato una biodisponibilità molto più efficiente, con il consumo di pesce, e, per quanto riguarda l'Omega 3 (ALA), con il consumo di noci e di carni di erbivori non ruminanti (cavallo) che non di preparazioni farmaceutiche.

Omega 3 veicolati col latte bovino o derivati.

L'approccio più razionale è la somministrazione di tali composti incorporati nel latte bovino o in derivati. Il latte nei mammiferi, a differenza di tutti gli altri alimenti naturali della dieta, è specificamente prodotto per essere consumato, specialmente nel periodo critico dello sviluppo post natale. Ha un elevato contenuto di macro e micro nutrienti, ed i grassi sono contenuti in forma di micelle che ne facilitano l'assorbimento. Inoltre il latte è un alimento usato su larga scala dalla popolazione. Vari studi sono stati da noi condotti utilizzando latte prodotto da Parmalat, contenente AG Omega 3. In uno studio clinico controllato condotto presso il Centro Diretto dal Prof Sirtori, Ospedale di Niguarda, in un numero tuttavia limitato di soggetti sani si è osservato un incremento rilevante (circa il 30 %) dei livelli plasmatici anche con assunzioni di piccole quantità (300 mg/die di EPA + DHA) per 6 settimane, unitamente a riduzione significativa di TG e ad aumento di HDL-C. Uno studio più recente, condotto presso l'Istituto S. Raffaele, sotto la direzione della Dott. Scavini, su un maggior numero di soggetti maschi sani somministrando per 8 settimane, dopo 2 settimane a dieta controllata, 500 mL o di un latte con Omega 3 (300 mg /die) (gruppo A, 71 soggetti) o di un

latte senza Omega 3 (Gruppo B, 75 soggetti), ha osservato un incremento apprezzabile degli Omega 3, soprattutto di EPA (+27%), nei lipidi ematici del gruppo A rispetto ai controlli, nei quali, a dieta povera di Omega 3, vi era inoltre una riduzione rispetto ai livelli iniziali. Infine uno studio condotto in 50 soggetti sani (25 M e 25 F) con il consumo di due confezioni di yoghurt da 115 g /die, contenenti solo 180 mg EPA + DHA per un periodo di 6 settimane, dopo 2 settimane a dieta controllata e seguito da un periodo di 4 settimane senza trattamento, ha osservato un apprezzabile aumento dei livelli ematici di tali AG (soprattutto di EPA), con incrementi maggiori nelle donne rispetto agli uomini. I livelli di EPA scendono più rapidamente di quelli di DHA dopo sospensione del trattamento.

Conclusioni.

In conclusione si può affermare che il consumo di latte o derivati (yoghurt) arricchiti in Omega 3 ne facilita l'assorbimento e consente di innalzare i livelli ematici di tali composti, importanti per il mantenimento dello stato di salute. Il consumo sistematico giornaliero di latte con tali caratteristiche è pertanto indicato per il raggiungimento e mantenimento delle assunzioni raccomandate.

I MECCANISMI DEGLI EFFETTI BENEFICI DEGLI ANTIOSSIDANTI NATURALI

Francesco Visioli

IMDEA-Food, Madrid, Spain

I risultati degli studi epidemiologico-osservazionali sono chiari: un elevato consumo di sostanze ad attività antiossidante (in vitro) si associa a miglior prognosi cardiovascolare e – in misura minore – a chemoprevenzione.

Sulla base di numerosi studi in vitro che dimostrano il coinvolgimento dei processi ossidativi nella patogenesi delle malattie degenerative, è stata proposta l'ipotesi secondo la quale vitamine e polifenoli svolgerebbero i loro effetti preventivi proprio grazie alle loro proprietà antiossidanti. Questa teoria sta, in realtà, vacillando perché i trials clinici (soprattutto quelli con vitamina E) hanno dato risultati negativi e perché non si riescono ad ottenere in vivo prove incontrovertibili delle attività antiossidanti di queste sostanze.

In sintesi, mancando biomarkers di attività antiossidante e mancando risultati convincenti di trials clinici randomizzati, l'ipotesi che consumare antiossidanti in quantità tali faccia bene alla salute non è mai stata verificata. Diverse linee di pensiero ipotizzano che quanto si riscontra in vitro (attività antiossidante nei confronti di varie macromolecole) non si verifichi in vivo, anche a seguito della bassa biodisponibilità di questi composti.

Un'ipotesi alternativa si basa sul concetto di ormesi, in cui stimoli nocivi di bassa entità stimolano la risposta innata dell'organismo e permettono di prevenire danni cellulari e tissutali. Le vie di segnale che mediano queste risposte passano attraverso nrf2 e stimolano la produzione di antiossidanti endogeni tramite l'Antioxidant Response Element.

In conclusione, le ricerche attuali non permettono di attribuire a vitamine e polifenoli attività antiossidante dirette in vivo (peraltro probabilmente di bassa rilevanza in termini percentuali), ma suggeriscono un ampio ventaglio di azioni che sono in fase di elucidazione.

I DISTURBI DEL SONNO NEL PAZIENTE ANZIANO

M. Rondanelli¹, A. Opizzi¹, M. Faliva¹, S. Perna¹, N. Antonello², F. Segù², M. Zavaglia², D. Cavigliani²

¹Dipartimento di Scienze Sanitarie Applicate e Psicocomportamentali, Sez. di Nutrizione Umana, Azienda di Servizi alla Persona, Univ degli Studi di Pavia, ²Direzione Medica, RSA "F. Pertusati", Pavia,

Gli anziani sono spesso insoddisfatti del loro sonno: lamentano difficoltà di addormentamento, risveglio mattutino precoce e sonno non ristoratore con stanchezza e/o sonnolenza diurna. In uno studio condotto da Partinen su una popolazione di oltre trentamila soggetti finlandesi è emerso che il 20% degli ultrasessantenni, contro il 4% dei soggetti di età compresa fra i 18 e i 29 anni, riferiva di dormire meno di sei ore per notte, di avere difficoltà di addormentamento e di riportare un sonno non ristoratore. Anche l'eccessiva sonnolenza diurna, da sola o accompagnata da astenia, sensazione di testa confusa, facile affaticabilità, difficoltà di concentrazione, ipersonnia è un problema di frequente riscontro nell'anziano. La sonnolenza diurna è, quindi, un sintomo dei disturbi del sonno da non trascurare: nel *Cardiovascular Health Study* condotto su 5888 anziani, tra i disturbi del sonno, soltanto la sonnolenza diurna risultava essere un fattore associato alla mortalità e morbilità cardiovascolare. Molti studi hanno cercato di appurare se l'insonnia sia una conseguenza inevitabile della senilità o se essa dipenda invece dalle situazioni patologiche che più frequentemente coinvolgono l'età avanzata: rilevazioni polisomnografiche in soggetti anziani perfettamente sani dimostrano che col progredire dell'età diminuiscono sia la continuità, sia la profondità del sonno: aumenta, infatti, il numero dei risvegli transitori e si abbrevia il sonno a onde lente e, seppure in misura meno rilevante, anche il sonno REM. Inoltre gli anziani presentano spesso polipatologia e di conseguenza sono frequentemente esposti alla somministrazione di farmaci attivi sul sistema nervoso centrale, il quale è fondamentale nel coordinare il ritmo sonno/veglia. Si ritiene che il funzionamento non adeguato delle strutture nervose che regolano le attività ritmiche, ed in particolare del nucleo soprachiasmatico (SCN), abbia un ruolo significativo nel determinare i disturbi del sonno. È stato dimostrato che la melatonina, prodotta dall'epifisi su informazioni provenienti dal SCN, agisca come un neuro modulatore del nucleo stesso, il quale possiede, infatti, recettori per quest'ormone, la cui fisiologica secrezione diminuisce con l'avanzare dell'età. Inoltre, i farmaci più comunemente utilizzati per il trattamento dell'insonnia sono le benzodiazepine, considerate sicure anche se le linee guida realizzate dall'Associazione Italiana di Medicina del Sonno (AIMS) ne raccomandano l'impiego per un tempo limitato (2 settimane) o con discontinuità per evitare effetti avversi. Questi farmaci probabilmente non rappresentano la soluzione ideale per questi soggetti frequentemente fragili e sottoposti a polifarmacoterapia: molti farmaci utilizzati per facilitare il sonno hanno lunga emivita, rallentano i riflessi e l'attenzione e agiscono come miorilassanti facilitando negli anziani le cadute; oltre a questi effetti riducono, se assunti a lungo termine, le capacità cognitive e possono dare assuefazione. È quindi importante valutare la possibilità di utilizzare molecole naturali che possano essere d'aiuto nel migliorare i disturbi del sonno e che non presentino gli effetti collaterali avversi dei farmaci attualmente in uso. Queste considerazioni ci hanno portato quindi a sperimentare l'efficacia di un'associazione melatonina-zinco-magnesio, veicolato da polpa di pera, quale pool funzionale ai fini del recupero fisiologico di un corretto assetto neurofisiologico del sonno e di un adeguato tono dell'umore nell'anziano istituzionalizzato. Questo studio randomizzato in doppio cieco ha dimostrato per la prima volta in un gruppo di 55 anziani istituzionalizzati, ultrasessantenni, affetti da insonnia primaria, che questo supplemento nutrizionale, assunto un'ora prima del momento di addormentarsi, migliora in modo significativo rispetto al placebo, la qualità del sonno, valutata mediante l'utilizzo del test Pittsburg Sleep Quality Index, validato a livello internazionale per questo scopo. Poiché l'insonnia è associata a disturbi che si manifestano durante la giornata, quali la sonnolenza diurna, migliorare la qualità del sonno significa anche produrre dei miglioramenti nella qualità di vita del paziente. L'assunzione del supplemento ha determinato un significativo miglioramento dell'attenzione diurna rispetto all'assunzione di placebo, come dimostrato dal significativo miglioramento dei 4 domini della scala Leeds Sleep Evaluation Questionnaire. L'aumento significativo del numero totale di passi compiuto durante il giorno rappresenta un indicatore indiretto del miglioramento dell'attenzione diurna. Un altro importante vantaggio rilevato nello studio è rappresentato dal fatto che l'assunzione dell'integratore ha determinato un miglioramento del tono dell'umore, come confermato dalle variazioni dello score della Geriatric Depression Scale,

e della qualità della vita, come dimostrato dallo score del test SF-36.

CHANGES IN INTESTINAL MICROFLORA IN OBESITY: CAUSE OR CONSEQUENCE?

Fredrik Bäckhed

Wallenberg laboratories, University of Gothenburg, 413 45 Gothenburg, Sweden

The human body is home to microbial ecosystems (microbiotas) whose structure and function differ between different sites in the body. These microorganisms outnumber the number of eukaryotic cells in the human body by at least an order of magnitude. The mammalian gut microbiota has coevolved with its host and has developed metabolic traits that complement the host's metabolism and can thus be regarded as a metabolically active organ located within the mammalian gastrointestinal tract. Evidence is now accumulating to indicate that perturbations of gut microbiota composition/function may play an important role in the development of diseases associated with altered metabolism. Recent data has demonstrated that the gut microbiota of obese individuals is associated with reduced microbial diversity and increased capability to harvest energy from the diet.

Mice kept under germ-free conditions have reduced adiposity compared with colonized mice. We recently used lipidomics to demonstrate that the gut microbiota has global effects on the host's lipid metabolism, which is characterized by increased hepatic and adipose triglyceride levels, whereas serum triglycerides are reduced compared with germ-free counterparts. This phenotype may be explained by microbial suppression of a lipoprotein lipase inhibitor, angiopoietin-like protein 4 (ANGPTL4) in the intestinal epithelium.

Increased adiposity is associated with insulin resistance, which precedes type 2 diabetes and cardiovascular disease. Because insulin resistance is associated with an elevated inflammatory tone the gut microbiota may affect insulin sensitivity by promoting a low grade inflammation. Recent data from Cani et al. directly demonstrated that chronic infusion of low levels of lipopolysaccharide, a key component of the cell membrane of Gram negative bacteria, impairs glucose metabolism in mice. Interestingly, germ-free mice have a reduced inflammatory tone and improved glucose metabolism. Accordingly, the gut microbiota may affect host metabolism by several mechanisms.

Key References:

1. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, *et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;**101**:15718-23.
2. Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;**104**:979-84.
3. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, *et al.* Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007;**56**:1761-72.
4. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenkov T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, *et al.* A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009;**457**:480-4.
5. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006;**444**:1027-31.
6. Velagapudi VR, Hezaveh R, Reigstad CS, Gopalacharyulu PV, Yetukuri L, Islam S, *et al.* The gut microbiota modulates host energy and lipid metabolism in mice. *J Lipid Res* 2010;**51**:1101-12.

NUTRILIPIDOMICA: INNOVAZIONE DALLE MEMBRANE CELLULARI

Carla Ferreri

ISOF, Consiglio Nazionale delle Ricerche & Lipinutragen srl, Via Piero Gobetti 101, 40129 Bologna, Italia

La prima generazione della medicina molecolare mediante tecnologie “-omiche” è iniziata dalla genomica, basata sulle differenze del genoma acquisite individualmente, e dalla nutrigenomica, proposta come un intervento personalizzato sulla base delle predisposizioni genetiche dell'individuo e sui fattori di rischio per la salute ad esse correlate.¹

Nell'era post-genomica, informazioni a livello molecolare provengono anche da altre “-omiche”. In particolare la lipidomica² riferita al compartimento della membrana cellulare è connessa all'importante ruolo degli acidi grassi nella regolazione della omeostasi e del metabolismo. Lipinutragen, spin-off del Consiglio Nazionale delle Ricerche con sede a Bologna, ha sviluppato la tecnologia del prodotto commerciale denominato FAT PROFILE®, la lipidomica basata sulla composizione in acidi grassi della membrana eritrocitaria in accoppiamento alla nutriliplidomica personalizzata. Nell'analisi vengono dosati acidi grassi cis e trans, questi ultimi individuati come marker di stress da radicali liberi.³ Ponendo la membrana cellulare come target ed essendo ben note le condizioni di normalità per la membrana eritrocitaria,⁴ si può formulare un approccio basato sulla nutriliplidomica, ovvero una strategia nutraceutica e nutrizionale creata su misura per le variazioni del profilo di membrana riscontrate nell'individuo. Variazioni dalla normalità possono riscontrarsi nelle varie condizioni fisiologiche (sport, gravidanza, invecchiamento⁵) o patologiche.⁶ La nutriliplidomica suggerisce un approccio rispettoso delle necessità individuali emerse dall'analisi, indirizzato al ripristino dell'equilibrio basale della membrana cellulare, utile al miglioramento della qualità della vita e come affiancamento alla terapia farmacologica.

Bibliografia

1. Hingorani A. D., et al. Translating genomics into improved healthcare *BMJ* **2010**, 341, 1037–1042.
2. Watson, A. D. Lipidomics: a global approach to lipid analysis in biological systems. *J. Lipid Res.* **2006**, 47, 2101–2111.
3. Chatgialloglu, C., Ferreri, C. Trans Lipids: The Free Radical Path. *Acc. Chem. Res.* **2005**, 36, 441–448. Zambonin, L., Ferreri, C., Cabrini, L., Prata, C., Chatgialloglu, C., Landi, L. Occurrence of trans fatty acids in rats fed a trans-free diet: a free radical-mediated formation? *Free Radic. Biol. Med.* **2006**, 40, 1549–1556.
4. Iorio, E. L., Ferreri, C. Lipidomica, In: Diagnostica Molecolare nella Medicina di Laboratorio. Balestrieri C., Giordano A., Napoli C., Pavan A. Eds, Piccin, Padova, **2009**, 341–359.
5. Puca, A.A., Novelli, V., Viviani, C., Andrew, P., Somalvico, F., Cirillo, N.A., Chatgialloglu, C., Ferreri, C. Lipid profile of erythrocyte membranes as possible biomarker of longevity, *Rejuven. Res.* **2008**, 11, 63–72.
6. Ferreri, C., Angelini, F., Chatgialloglu, C., Dellonte, S., Moschese, V., Rossi, P., Chini, L. Trans fatty acids and atopic eczema/dermatitis syndrome: the relationship with a free radical cis.trans isomerization of membrane lipids. *Lipids* **2005**, 40, 661–667.

IL LUPINO COME FONTE DI PROTEINE E PEPTIDI PER LA PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE

Anna Arnoldi, Giovanna Boschin, Silvia Greco, Donatella Resta, Graziana Scigliuolo, Elena Sirtori

HPF-Nutraceuticals srl – Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti 9, 20133 Milano

E' largamente riconosciuto che le malattie cardiovascolari, prevalenti in tutto il mondo, sono promosse da uno stile di vita inadeguato, inclusa una dieta scorretta: il miglioramento della qualità nutrizionale e l'assunzione di alimenti e/o integratori dietetici innovativi con proprietà funzionali possono essere utili strumenti di prevenzione. Nel caso delle malattie cardiovascolari, gli alimenti funzionali devono influenzare positivamente i più importanti fattori di rischio, in particolare l'ipertensione arteriosa e l'ipercolesterolemia.

E' utile precisare che, malgrado si assista ad una crescente richiesta di alimenti funzionali e integratori per questo settore, l'elenco di ingredienti attivi disponibili è piuttosto ristretto. Inoltre, c'è una grossa preoccupazione da parte delle aziende, perchè una normativa recente Europa richiede che ogni rivendicazione salutistica sia sostenuta da studi clinici adeguati.

HPF è uno spin-off universitario, specializzato nella progettazione, ricerca e sviluppo di nutraceutici innovativi, cioè nuovi ingredienti attivi o combinazioni di componenti attivi per la formulazione di specifici integratori dietetici e alimenti funzionali. I maggiori interessi di HPF sono nell'area delle malattie cardiovascolari e della sindrome metabolica, perché i componenti accademici dello spin-off hanno competenze pluriennali proprio in quest'area.

Attualmente lo studio dell'attività biologica del lupino è il principale interesse dello spin-off, che collabora attivamente con Dominae Trading srl, la principale azienda italiana nella commercializzazione di alimenti a base di proteine di lupino. Gli studi precedenti sul lupino sono stati condotti nell'ambito di due progetti europei (Healthy-ProFood e Bioprofibre), in cui erano coinvolti numerosi gruppi di ricerca, che hanno messo in evidenza come alimenti a base di proteine di lupino siano utili per controllare la colesterolemia e la pressione arteriosa. HPF, proprio approfondendo il meccanismo alla base di questi effetti, sta sviluppando integratori alimentari innovativi.

Oltre a sviluppare prodotti propri, HPF offre servizi tecnici e consulenza ad altre aziende nazionali o internazionali ed è aperto a collaborazioni scientifiche con istituzioni pubbliche e private.

NUTRACEUTICI DI ORIGINE LIPIDICA. IMPORTANZA DELLA LORO FORMULAZIONE E DELL'ATTIVITÀ SINERGICA DEI DIVERSI COMPONENTI

Gianfranca Carta, Elisabetta Murru, Lina Cordeddu, Annarita Sirigu, Claudia Vacca, Antonio Piras, Barbara Batetta, Enzo Tramontano, Sebastiano Banni

Nutrisearch s.r.l., Parco scientifico e tecnologico della Sardegna - POLARIS, Edificio 5 A1, Loc. Piscinamanna, 09010 Pula (Cagliari),

Il ruolo dei grassi nella dieta rappresenta un punto molto controverso perché da una parte sono considerati importanti fattori di rischio per diverse patologie, dall'altra recenti scoperte introducono degli importanti distinguo tra le diverse molecole lipidiche, come elementi indispensabili per l'organismo non solo per l'apporto calorico e le intrinseche funzioni biologiche ma anche per gli importanti effetti farmacologici che alcuni di loro rivestono, in particolare per la loro capacità di modulare la sintesi di molecole a elevata attività biologica quali eicosanoidi ed endocannabinoidi^{1,2}. La loro attività è modulata dalla sinergia di altre componenti lipidiche presenti nella dieta. Inoltre le formulazioni negli integratori variano spesso più in base alle esigenze tecnologico-commerciali che ai dettami nutrizionali. Nei nostri laboratori stiamo formulando integratori e cibi funzionali con base lipidica il più possibile vicino alla composizione e forme naturalmente presenti negli alimenti variandoli quantitativamente per incrementarne le qualità nutrizionali. Con diversi studi sia su modelli animali di sindrome metabolica che sull'uomo abbiamo dimostrato che esiste una importante sinergia tra acidi grassi omega-3 e Acido linoleico coniugato (CLA) in base alle concentrazioni dei diversi componenti e una significativa maggior efficacia delle formulazioni simili alla forma naturale, nella forma prevalente di fosfolipidi, rispetto alla formulazione come trigliceridi. In particolare, la formulazione in forma fosfolipidica aumentava la biodisponibilità nei fosfolipidi tissutali influenzando il contenuto di acido arachidonico e di conseguenza degli eicosanoidi e in particolare degli endocannabinoidi da cui derivano^{3,4}. I nostri studi suggeriscono che il riequilibrio fisiologico del sistema endocannabinoide indotto dall'apporto di questi nutraceutici influenzando il metabolismo modifica positivamente diverse componenti della sindrome metabolica.

Bibliografia

- 1) A. Iannone, A. Petroni, E. Murru, et al. Impairment of 8-Iso-PGF₂ALPHA Isoprostane Metabolism by Dietary Conjugated Linoleic Acid (CLA). *Prost. Lukotr. Ess. Fatty acids.* 80: 279-287, **2009**
- 2) S. Banni and V. Di Marzo, Effect of dietary fat on endocannabinoids and related mediators: Consequences on energy homeostasis, inflammation and mood. *Mol. Nutr. Food Res.* 54, 82–92, **2010**
- 3) B. Batetta, M. Griinari, G. Carta, et al. Endocannabinoids may mediate the ability of (n-3)-fatty acids to reduce ectopic fat and inflammatory mediators in obese Zucker rats, *J. Nutr.* 139: 1495-1501, **2009**
- 4) S. Banni, G. Carta, E. Murru, et al. Krill oil significantly decreases 2-arachidonoylglycerol plasma levels in obese subjects, *Nutr Metab* In Press

INNOVAZIONE E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO IN NUTRACEUTICA: IL MODELLO DI FONDAZIONE FILARETE

Massimo Galbiati^{1,2}, Fabio Rusconi², Katia Petroni¹, Chiara Tonelli^{1,2}

¹ Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli Studi di Milano, via Celoria 26, 20133 Milano, Italia.

² Fondazione Filarete per le Bioscienza e l'Innovazione, viale Ortles 22/4, 20139, Milano, Italia.

“Fondazione Filarete per le bioscienze e l'innovazione” (Fondazione Filarete), rappresenta un nuovo modello integrato per il trasferimento tecnologico nelle bioscienze. Costituita, per iniziativa della Fondazione Cariplo, dell'Università degli Studi di Milano e di Intesa Sanpaolo S.p.A., con sede in Milano, ha come obiettivi quelli di:

- promuovere la ricerca scientifica orientata alla creazione di opportunità di valorizzazione e di trasferimento tecnologico;
- valorizzare le competenze e le conoscenze della ricerca accademica, agendo in sinergia con istituzioni pubbliche, imprese private, altre università ed enti di ricerca;
- realizzare il trasferimento di tecnologie e prodotti dal sistema della ricerca al sistema delle attività produttive.

Il centro nevralgico di Fondazione Filarete è costituito da 9 piattaforme tecnologiche, gestite da Filarete Servizi s.r.l., le quali creando una rete strettamente interconnessa di competenze scientifiche complementari, forniscono il substrato ottimale per la traslazione della ricerca di base in innovazione. Le piattaforme integrano genomica, proteomica, modelli cellulari e animali, imaging molecolare, genetica e biotecnologie vegetali con nano- e micro- tecnologie per fornire un servizio integrato per sviluppare, testare e valutare la fattibilità applicativa di soluzioni tecnologiche nel campo delle scienze della vita.

Il forte interesse di Fondazione Filarete nel campo della nutraceutica si concretizza principalmente nell'attività svolta dalla Piattaforma Modelli Vegetali, finalizzata a:

- valorizzare e sviluppare su scala pre-industriale prodotti ad alto contenuto di antociani, derivati da linee di mais pigmentato generate dal laboratorio della Prof.sa Chiara Tonelli, dell'Università degli Studi di Milano;
- sviluppare modelli vegetali e sistemi cellulari alternativi per la produzione su larga scala di antociani e, più in generale, di composti vegetali di interesse per l'industria nutraceutica e cosmetica.

L'applicazione del modello di sviluppo e di trasferimento tecnologico di Fondazione Filarete al settore nutraceutico sarà illustrato e discusso.

RUOLO DELLA NUTRACEUTICA NELLA RIDUZIONE DEL DANNO DI PARETE ARTERIOSO

Alfio Amato

Dipartimento Cardio Toraco Vascolare, UO di Angiologia e Malattie della Coagulazione "Marino Golinelli", Policlinico Universitario S.Orsola-Malpighi, Bologna

Sebbene sia noto da tempo che una efficace dieta con utilizzo di prodotti vegetali freschi sia consigliata ed è presente nelle linee guida del National Cancer Institute americano, appare ancora poco approfondita in termini anche pratici, in quale modo i fattori antiossidanti che agiscono in questo tipo di dieta e la specifica supplementazione dei loro principi attivi, favorisca una riduzione del rischio cardiovascolare. I metodi di valutazione numerica, quindi di misura di valori indicati da una specifica diagnostica appaiono attualmente dominati dallo studio dello spessore medio-intimale a livello della carotide comune e della sua biforcazione. Questo spessore (IMT) mostra valori di normalità quando inferiore a 0.8 mm nei soggetti di età inferiore a 65 anni ed 1.0 mm al di sopra di tale età. La definizione di placca avviene quando si supera valori di 1.3 mm, per cui valori intermedi sono indicativi di IMT elevato che si correla ad un maggiore rischio cardiovascolare del soggetto, anche in assenza di evidenti placche aterosclerotiche. Fra i numerosi fattori di rischio noti (iperdislipidemia, fumo, ipertensione, diabete, familiarità e naturalmente età) le proposte di intervento più recente tengono sempre più in considerazione il controllo dietologico e nutrizionistico degli apporti alimentari. La dieta mediterranea tanto citata ma così poco frequentata anche in Italia dai soggetti a rischio e non, mostra nello specifico una elevata presenza di licopeni (pomodoro e frutti rossi) che hanno mostrato anche in studi randomizzati in doppio cieco (Kim JV, 2010) elevata azione antiossidante di riduzione del rischio cardiovascolare. I noti antiossidanti spesso consigliati in ambito microcircolatorio appaiono favorire comunque il settore macrovascolare e vanno ricordati i polifenoli, le antocianine, i betacaroteni, ma una azione integrata fra dieta e supplementazione ha dimostrato il maggiore effetto sul versante vasale arterioso. Un altro criterio misurabile di interessante valore è quello che considera la disfunzione endoteliale: dopo pasto con pane di grano duro ed olio extravergine di oliva la funzione endoteliale migliora; ciò evidenzia come gli acidi grassi insaturi tipici della dieta mediterranea siano protettivi a livello dei vasi di maggiore calibro. La stessa differenza nettamente più evidente nei soggetti patologici è stata evidenziata nel lavoro recente di Kim. Un punto di notevole interesse è inoltre rappresentato dalla prevalenza delle malattie cardiovascolari fra i sess. Spesso citata in considerazione della protezione ormonale durante il periodo fertile nella donna, appare sempre più ridotta. In Europa dati recenti mostrano come il 57% delle cause di morte delle donne sia rappresentato proprio dalle malattie cardiovascolari. Nelle donne di età superiore ai 50 anni il rischio di sviluppare malattie cardiovascolari sia più elevato e che la maggioranza delle donne valutate erano raggruppate nel "sweets diet pattern". In questo ambito la supplementazione dei prodotti antiossidanti associata naturalmente ad una dieta corretta ed alla attività fisica costante potrà partecipare al controllo di questa patologia in netto marcato incremento. Le placche aterosclerotiche di tutti i distretti possono essere rallentate nella loro evoluzione e nel loro rischio emboligeno, anche con trattamenti di più ampio respiro.

Bibliografia

Lopez EP. J Am Diet Assoc. **2008** feb;108(2):248-56.
Cook NR et al; Arch Intern Med **2007**; 167:1610-8.

L'UTILIZZO DI ESTRATTI DI PIANTE NELLA CURA DELLA INSUFFICIENZA VENOSA DALLA TEORIA ALLA PRATICA

Gianluigi Rosi

Unità Territoriale di Angiologia, Flebologia e Scleroterapia "J. Lugol" Perugia

La patologia venosa è una delle specialità della medicina dove maggiormente si utilizzano prodotti naturali o meglio definiti nutraceutici. Questi complementi alimentari sfruttano la sinergia di elementi e sostanze funzionali che esplicano una azione nel favorire e/o stimolare la fisiologica attività della unità micro circolatoria. Queste sostanze sono in grado di mantenere o riattivare una corretta elasticità e permeabilità dei capillari con diretto coinvolgimento delle matrici extracellulari. Il medico specialista flebologo, da oltre un ventennio, utilizza prodotti come la vitis vinifera che esplica una azione protettiva sui vasi venosi aumentandone la resistenza e riducendone la permeabilità, insieme ai polifenoli che estratti dai semi d'uva sono dei potenti antiossidanti agendo direttamente sulle cellule dell'endotelio vasale. I bioflavonoidi da agrumi, limitando l'ossidazione della vitamina C contribuiscono a proteggere i capillari aumentandone la resistenza e regolando la permeabilità. La troxerutina agisce rinforzando le pareti dei capillari. La bromelina è un enzima proteolitico agisce degradando la fibrina ed ha una azione importante antiedemigena e drenante. Il medico angiologo quindi è stato uno dei maggiori utilizzatori di queste sostanze ed è stato uno dei precursori della nutraceutica che si è basata sulla convinzione che i rimedi provenienti dalle piante e dai frutti siano naturalmente superiori ai farmaci prodotti dall'uomo sia dal punto di vista della efficacia che dalla tollerabilità. Lo sviluppo della nutraceutica non è altro che il recupero delle conoscenze e delle applicazioni effettuate dai padri della medicina oltre mille anni fa che attraverso l'osservazione delle reazioni hanno potuto sviluppare delle vere e proprie strategie terapeutiche facendo fronte alle malattie di quel tempo che in molti casi sono oggi ancora attuali.

Le patologie vascolari ed in particolar modo l'insufficienza venosa affliggono il 30-40% della popolazione manifestandosi sotto forma di perdita di elasticità della vena con conseguente incontinenza venosa, che genera la stasi con tutte le sue complicanze sino ad arrivare alla trombosi ed all'ulcera. I polifenoli, in particolare procianidine ed antocianidine attraverso la loro azione sul collagene esplicano una azione diretta sul derma, vasi sanguigni, tendini e legamenti. Quindi come è stato evidenziato la vite può svolgere una azione nel restituire tonicità ai vasi degli arti inferiori riducendo la pesantezza, aumentando il tono venoso e riducendo il linfedema.

I farmaci del sistema venoso oggi meglio definiti come flebotropi svolgono una azione sul ridotto tono venoso, sulla depressione del reflusso venoso arteriolare, sulle alterazioni della vasomotricità, sull'aumento della permeabilità capillare, l'edema, sulla cuffia di fibrina pericapillare, sulla ridotta fibrinolisi, sull'aumento del plasminogeno, microtrombosi capillare ed il ridotto drenaggio linfatico.

L'associazione di più principi attivi ha come azione finale un potenziamento della efficacia terapeutica documentabile attraverso l'esecuzione di trials clinici che correttamente condotti valutano la qualità della vita, l'eventuale regressione dei sintomi e gli effetti locali.

LA FUNZIONALITÀ DELL'UNITÀ MICROCIRCOLATORIA NEI CONFRONTI DELLE APPLICAZIONI DELLA NUTRACEUTICA

Arcangela Rozza

Unità Operativa di Chirurgia Vascolare, Villa Regina, Bologna

Una efficace dieta con utilizzo di prodotti vegetali freschi è consigliata da tempo nelle linee guida del National Cancer Institute americano. I fattori antiossidanti favoriti da questo tipo di dieta sono noti in campo oncologico e la supplementazione dei loro principi attivi in particolare i flavonoidi favorisce una riduzione del rischio cardiovascolare. I prodotti vegetali attualmente in commercio non garantiscono la corretta quantità di antiossidanti perché spesso maturati in modo scorretto o con utilizzo di sostanze chimiche. Risulta quindi utile associare alla dieta sostanze che favoriscono la funzionalità del microcircolo con attività antiossidante. La "unità microvascolare", appare costituita da: Componente arteriosa; Componente capillare; Componente venosa; Componente anatomica arterioso-venulare; Componente perivascolare. La componente capillare è rappresentata da microvasi maggiormente coinvolti negli scambi trofico-metabolici fra sangue e tessuti. Ogni capillare, malgrado non presenti miociti parietali, non si comporta in modo rigido e statico, ma modifica il proprio calibro in funzione di una intrinseca motilità, legata probabilmente alla presenza di aree mucopolisaccaridiche, in funzione di esigenze emodinamiche e di trofismo tissutale. Nelle condizioni di carenza per scadente o mancato introito alimentare o più specificamente in caso di patologie circolatorie che coinvolgono il microcircolo, è utile l'utilizzo delle sostanze vasoattive che agiscono sia sul capillare che a livello delle venule, favorendo una azione di protezione endoteliale, antiedema e di riduzione del rischio trombotico diretto o protrombotico nei soggetti predisposti. Bioflavonoidi, Antocianine, Vitamina C, Troxeuretina, Acido Folico, Resveratrolo alimentare e della Vitex vinifera rappresentano solo alcuni dei noti protettori del microcircolo capillare e del versante venulare. La loro associazione ad esempio a basse dosi di Cumarina determina una protezione anche sul versante linfatico, riducendo l'edema da stasi linfatica che rappresenta certamente uno dei campi di più difficile applicazione terapeutica vascolare. Da non dimenticare ciò che è l'apporto di questi prodotti in una patologia per nulla secondaria e più frequente di quanto si creda, ovvero le forme acroasfittiche con fenomeni di Raynaud delle estremità che in alcuni soggetti possono essere indicative o prodromiche di patologie connettivali severe e portare a lesioni vascolari delle dita sia delle mani che dei piedi. Patologie acrocianotiche senza fenomeni di Raynaud possono beneficiare dei trattamenti vasoattivi sul microcircolo. Ambedue le forme necessitano di una valutazione come la capillaroscopia del letto ungueale che fornisce notevoli informazioni e permette di effettuare insieme alle indagini anticorpali di indirizzare verso le forme più temibili, oltre a indagare sugli effetti a distanza del trattamento stesso.

Bibliografia

Cheyrier V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am J Clin Nutr.* **2005**;81 (1 suppl), 223S-229S.

Cook NR et al; *Arch Intern Med* **2007**; 167:1610-8.

Simopoulos, A. P. *World Rev Nutr Diet* **2003**, 92, 1-22.

LA NUTRACEUTICA NEL MIGLIORAMENTO DEL TROFISMO E DEL TONO DEL PLESSO EMORROIDARIO

Raffele Colucci

Responsabile Servizio di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva Ospedale di Spoleto ASL 3

La nutraceutica (nome che deriva dalla fusione tra nutrizione e farmaceutica) è una scienza che studia l'effetto benefico degli alimenti sulla salute. Tali alimenti sono detti alimenti funzionale o farmalimenti.

Già dal tempo dei Sumeri, Egiziani Indiani e Cinesi vi erano prove che alcuni alimenti avessero il potere di medicine. Tali sostanze derivano da piante, alimenti e fonti microbiche. Esempi tipici sono: acidi grassi omega 3 e omega 6, antiossidanti, probiotici, vitamine e complessi enzimatici. Tali sostanze vengono impiegate per le malattie croniche, per ritardare l'invecchiamento e aumentare l'aspettativa di vita. I nutraceutici possono essere assunti come dieta ricca di alimenti funzionali, come cibi arricchiti (es. latte ricco di vit. D o Omega 3 o sotto forma di integratori alimentari (comprese, capsule).

Alcuni esempi di alimenti con proprietà nutraceutiche sono l'uva rossa che contiene il resveratrolo, il seme del plantago che contiene fibre solubili che riducono il colesterolo, la soia che contiene isoflavoni utile per la salute delle arterie. Altri esempi sono gli Isoflavonoidi (nei semi di lino e di salvia), gli Omega 3 del pesce ed il licopene del pomodoro.

Anche estratti di erbe come il ginseng e l'aglio hanno proprietà nutraceutiche. Una certa efficacia esplicano le sostanze nutraceutiche nella cura delle emorroidi. Le emorroidi sono delle ectasie del plesso emorroidario cioè delle vene che circondano l'ano. Vengono classificate in quattro gradi in base all'entità del prollasso; il tessuto emorroidario ha una specifica funzione nel meccanismo della continenza e dell'evacuazione.

Tali vasi sanguigni data la loro posizione possono infiammarsi, trombizzarsi e causare sintomatologia algica; sono una patologia molto frequente, non causano dolore fino a che non compare una complicanza (trombosi, erosione della mucosa, infezione). Il dolore si esacerba quando vi è prollasso anale con edema e spasmo sfinteriale.

Nella patologia emorroidaria ruoli importanti sono svolti da alcune sostanze nutraceutiche la diosmina: tale sostanza è un flavonoide glucosidico che viene ricavato da fonti vegetali e che venne isolato per la prima volta nella *Scrofularia nodosa*. La diosmina assunta *per os* viene metabolizzata dalla flora batterica intestinale nel principio attivo aglicone e diosmetina presentando proprietà capillarotrope e vagotoniche; è un potente inibitore delle prostaglandine e del trombossano A2 e interferendo con l'attivazione dei leucociti e inibendo la cascata infiammatoria determina una forte diminuzione della permeabilità capillare con miglioramento della sintomatologia. Altre sostanze nutraceutiche utili nel trattamento della patologia emorroidaria sono rappresentata dagli Isoflavoni, composti di natura vegetale facenti parte della famiglia delle fitostrutture definiti bioflavonoidi. Attraverso le loro molecole (daidzeina, genisteina e gliciteina) possiedono attività estrogenica con importante azione a livello vascolare.

EFFICACIA A LUNGO TERMINE DI UN'ASSOCIAZIONE PRECOSTITUITA DI NUTRACEUTICI SU PARAMETRI EMODINAMICI, LIPIDICI, INFIAMMATORI E DI RIMODELLAMENTO VASCOLARE

Arrigo F.G. Cicero¹, Giuseppe Derosa², Beatrice Gerocarni¹, Martina Rosticci¹, Elisa Grandi¹, Claudio Borghi¹

¹Dip. di Medicina Interna, dell'Invecchiamento e Malattie nefrologiche, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

²Dip. di Medicina Interna e Terapia, Università di Pavia

Diversi studi hanno dimostrato l'efficacia sul breve-medio termine di una associazione precostituita di nutraceutici ipolipemizzanti (Berberina 500 mg, Monakoline 3 mg, Policosanolo 10 mg) associati ad antiossidanti e folati (Armolid Plus ®) nel ridurre i livelli di colesterolo e trigliceridi in pazienti dislipidemici.^{1,2}

Il nostro obiettivo è stato quello di valutarne l'efficacia a lungo termine (12 mesi) su di un ampio numero di marcatori di rischio cardiovascolare, studiando eventuali differenze di efficacia in soggetti normopeso (N. 79) e sovrappeso (N. 85). Un gruppo parallelo di soggetti sovrappeso sottoposti a un counselling nutrizionale ad hoc è stato utilizzato come controllo (N. 49). I pazienti sono stati selezionati sulla base della compliance alla terapia prescritta, per essere tutti in prevenzione primaria per malattie cardiovascolari e non diabetici.

Armolid Plus mantiene la sua efficacia ipolipemizzante dopo 12 mesi di trattamento continuativo, anche rispetto al gruppo trattato con sola dieta. Rispetto alla baseline nei pazienti trattati con Armolid Plus si è riscontrato un miglioramento dei parametri correlati a pressione arteriosa, peso corporeo, insulino-sensibilità, omocisteina e biomarker di rimodellamento vascolare. L'efficacia di Armolid Plus è maggiore nei soggetti sovrappeso per quanto riguarda l'effetto su BMI, pressione sistolica e diastolica, trigliceridi, glicemia, insuline mia, HOMA index e metalloproteasi della matrice 2 e 9, sia rispetto ai soggetti normopeso trattati con Armolid Plus, sia rispetto ai sovrappeso trattati con sola dieta. Solo nei pazienti sovrappeso si è osservata una significativa riduzione dei marcatori di micorinfiammazione sistemica.

In conclusione, il nutraceutico ipolipemizzante testato ha mantenuto la sua efficacia ipolipemizzanti per 12 mesi di trattamento, è stato ben tollerato, ed ha dimostrato una serie di azioni metaboliche positive su vari marcatori di rischio cardiovascolare, più evidenti nei soggetti sovrappeso.

Bibliografia

1. Affuso, F. et al. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* **2010** Aug 19. [Epub ahead of print]
2. CICERO, A.F.G. ET AL. *CURR TOPICS NUTRAC RES.* **2009**; 7(3-4): 121-126.

SOIASAPONINE “IPOCOLESTEROLEMIZZANTI” NEI LEGUMI: STUDIO E DETERMINAZIONE MEDIANTE ANALISI SPE-HPLC-MS E MALDI-TOF

Gianni Sagratini¹, Giovanni Caprioli¹, Gloria Cristalli¹, Dario Giardinà¹, Filippo Maggi¹, Laura Molin^{2,3}, Massimo Ricciutelli¹, Veronica Sirocchi¹, Piero Traldi³, Sauro Vittori¹

¹ Scuola di Scienze del Farmaco e dei Prodotti della Salute, Università di Camerino, via S. Agostino 1, Camerino, Italy

² ISB-Ion Source and Biotechnologies, Via Fantoli 16/15, 20138 Milano, Italy

³ CNR-ISTM, C.so Stati Uniti 4, 35127 Padova, Italy

Le soiasaponine sono glicosidi triterpenoidici presenti principalmente nella soia e in altri legumi. Da un punto di vista strutturale possono essere suddivise in due gruppi: le soiasaponine del gruppo A, bidesmosidiche, contenenti due siti di glicosilazione sulla porzione agliconica (soiasapogenolo A), e le soiasaponine del gruppo B, monodesmosidiche, aventi un solo sito di glicosilazione su due potenziali porzioni agliconiche (soiasapogenoli B ed E). Le soiasaponine hanno dimostrato di possedere importanti proprietà salutistiche: abbassamento del livello di colesterolo per ridotto assorbimento, attività anticarcinogenica e antiepatotossica, azione anti-replicativa nei confronti del virus dell'HIV¹.

Alcuni legumi, come ad esempio le lenticchie, fonti alimentari di proteine di origine vegetale, contengono principalmente la soiasaponina I, anche detta soiasaponina Bb, e la soiasaponina VI, anche detta soiasaponina β g, entrambe appartenenti al gruppo B delle soiasaponine, con il soiasapogenolo B come aglicone².

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di quantificare le soiasaponine I e β g in alcuni legumi e alimenti a base di legumi (zuppe, minestre) mediante un metodo SPE-HPLC-MS e confermare il loro tenore mediante analisi MALDI-TOF.

Inoltre, gli alimenti sono stati sottoposti a processo di cottura e si è determinato il tenore di soiasaponine nell'alimento cotto.

Bibliografia

1. Gu, L., et al. *J Agric Food Chem* **2002**, 50, 6951-6959.
2. Ruiz, R.G., et al. *J Agric Food Chem* **1996**, 44, 1526-1530.

CUMARINE AD AZIONE CHEMIOPREVENTIVA: UNA RISORSA DAI FRUTTI DEL GENERE *CITRUS*? VALUTAZIONE QUANTITATIVA

Laura Mercolini¹, Roberto Mandrioli¹, Anna Ferranti¹, Massimo Curini², Ferruccio Poli³, Maria Augusta Raggi¹

¹ Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica, Università di Bologna, via Belmeloro 6, 40126 Bologna, Italia

² Dipartimento di Chimica e Tecnologia del Farmaco, Sezione di Chimica Organica, Università di Perugia, Via del Liceo 1, 06123 Perugia, Italia

³ Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna, Via Imerio 48, 40126 Bologna

Citrus e generi correlati comprendono solamente alcune specie: *C. medica*, *C. reticulata*, *C. maxima* e *C. trifoliata* (cedro, mandarino, pomelo ed arancio trifogliato) e *Fortunella spp.* (kumquat o mandarino giapponese), da cui però hanno preso origine decine di ibridi e varietà, tra cui si annoverano tutti gli agrumi attualmente consumati a fini alimentari ed industriali, come arancio dolce ed amaro, limone, pompelmo, clementino, lime, bergamotto e così via. I frutti di queste specie e dei relativi ibridi sono universalmente noti ed apprezzati, oltre che per il gusto e l'aroma della scorza, anche per il contenuto di vitamine (in particolare acido ascorbico) ed altri oligoelementi essenziali del succo. Più recentemente, però, si è scoperto che altri composti presenti nei frutti, a struttura cumarinica, possono svolgere un'azione chemiopreventiva nei confronti di diverse patologie. In particolare, l'attenzione si è rivolta verso l'auraptene (7-((*E*)-3,7-dimetilotta-2,6-dienilossi)-2*H*-cromen-2-one), che sembra essere in grado di svolgere un'azione adiuvante nella prevenzione dell'insorgenza di alcuni tipi di tumore. Infatti, si è riscontrato che questa sostanza è in grado di prevenire, nel modello animale, l'insorgenza di melanomi (1) e di carcinomi del fegato (2), della mammella (3) e di altri distretti. Inoltre, l'auraptene sembra avere proprietà antinfiammatorie, immunomodulatrici (4) ed antiossidanti (5), che potrebbero svolgere un ruolo determinante nell'azione chemiopreventiva. Scopo di questo studio è lo sviluppo di un metodo originale per la determinazione quantitativa del contenuto di auraptene in diverse parti del frutto di piante del genere *Citrus* ed affini. L'analisi è effettuata mediante HPLC con rivelazione spettrofluorimetrica, sfruttando la naturale fluorescenza dell'analita. Si utilizza una colonna C8 a fase inversa ed una fase mobile composta di acqua ed acetonitrile. Il metodo è rapido e di semplice esecuzione: il pre-trattamento dei campioni vegetali consiste in un'estrazione con solvente, seguita da uno step di diluizione e dall'iniezione nel sistema HPLC. I risultati finora ottenuti sono soddisfacenti, sia in termini di sensibilità, sia in termini di selettività e di rese d'estrazione (> 90%). Il metodo sembra pertanto essere adatto alla valutazione dei livelli di auraptene in diversi tipi di agrumi. Sono attualmente in corso prove per estendere l'applicabilità del metodo ad altre cumarine.

Bibliografia

1. Tanaka, T.; et al. *Cancer Res* **2000**, *60*, 3713-3716.
2. Hara, A.; et al. *Oncol Rep* **2005**, *4*, 345-351.
3. Krishnan, P.; et al. *BMC Cancer* **2009**, *9*, 259.
4. Krishnan, P.; et al. *BMC Cancer* **2009**, *9*, 259.
5. Krishnan, P.; et al. *BMC Cancer* **2009**, *9*, 259.

ANALISI DEL PROTEOMA DI COLTURE PRIMARIE DI CARDIOMIOCITI TRATTATI CON IL NUTRACEUTICO SULFORAFANE

Cristina Angeloni¹, Silvia Turrone², Laura Bianchi³, Daniele Fabbri¹, Elisa Motori¹, Marco Malaguti¹, Emanuela Leoncini¹, Luca Bini³, Patrizia Brigidi², Silvana Hrelia¹

¹ Dipartimento di Biochimica "G. Moruzzi", Università di Bologna, via Irnerio 48, 40126 Bologna

² Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Bologna, via Irnerio 48, 40126 Bologna

³ Dipartimento di Biologia Molecolare, Università di Siena, Via Fiorentina 1, 53100 Siena

Gli isotiocianati sono metaboliti secondari derivanti dall'idrolisi dei glucosinolati, una classe di composti presente nei vegetali della famiglia delle *Brassicaceae*. Il sulforafane (SF), in particolare, è un isotiocianato che viene prodotto in seguito all'idrolisi del composto glucorafanina da parte dell'enzima mirosinasi, una tioglucosidasi presente in questi vegetali. SF è un composto a riconosciuta azione chemiopreventiva¹, antiinfiammatoria e neuroprotettiva². Da un precedente studio condotto presso il nostro laboratorio è emerso che SF protegge la cellula cardiaca dallo stress ossidativo inducendo una serie di enzimi antiossidanti/detossificanti di fase II³. Per meglio chiarire i meccanismi sottesi alla cardioprotezione indotta da SF, obiettivo di questo studio è stato l'identificazione di nuovi target molecolari del composto nutraceutico SF, mediante analisi proteomica.

Come modello di studio sono state utilizzate colture primarie di cardiomiociti neonatali di ratto⁴. Le cellule sono state trattate con SF 5 µM per tempi differenti (1-48 h). Gli estratti proteici sono stati analizzati mediante elettroforesi 2D-PAGE combinata con digestione enzimatica degli spot di interesse, MALDI/MS dei digeriti ed individuazione delle proteine mediante ricerca bioinformatica. Nell'analisi sono state identificate circa 60 proteine differenzialmente espresse di cui 4 potenzialmente coinvolte nei meccanismi cardioprotettivi precedentemente osservati. In particolare, è emersa una significativa modulazione di "macrophage migration inhibitory factor" (MIF), gliossalasi I, elfina e "heat shock protein" 60 (HSP60). I dati relativi a queste proteine sono stati confermati tramite analisi immunoblotting utilizzando anticorpi specifici. I risultati ottenuti suggeriscono che la cardioprotezione esercitata da SF è un meccanismo estremamente complesso che coinvolge, non solo l'induzione degli enzimi di fase II³, ma, inaspettatamente, proteine con un ruolo antiapoptotico⁵ e che agiscono come adattatori tra proteine chinasi e il citoscheletro⁶.

Finanziato dalla "Fondazione del Monte di Bologna e Ravenna" e dalla "Compagnia San Paolo di Torino" a D.F.

Bibliografia

- 1 Fimognari, C., et al. *Mutat Res* **2007**, 635, 90-104
- 2 Vauzour, D., et al. *Mol Nutr Food Res* **2010**, 54, 532-542
- 3 Angeloni, C., et al. *J Agric Food Chem* **2009**, 57, 5615-5622
- 4 Hrelia, S., et al. *Biochim Biophys Acta* **2002**, 1567, 150-156
- 5 Nguyen, M.T., et al. *J Immunol* **2003**, 170, 3337-3347
- 6 Nakagawa, N., et al. *Biochem Biophys Res Commun* **2000**, 272, 505-512

HYPOCHOLESTEROLEMIC EFFECT OF THE COMBINATION BETWEEN VEGETABLE PROTEINS AND FIBRES: IMPACT ON GENES REGULATING CHOLESTEROL HOMEOSTASIS

C. Parolini, E. Rigamonti, M. Busnelli, M. Marchesi, C.R. Sirtori, G. Chiesa

Department of Pharmacological Sciences, Università degli Studi di Milano, Milan – ITALY

Several clinical trials have demonstrated that total and LDL cholesterol levels can be efficiently decreased by integrating different vegetable dietary ingredients. Aim of the present study was to compare, in an animal model, the hypocholesterolemic effect of individual and combined bioactive vegetable ingredients (pea proteins, oat fibres and apple pectin), and to investigate whether they could affect hepatic liver metabolism by regulating genes involved in cholesterol homeostasis. Six groups of 12 rats each were fed, for 28 days, Nath's hypercholesterolemic diets, differing for protein and fibre source being respectively casein and cellulose (control), pea proteins and cellulose (pea), casein and oat fibres (oat), casein and apple pectin (pectin), pea proteins and oat fibres (pea + oat), and pea proteins and apple pectin (pea + pectin). Each vegetable-containing diet determined a lower increase of total cholesterol levels vs controls at both 14 and 28 days of hypercholesterolemic diet. The two combinations (pea proteins + oat fibres and pea proteins + apple pectin) resulted more efficacious than fibres alone in modulating cholesterolemia (-72% and -74%, respectively at 28 days; $p < 0.001$). Moreover, rats fed the diet containing oat fibres or apple pectin or the combinations had a lower cholesterol content in the liver ($p < 0.005$) and higher hepatic mRNA concentrations of CYP7A1 than control rats ($p < 0.05$). In the pectin group, the hepatic mRNA concentrations of HMG-CoA reductase and LDL receptor were increased compared to control group ($p < 0.05$). Rats fed pea proteins had higher hepatic mRNA levels of ABCG8 than those fed casein ($p < 0.05$). In conclusion, pea proteins, oat fibres and apple pectin markedly modulate cholesterol increase in rat plasma. The two combinations are more efficacious than fibres alone. Moreover, our results suggest that these bioactive ingredients affect cellular cholesterol homeostasis by up-regulating genes involved in hepatic cholesterol turnover.

Funding: *CRAFT Project Bioprofibre (COOP-CT-2006-032075)*

DATATIPICA: database chemioinformatico per la valorizzazione nutraceutica dei prodotti tipici della filiera agroalimentare

Francesca Alcaro,^a Anna Artese,^b Carlo Cosentino^a, Stefano Alcaro^b

^a Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica

^b Dipartimento di Scienze Farmacobiologiche

Università degli Studi "Magna Græcia", Campus "S. Venuta", Viale Europa, 88100, Catanzaro, Italia.
<http://cclab.unicz.it/>

Negli ultimi anni l'utilizzo di prodotti naturali si è rivelato una strategia di successo nel processo di drug discovery con l'identificazione di numerosi farmaci e target terapeutici¹. Diversi studi hanno messo in evidenza molti prodotti dietetici per i loro svariati effetti preventivi e curativi. Ad esempio il consumo di spinaci è stato associato ad un effetto anti-mutageno ed anti-clastogeno², mentre aglio e cannella rappresentano utili strumenti per il controllo dell'ipercolesterolemia³ e della glicemia⁴. Olio d'oliva ed acidi grassi omega-3 presentano rispettivamente effetti favorevoli nella malattia di Alzheimer⁵ e nell'infiammazione⁶, ed il the verde si è rivelato efficace nel migliorare lo stress psicologico⁷. Sulla base di ciò un sempre crescente numero di macromolecole, tra cui proteine, enzimi, recettori e canali ionici, ha attirato l'attenzione da parte della chimica farmaceutica. I metodi computazionali consentono di accelerare il processo di identificazione di sostanze biologicamente attive valutando in silico le interazioni tra macromolecole target (proteine, enzimi e acidi nucleici) e potenziali ligandi naturali abbattendo tempi e costi rispetto ad approcci tradizionali. In particolare la Protein Data Bank pone le basi per l'analisi strutturale dei complessi target-ligando consentendo l'identificazione di effetti multipli e/o sinergici da parte di composti naturali. Le tecniche di docking e di virtual screening rappresentano gli strumenti di elezione per la valutazione dell'affinità di legame e la predizione del binding mode più probabile. Due recenti esperienze condotte presso la nostra sede hanno permesso di chiarire mediante le tecniche di docking molecolare i motivi di selettività della quercetina, principio attivo dell'*Hypericum hircinum*, nell'inibire l'isoforma A della MAO, con un potenziale effetto antidepressivo⁸ e di derivati dell'oleuropeina, principale composto fenolico dell'olio d'oliva, nell'interazione con le cicloossigenasi, esplicando effetti antiinfiammatori⁹. Oggetto della presente comunicazione è la realizzazione di una piattaforma chemioinformatica per la catalogazione di principi attivi significativi di prodotti tipici regionali del comparto produttivo e di scarto. L'idea è quella di ottenere il primo database molecolare di tale genere da utilizzare per lo screening virtuale contro target macromolecolari investigabili con esperimenti di tipo biologico e farmacologico.

Scopo del lavoro di ricerca è stabilire dei nuovi collegamenti tra principi attivi e impieghi terapeutici o nutraceutici di prodotti della filiera agroalimentare, ivi compresi quelli derivanti dai processi di scarto delle produzioni.

Bibliografia

1. Dahanukar, S.A.; et al. *Indian J Pharmacology* **2000**, *32*, S81-S118.
2. Sarkar, D.; et al. *Environ Mol Mutagen* **1996**, *28*, 121-126.
3. Sheela, C.G.; et al. *Indian J Exp Biol* **1995**, *33*, 749-751.
4. Crawford, P. *J Am Board Fam Med*. **2009**, *22*, 507-512.
5. Pitt, J.; et al. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2009**, *240*, 189-197.
6. Bouwens, M.; et al. *Am J Clin Nutr*. **2009**, *90*, 415-424.
7. Hozawa, A.; et al. *Am J Clin Nutr* **2009**, *90*, 1390-1396.
8. Chimenti, F.; et al. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 945-949.
9. Procopio, A.; et al. *Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 11161-11167.

IN VITE VERITAS: ANALISI QUANTITATIVA DEI COMPOSTI ANTIOSSIDANTI DI UVA E DERIVATI

Laura Mercolini, Roberto Mandrioli, Vittorio Sorella, Maria Augusta Raggi

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica, Università di Bologna, via Belmeloro 6, 40126 Bologna, Italia

La vite è attualmente una delle specie fruttifere più importanti a livello mondiale, grazie ai suoi numerosi utilizzi nel consumo tal quale e nella produzione di vino, succhi, aromi ed altri preparati. Fin dall'antichità, anche i filosofi greci descrivevano le proprietà nutrizionali e medicinali dell'uva e dei prodotti derivati. Ad oggi, si conoscono più di 5000 composti contenuti in questo frutto, tra cui sono numerosissimi i metaboliti secondari come alcaloidi, terpeni, resine, glicosidi cardioattivi, tannini, steroli, saponine e fenoli. Questi ultimi, in particolare, sono intensamente studiati per le loro potenzialità come antiossidanti e *radical scavengers*, attività biologiche che potrebbero essere alla base di numerosi effetti benefici associati all'assunzione di uva e derivati. Si è infatti osservato che il consumo di uva, succo e vino (quest'ultimo in quantità moderata) può avere effetto ipolipidemizzante, ipocolesterolemizzante, antiinfiammatorio, anti-ulcera e perfino anti-mutageno e chemiopreventivo (1): l'acido ferulico, in particolare, sembra avere un'azione pro-apoptotica verso alcune linee di cellule tumorali (2).

Scopo dello studio è quindi la valutazione del contenuto di composti antiossidanti in differenti varietà di uve mediante analisi cromatografica. Si sono presi in considerazione il *trans*- ed il *cis*-resveratrolo, riconosciuti tra i principali fenoli antiossidanti; ed inoltre l'acido ferulico e la melatonina. Quest'ultima sostanza è stata recentemente trovata nell'uva e in alcuni tipi di vini (3), e potrebbe avere un importante effetto sinergico con i composti fenolici, grazie ad un meccanismo antiossidante differente e in parte complementare (4).

Il metodo analitico utilizzato si basa sull'utilizzo di HPLC con rivelazione spettrofluorimetrica, sfruttando la fluorescenza nativa degli analiti per ottenere alta sensibilità e selettività con una metodica e procedure relativamente semplici. La fase stazionaria è una colonna C8 a fase inversa, mentre la fase mobile è costituita da una miscela di tampone fosfato acido ed acetonitrile. Il pre-trattamento dei campioni di uva e derivati consiste in una procedura originale MEPS (micro-extraction by packed sorbent), che consente di utilizzare minimi volumi di solventi e di campione garantendo ottimi risultati in termini di rese d'estrazione e di purificazione della matrice.

Sono attualmente in corso le prove di convalida del metodo, che sembra quindi essere adatto alla determinazione di importanti antiossidanti contenuti nell'uva e nei prodotti da essa derivati.

Bibliografia

1. Kashif, A.; et al. *Phytochem Rev* **2010**, *9*, 357–378.
2. Lee, Y.S.; *Arch Pharm Res* **2005**, *28*, 1183-1189.
3. Mercolini, L.; et al.; *J Sep Sci* **2008**, *31*, 1007-1014.
4. Tan, D.X.; et al. *Biol Signals Recept* **2000**, *9*, 137-159.

METABOLISMO DELL'OMOCISTEINA E STATO OSSIDATIVO IN SOGGETTI FORTI FUMATORI SANI: EFFETTI DI UNA SUPPLEMENTAZIONE NUTRACEUTICA (Juice Plus+®, NSA, Collierville, USA)

Fabrizia Bamonti¹, C. Novembrino¹, R. De Giuseppe², F. de Liso², L.Vigna³, M. Pellegatta³, G. Cighetti⁴

¹ Dipartimento Scienze Mediche, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italy

² Fondazione F.lli Confalonieri, Dipartimento Scienze Mediche, Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS, Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italy

³ Dipartimento di Medicina Preventiva Clinica e del Lavoro, U.O. Medicina del Lavoro, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italy

⁴ Dipartimento di Scienze Cliniche "Luigi Sacco", Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

Sta sempre più emergendo l'importanza di un'adeguata supplementazione nutraceutica per attenuare gli effetti negativi del fumo di sigaretta, i quali, promuovendo una condizione di stress ossidativo, sono recentemente ritenuti implicati nell'insorgenza di diverse patologie vascolari. Al fine di valutare i potenziali effetti benefici di una supplementazione, incapsulata in polvere, basata su due formulazioni diverse: una a base di estratti concentrati di frutta e verdura (Juice Plus ®, JP) ed una con l'aggiunta di estratti di frutti di bosco (Juice Plus + ® Vineyard Blend, JPV), è stato condotto uno studio prospettico, in doppio cieco, placebo-controllato su 101 soggetti (54 M, età media 47±8,7 anni), forti fumatori (più di 20 sigarette/die da almeno 10 anni), apparentemente sani (test spirometrico nella norma). In tutti i soggetti (compliance media ≥85%), suddivisi in tre gruppi (P, JP, JPV), sono stati valutati, a livello basale (T0) e dopo tre mesi di supplementazione (T1), il metabolismo dell'omocisteina (Hcy) e lo stato ossidativo. In particolare, concentrazioni plasmatiche di omocisteina, concentrazioni sieriche di vitamina B12 (B12), di oltroscobalamina (HoloTC, la quota attiva della B12) e di folato sierico (sFol) e quelle eritrocitarie di folato (eryFol) sono state misurate mediante test immunoenzimatico utilizzando i rispettivi kit commerciali su analizzatore automatizzato AxSYM (Abbott Diagnostics, USA). La valutazione dello stato ossidativo si è basata sulla determinazione di: concentrazioni delle Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS) e della Capacità Antiossidante Totale (TAC), misurate con metodo spettrofotometrico utilizzando i rispettivi kit commerciali (Diacron, Grosseto, Italia), concentrazioni sieriche di LDL ossidate (LDLox) valutate con metodo competitivo ELISA (Oxidized LDL kit, Mercodia, Svezia) e di Malondialdeide totale (tMDA) e libera (fMDA) valutate mediante gascromatografia-spettrometria di massa. In aggiunta, i livelli di ROS e TAC sono stati utilizzati per il calcolo di un indice globale di stato ossidativo (Oxidative Index, OxyI)¹.

L'analisi statistica è stata effettuata mediante l'utilizzo del software R System. Dopo tre mesi di supplementazione, i gruppi JP e JPV, rispetto al gruppo Placebo, presentavano: aumento significativo delle concentrazioni di sFol ed eryFol (p<0,001) correlato a significativa riduzione dei livelli di Hcy (p<0,001), diminuzione significativa dell'OxyI (p<0,001) e, solo nei soggetti con una compliance superiore al 95%, riduzione significativa delle concentrazioni di LDLox (p<0,05), di fMDA (p<0,01) ed un miglioramento dei parametri di funzionalità respiratoria. I risultati ottenuti, pur confermando la presenza di alterazioni dello stato nutrizionale e di quello ossidativo causate dal fumo di sigaretta, dimostrano come un'adeguata supplementazione nutraceutica possa parzialmente correggerle dopo solo tre mesi². La compliance sembra giocare un importante ruolo. Tuttavia, nonostante i buoni risultati evidenziati anche su forti fumatori, l'eliminazione del fattore di rischio "fumo", assieme ad un corretto stile di vita, rappresenta la strategia da preferirsi e da suggerire.

Lo studio è stato supportato da NSA (TN, USA).

Bibliografia

¹ Vassalle C et al., Clin Biochem, **2009**;42:739-41

² Bamonti F et al., Clin Chem Lab Med, **2006**;44:391-5

LA RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE COME MEZZO DI VALIDAZIONE DI PRODOTTI NUTRACEUTICI

Antonio Randazzo, Ettore Novellino

Dipartimento di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, Facoltà di Farmacia, Università degli Studi di Napoli "Federico II", via D. Montesano 49, 80131 Napoli, Italia

L'analisi di fluidi biologici fornisce preziose informazioni sullo "stato biochimico" degli organismi viventi, dato che la loro composizione è diretta espressione del metabolismo. Una approfondita descrizione dei costituenti chimici di tali fluidi permette di definire gli effetti, ad esempio, della disfunzione di un organo oppure degli effetti della dieta sull'organismo. I primi studi pionieristici che hanno tentato di definire il profilo metabolico di esseri viventi erano eseguiti utilizzando la cromatografia su carta, che forniva valutazioni principalmente qualitative del fluido analizzato.¹ Solo dopo gli anni sessanta, con lo sviluppo di nuove tecnologie, è stato possibile eseguire anche degli studi di tipo quantitativo. Tra le prime tecniche ad essere usate si annovera la Spettrometria di Massa.² Successivamente, grazie alla sua enorme diffusione negli anni ottanta, la Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) ha iniziato ad essere una delle tecniche preferite anche per gli studi metabolici.³ Questa tecnica fornisce informazioni molto accurate su tutte le molecole che contengono idrogeni presenti nel fluido biologico analizzato. Lo spettro NMR di un fluido biologico, infatti, può essere considerato come la somma degli spettri dei suoi singoli metaboliti, dove l'intensità dei segnali di ogni molecola è proporzionale alla quantità di metabolita presente nel campione analizzato.

L'utilizzo della Risonanza Magnetica Nucleare ha molti vantaggi. Innanzitutto è una tecnica non distruttiva, che non richiede pretrattamenti del campione (come ad esempio derivatizzazioni) e, per questo, non è invalidata da artefatti. Permette, inoltre, l'identificazione di nuove molecole. Infine, l'NMR consente anche la determinazione di molecole quali zuccheri, ammine, liquidi volatili, che non sono visibili in tecniche quali la Spettrometria di Massa.

Nel campo della nutraceutica, l'NMR si sta affermando come tecnica di elezione per lo studio degli effetti di differenti diete sul profilo metabolico. Nella presente comunicazione verranno trattate le basi logiche di studi nutraceutici con approccio metabolomico NMR.

Bibliografia

1. Gates and Sweeley, *Clin Chem* **1978**, 24(10), 1663-1673.
2. Griffiths, W.J. and Wang, Y. *Chem Soc Rev* **2009**, 38, 1882-1896.
3. Nicholson, JK; Lindon JC *Nature* **2008**, 455, 1054–1056.

EFFETTI DELL'INTEGRAZIONE DIETETICA CON FITOESTROGENI IN DONNE IN MENOPAUSA CON SINDROME DELL' OCCHIO SECCO: STUDIO CLINICO RANDOMIZZATO

Gianluca Scuderi, Caterina Gagliano, Daniela Iacovello, Maria Teresa Contestabile.

Facoltà di medicina e Chirurgia, Università La Sapienza, Roma

La sindrome dell'occhio secco è una patologia multifattoriale coinvolgente il film lacrimale e la superficie oculare. E' dovuta ad un deficit qualitativo o/e quantitativo nella produzione del film lacrimale ed è causa di discomfort oculare, infiammazione sensazione di corpo estraneo, fotofobia, difficoltà nell' apertura delle palpebre e alterazioni visive.(1) La produzione del film lacrimale si basa su un fine equilibrio regolato da fattori ormonali (androgeni ed estrogeni), fattori oculari locali , fattori ambientali e può essere influenzato da farmaci (terapia estro-progestinica, antidepressivi, betabloccanti, antistaminici) e da patologie sistemiche(s. Sjogren, artirite reumatoide, lupus eritematoso sistemico, diabete). La prevalenza della sindrome dell'occhio secco negli USA è maggiore nelle donne rispetto agli uomini ed è correlata all'età, varia dal da 5,7% nelle donne sotto i 50 anni fino al 9.8% nelle donne sopra i 75 anni (2). La maggiore prevalenza nelle donne in età avanzata è attribuibile alle variazioni ormonali della menopausa che determinano una riduzione della biodisponibilità di androgeni ed estrogeni (3). Diversi studi hanno dimostrato che l'integrazione orale con fitoestrogeni può avere effetti estrogeno-simili: per questa ragione sono sempre più utilizzati come alternativa o come complemento nella terapia ormonale sostitutiva nelle donne in menopausa con riduzione dell'incidenza di hot-flushes, osteoporosi e cancro della mammella (4). I fitoestrogeni sono dei composti vegetali con struttura e funzione simili al 17-B estradiolo ed hanno effetti estrogenici ad elevata concentrazione. Interagiscono con i recettori estrogenici alfa (ER-alfa) e beta (ER-beta) ed hanno affinità per i recettori progestinici ed androgenici (AR). La loro funzione varia in funzione della concentrazione endogena di estrogeni: hanno un' azione antiestrogenica quando la conc. endogena è elevata, al contrario hanno un'azione simil-estrogenica quando la conc. endogena è ridotta (menopausa, ovariectomia). Sulla base di queste evidenze abbiamo condotto uno studio doppio –cieco randomizzato con cross-over per dimostrare che l'integrazione dietetica con fitoestrogeni può avere un ruolo nel controllo dei sintomi dovuti alla sindrome dell'occhio secco nelle donne in menopausa. Durante il progetto Gender Bias finanziato dal ministero dell'Università abbiamo arruolato 66 donne in menopausa con sindrome dell'occhio secco diagnosticata secondo i criteri del Dry Eye Syndrome Workshop. Abbiamo diviso le donne in due gruppi (gruppo A e gruppo B) mediante una randomizzazione computerizzata. Per 30 giorni le donne del gruppo A hanno assunto capsule di integratori (Lacrisek) contenenti acido α -lipoico (100 mg), acido eicosapentaenoico (EPA) (240 mg), estratti di fieno greco (200 mg) contenente diosgenina (1,3%), saponi sterioidi (50%) e alcaloidi, mentre le donne del gruppo B hanno assunto capsule di placebo simili per aspetto, dimensioni, colore e odore. Dopo 30 d di wash-out è stato eseguito il cross-over dei due gruppi. Le pazienti sono state esaminate al tempo 0 e dopo 30 d per ciascun periodo. Sono stati valutati: peso corporeo, livelli ematici degli ormoni sessuali, livelli ematici di glucosio, assetto lipidico (LDL, HDL, trigliceridi), osmolarità del film lacrimale, Schirmer's test, Tear Film Break-up time (T-BUT), questionario del Ocular Surface Disease Index (OSDI). I risultati espressi come medie \pm deviazione standard sono stati ottenuti mediante analisi statistica utilizzando il software SYSTAT ver. 1,3 per windows (SPSS, Chicago, IL). L'utilizzo di Lacrisek risulta sicuro in quanto non si sono registrati effetti collaterali e il peso, i livelli ematici di glucosio e il profilo lipidico non hanno subito variazioni nel periodo del trattamento nei 2 gruppi. Dopo ciascun periodo di trattamento con Lacrisek si è notato una riduzione statisticamente significativa dell'osmolarità del film lacrimale ($P < 0,001$), un aumento del BUT ($P < 0,001$) e un miglioramento del test di Schirmer ($P < 0,001$) rispetto ai pazienti trattati con placebo. In conclusione l'integrazione dietetica giornaliera di fitoestrogeni migliora la produzione qualitativa e quantitativa del film lacrimale con miglioramento soggettivo dei sintomi (miglioramento statisticamente significativo dell' OSDI score).

Bibliografia

1. Versura P. Menopause and dry eye. A possible relationship. *Gynecol Endocrinol.* 2005; 20: 289-98.
2. D.A. Sullivan, J.E: Buring, M.R. Dana. Prevalence of dry-eye syndrome among US women. *Am. J. Ophthalmol.* 2003, 136:318-326
3. S. Srinivasan, E. Joice, M. Sencyna; T. Simposon, L. Jones. Clinical signs and symptoms in post-menopausal females with symptoms of dry eye. *Ophthalmol. Physiol.* 2008: 365.372.

4. L. Pilsakova, I. riecansky, F. Jagla. The physiological action of isoflavone Phytoestrogens.

NUTRACEUTICALS AS THERAPEUTIC AGENTS IN SUPPORTIVE ONCOLOGICAL CARE

Mariano Bizzarri, Simona Dinicola

Dept. Experimental Medicine, Università La Sapienza, Roma. Via A. Scarpa 16, 00161, Roma, Italy.

"Let food be your medicine and medicine be your food"
Hippocrates

The World Cancer Research Fund give a figure of 30-40% for the proportion of cancers that can be prevented by lifestyle factors, including diet. Hence, the role of nutraceutical supplementation and dietary factors is more relevant than ever. Much research has been carried out into nutraceuticals and their role in cancer prevention. They may, in the next future, be used to enhance current conventional drug regimens, ameliorate some of the toxic side effects associated with chemotherapy and prevent cancer incidence at first place.

Indeed, there is a significant body of experimental and clinical data supporting a potentially positive role for nutraceuticals and botanicals in combination with conventional treatments in oncology. Many chemopreventive compounds are associated with beneficial chemosensitization and radiosensitization; other food compounds, such as flavonoids, disable the pumps that cause multidrug resistance. On the other hand, some immunomodulating and adaptogenic nutraceuticals/phytochemicals described herein protect against myelosuppression, which is the dose-limiting toxicity of many chemotherapeutic drugs, as well as increasing the ability of cancer patients to withstand the general stress of both chemo and radiation. Other compounds offer protection against specific toxicities of chemotherapy. Almost invariably these biological substances are "pharmacological multitaskers". Ginkgo for example protects against platinum induced renal toxicity, ototoxicity and neuropathy, and also acts as a radiation sensitizer by increasing local perfusion rates. Green tea as well as grape seed compounds (procyanidins and catechins) not only enhances doxorubicin transport into malignant cells, but also protects the myocardium against the cardiotoxic effects of the drug. Furthermore, they enhance cancer cell apoptosis, and inhibit proliferation through interacting with several biochemical pathways. Evidences indicate that the mechanistic actions of natural compounds involve a wide array of biological processes, including activation of antioxidant defences, signal transduction pathways, cell survival-associated gene expression, cell proliferation and differentiation and preservation of mitochondrial integrity. It is widely recognized that these properties play a crucial role in cancer. From the integrative perspective, the list of potential beneficial interactions between botanicals and conventional cancer treatments is long and impressive. Preliminary clinical trials demonstrated that several nutraceuticals as well as phytochemicals supportive treatments offer potential benefits for patients with cancer. Others, however, seem to be ineffective, and many present risks for direct adverse effects or interactions with conventional treatments. Therefore, it is important for physicians to communicate openly with patients about nutraceutical/herbal integrative therapies.

References

1. A Rajasekaran, G Sivagnanam, R Xavier Nutraceuticals as therapeutic agents: A Review Research J. Pharm. and Tech. 1:328-340, 2008.
2. R. Sharma, Nutraceuticals and Nutraceutical Supplementation Criteria in Cancer: A Literature Survey The Open Nutraceuticals Journal 2: 92-106, 2009.
3. Y. B. Tripathi, P. Tripathi , B. H. Arjmandi Nutraceuticals and Cancer Management. Frontiers in Bioscience 10: 1607-1618, 2005.

GLI INTEGRATORI A SUPPORTO DELLA FUNZIONE ERETTIVA

Giorgio Piubello

U.O MEDICINA INTERNA - OSPEDALE POLICLINICO G.B. ROSSI UNIVERSITA' DI VERONA, VERONA

Nutraceutico è un neologismo, coniato dal Dr. Stephen L. DeFelice nel 1990, unendo i termini "nutrizione" e "farmaceutica" e si riferisce allo studio di alimenti, o parti di alimenti, che hanno una funzione benefica sulla salute umana sia in termini di prevenzione che direttamente terapeutici.

Un'ulteriore distinzione dovrebbe farsi tra nutraceutici e alimenti funzionali, *pharma food* o *farmalimenti*. Questi ultimi infatti sarebbero alimenti veri e propri che mostrano specifici effetti salutari, mentre i nutraceutici sono dei componenti o sostanze estratte dagli alimenti con determinate proprietà terapeutiche. L'avvento di nutraceutici a supporto di varie funzioni fisiologiche ha interessato anche la funzione sessuale maschile. In particolare sono numerose le sostanze che trovano impiego nella pratica clinica, ad esempio: Arginina, ac. Nicotinico, propionil-l-carnitina, ma anche Gynko biloba, Panax ginseng, Tribulus terrestris, Maca (*Lepidium meyenii*). Nel corso della relazione verranno esaminati i lavori scientifici che la letteratura mostra come attestanti l'efficacia terapeutica di alcuni integratori e nutraceutici nel risolvere la disfunzione erettiva e/o migliorare la stessa. Verranno, inoltre, sottoposti i dati di uno studio pilota multicentrico, nel quale in addition ad un inibitore della 5-fosfodiesterasi è stato utilizzato EZEREX.

Studio pilota multicentrico – 7 centri di Andrologia - provincie di Verona e Trento (72 pazienti non-responder a PDE5-i -trattamento per almeno 2 mesi- o non più responder; mediana età 56; valutazione con questionario IIEF5; Score basale mediano 12 -range interquartile 10-15; mantenimento PDE5-i precedentemente prescritto dall'Andrologo; trattamento con Ezerex® per 2 mesi.

Secondo studio pilota: 82 pazienti; mediana età 52.5 (range interquartile 49-56); valutazione con questionario IIEF5; score basale mediano 13 (range interquartile 10-15); trattamento per tutti con PDE5-i (molecola scelta dall'Andrologo); randomizzazione a Ezerex® o controllo, follow-up a 2 mesi.

CARNITINE ED ANTIOSSIDANTI A SUPPORTO DELLA SALUTE RIPRODUTTIVA MASCHILE

Lamberto Coppola^{1,2,3,4}, Daniela D. Montagna², Sara Pinto Provenzano², G. Andrea Coppola^{1,2}, Vita Caroli Casavola², Umberto Caracciolo⁴

Centri integrati di andrologia e fisiopatologia della riproduzione umana:

¹ Tecnomed Centro Medico-Biologico – Università del Salento Nardò-Lecce

² Centro di Crioconservazione dei Gameti maschili Tecnomed - Casa di cura Fabia Mater, Roma

³ Sezione di Fisiopatologia della Riproduzione umana - Casa di cura Salus, Brindisi

⁴ Ambulatorio Specialistico per la Terapia dell'Infertilità di Coppia – ASL Lecce 1

e-mail: prof.coppola@centrotecnomed.it tel: +39. 348.7097451

Nel 30-40% dei casi di infertilità maschile non si può risalire ad una chiara causa di alterazione ormonale.

In queste categorie di soggetti è pertanto necessario un approccio così detto *empirico* del problema, quale l'utilizzo di terapie antiossidanti e decongestionanti in associazione o meno con terapie antibiotiche (1).

In realtà oggi grazie ad innovative tecniche diagnostiche non possiamo parlare più di *empirismo*, per cui la nutriceutica acquista un ruolo importante in questo delicato settore dell'andrologia (1) (2). Grazie al test sulla frammentazione del DNA, lo studio della 8-OH-2 Desossiguanosina, la valutazione dei radicali liberi seminali, attività radicalica e dei lipoperossidi, nonché mediante il dosaggio della barriera antiossidante, non solo possiamo diagnosticare la causa iniziale del danno a livello dei gameti maschili, ma in particolare possiamo monitorare l'effetto terapeutico (2) (3).

Inoltre, nei casi in cui si osserva astenozoospermia isolata o associata ad alterazioni del numero e della morfologia nemaspermica, è importante chiarire il ruolo che i mitocondri rivestono nel metabolismo energetico degli spermatozoi e come i difetti nella respirazione mitocondriale possano contribuire all'infertilità maschile. Nei mitocondri infatti ha luogo la sintesi di ATP, in seguito al trasferimento degli elettroni lungo la catena respiratoria e alla riduzione dell'ossigeno molecolare ad acqua. La misura del consumo di ossigeno nei mitocondri degli spermatozoi oggi viene da noi effettuato utilizzando l'ossigrafo Hansatech Instruments (4).

Riscontrato il problema, il clinico può approcciarsi mediante la somministrazione di antiossidanti specifici a seconda del tipo di danno: vitamina E, glutazione e licopene per contrastare la lipoperossidazione di membrane, vitamina C ed n-acetil-cisteina per i danni al DNA, L-carnitina e Acetil -L- carnitina (*Proxeed NF*) per la protezione mitocondriale. Il giusto bilancio tra i diversi antiossidanti consente il loro ripristino funzionale (5).

Da nostri dati preliminari emerge chiaramente non solo il vantaggio dell'utilizzo di queste terapie per la loro specifica efficacia, ma anche, in caso siano necessarie terapie ormonali e/o antibiotiche, nonché dopo intervento di varicocele, tempi più brevi di recupero rispetto ai casi di controllo.

Infine, in presenza di congestioni ghiandolari con alterazione di parametri seminali l'approccio decongestionante mediante meliloto o/e *serenoa repens*, specie se associati ad antiossidanti prostatici come licopene, epigallocatechin gallato, acido ellagico, selenio e zinco (*Proxana*), può ripristinare in tempi medio-brevi il quadro seminologico, proprio grazie alla normalizzazione anatomo funzionale prostatica.

Bibliografia

1. Agarwal A, Giorgino FL, Coppola L. Negative effect of oxidative stress on DNA of human male Gametes. Atti del 2° Congresso Nazionale FIOG e 11° Congresso AGEO, Torino Lingotto, 1-3 Dicembre **2009**.
2. Coppola L, Pinto Provenzano S, Montagna DD et al. Stress ossidativo ed infertilità: ruolo del laboratorio andrologico. Atti del 25° Congresso Nazionale SIA, Catania, 10-13 giugno **2009**:107.
3. Aitken RJ, De Iulius GN. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. *Mol Human Reprod*, **2010**;16(1):3-13.
4. Ferramosca A, Focarelli R, Piomboni P, Coppola L, Zara V. Oxygen uptake by mitochondria in demembrated human spermatozoa: a reliable tool for the evaluation of sperm respiratory efficiency. *Int J Androl*, **2008**, ISSN 0105-6263
5. Coppola L, Pinto Provenzano S, Montagna DD et al. Lo stress ossidativo nel liquido seminale. Fitoterapia ed integratori in ostetricia e ginecologia. CIC Edizioni Internazionali **2009**;261:72-77.

PROBLEMATICHE TOSSICOLOGICHE LEGATE AL CONSUMO DEI NUTRACEUTICI

Patrizia Restani^{1,2}, Chiara Di Lorenzo^{1,2}, Ariana Dos Santos^{1,2}, Cinzia Ballabio¹, Enzo Moro¹, Maria Laura Colombo³

¹ Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, via Balzaretti 9, 20133 Milano, Italia;

² PlantLIBRA, Progetto Finanziato dalla Comunità Europea nell'ambito del 7° Programma Quadro;

³ Facoltà di Farmacia, Università di Torino

L'apporto corretto di nutrienti e di sostanze non-nutritive "funzionali" ha un ruolo critico nella prevenzione delle malattie degenerative e croniche; numerosi studi sperimentali ed epidemiologici hanno infatti dimostrato come una dieta ricca di sostanze antiossidanti e di fibra possa contribuire a ridurre i fattori di rischio per patologie cardio-vascolari, neurodegenerative e tumorali. Sulla base di queste conoscenze scientifiche, il settore dei prodotti "salutistici" ha ricevuto un impulso notevole, a cui si è associata una crescita esponenziale del numero di specialità presenti sul mercato. I prodotti salutistici ad uso orale includono o comuni alimenti o integratori alimentari, ovvero prodotti *"alimentari destinati ad integrare la dieta normale e che costituiscono una fonte concentrata di sostanze nutritive o di altre sostanze aventi un effetto nutritivo o fisiologico, sia monocomposti che pluricomposti, in forme di commercializzazione quali capsule, pastiglie, compresse, pillole e simili, polveri in bustina, liquidi contenuti in fiale, flaconi a contagocce e altre forme simili, polveri in bustine, liquidi contenuti in fiale, flaconi a contagocce e altre forme simili di liquidi e polveri destinati ad essere assunti in piccoli quantitativi unitari"*. Dal punto di vista della composizione, gli integratori alimentari comprendono sia prodotti che forniscono vitamine e minerali sia formulazioni più complesse di cui fanno parte anche ingredienti erboristici o estratti/concentrati di origine vegetale. Gli integratori vitaminico-minerali e gran parte di quelli con ingredienti erboristici, presenti sul mercato, possono essere considerati sicuri. D'altra parte la presenza di un numero così elevato di prodotti sul mercato, con ingredienti di diversa origine porta a difficoltà pratiche quando si intenda controllarne in modo soddisfacente la qualità¹⁻⁴; questo aspetto diviene anche più cruciale quando i prodotti o le materie prime sono importati da paesi in via di sviluppo o peggio ancora quando si considerino integratori venduti in mercati paralleli, quali i siti internet o le palestre e centri benessere. E' innanzi tutto fondamentale dire che non si intende fare terrorismo e che nel settore degli integratori alimentari lavorano aziende di altissimo livello, che rispettano i presupposti scientifici ed investono nella ricerca per migliorare i loro prodotti, promuovere la salute e proteggere i consumatori. Purtroppo questo concetto non è generalizzabile e numerosi sono gli aspetti da tenere sotto controllo per evitare che il settore "salutistico" dia spazio ad operatori con pochi scrupoli, che danneggiano tra l'altro non solo i consumatori ma anche chi lavora seriamente. A questo proposito possiamo citare il settore degli integratori per sportivi che sono spesso veicolo di sostanze vietate o comunque di ingredienti che vanno considerati dopanti. I punti critici nella definizione della sicurezza degli integratori alimentari sono:

- Problemi di pubblicità/messaggi ingannevoli
- Usi illeciti (doping)
- Problemi di qualità della materia prima
- Problemi di sovradosaggio
- Carenza di informazioni utili
- Interazioni farmaci/integratori
- Scarsa segnalazione degli eventi avversi
- Gli effetti tossici a seguito di esposizione cronica

Il settore degli integratori alimentari è attualmente controllato da diversi organismi internazionali e a livello europeo l'EFSA sta elaborando documenti e nuovi approcci per garantire la salute del consumatore. Nell'ambito del 7° Programma Quadro è stato finanziato il progetto PlantLIBRA con l'obiettivo di promuovere studi su rischi e benefici di questi prodotti. Se infatti non si può negare l'interesse salutistico delle formulazioni a base di ingredienti vegetali, non si può transigere sulla qualità e sul rigore scientifico. PlantLIBRA, ovvero *Plant Food Supplements: Level of Intake, Benefit and Risk Assessment*, è coordinato dall'Università di Milano, è iniziato nel mese di Giugno 2010 e avrà la durata di 4 anni. Include 25 partners di cui 4 paesi extraeuropei (Argentina, Brasile, Cina, Sud Africa). Scopo del progetto è:

- la valutazione critica della letteratura scientifica che sostiene gli effetti salutistici degli integratori con ingredienti botanici
- la raccolta di dati sui rischi associati al consumo di questi prodotti, incluso gli eventi avversi
- la valutazione del rischio/beneficio
- la formazione degli operatori del settore con particolare attenzione ai Paesi extra-europei principali produttori di materia prima, allo scopo di migliorare il controllo della qualità

Bibliografia

1. Restani, P. et al. *Clin. Toxicology* **2008**, *48*, 282-286.
2. Restani, P. A. et al. *Luminescence* **2008**, *23*, 258-259
3. Colombo, M.L et al. *Luminescence* **2008**, *23*, 211-212
4. Persico, A. et al.. *J Analytical Toxicology*. In press

**RIASSUNTI
DEI
POSTER**

N° poster	Titolo	Pagina
1	I fenoli dell'olivo (<i>Olea europea</i>): caratteristiche chimiche e proprietà nutraceutiche. <u>Armandodoriano Bianco</u> , Mauro Serafini, Anna Maria Serrilli, Alessandra Stanzione, Sebastiano Foddai	66
2	Differenti approcci analitici per la determinazione delle proantocianidine da mirtillo rosso. <u>Stefano dall'Acqua</u> , Paola Minesso, Gabbriella Innocenti	67
3	Ruolo della L-carnitina nel trattamento della iperlipoproteina (a) Fabio Galvano, Michele Malaguarnera	68
4	L'1-fenil-6,7-diidrossi-isocromano protegge l'attività NTPDasica microgliale V Latina, AR Togna, G Trefiletti, A Koverech, GI Togna	69
5	Rischi e benefici degli integratori anti-obesità a base di arance amare: il ruolo dell'analisi chimico-tossicologica Roberto Mandrioli, Laura Mercolini, Anna Ferranti, Emanuele Morganti, Domenico Spinelli, Maria Augusta Raggi	70
6	Sostanze farmacologicamente attive negli estratti di camomilla: è solo suggestione? Metodiche analitiche a confronto <u>Emanuele Morganti</u> , Maria Addolorata Saracino, Roberto Mandrioli, Anna Ferranti, Alessandra Molinari, Maria Augusta Raggi	71
7	Sviluppo di ingredienti innovativi per il settore nutraceutico e cosmetico da specie botaniche tradizionali cresciute nelle dolomiti bellunesi: <i>Calendula officinalis</i> <u>Alessandro Portolan</u> , Stefano Dall'Acqua, Ernesto Riva, Giovanni Baratto, Alessandra Semenzato	72
8	Profilo metabolico di zafferano coltivato in Sicilia Laura Siracusa, <u>Fabio Gresta</u> , Umberto Anastasi, Giuseppe Ruberto	73
9	Le anemie sideropeniche: studio non controllato in aperto sull'utilizzo di ferro e sostanze sinergiche Niccolò Visalli, Roberto Pulcri, Heide De Togni	74
10	Il lupino: un nutraceutico per l'alimentazione animale Biagina Chiofalo, Vittorio Lo Presti, Riccardo Fiumanò, Vincenzo Chiofalo, Fabio Gresta	75
11	I glucosinolati: una classe di composti fitochimici nutraceutici <u>Gina Rosalinda De Nicola</u> , Manuela Bagatta, Eleonora Pagnotta, Arnaud Tatibouët, Patrick Rollin, Renato Iori	76
12	Ruolo dei PUFA n-3 nel trattamento nutrizionale delle patologie infiammatorie respiratorie Anna Maria Giudetti, Raffaele Cagnazzo	77
13	Confronto dell'azione sulla riduzione e controllo del peso di integratori alimentari a base di diversi fitoestratti <u>Chiara Lisi</u> , Lisa Buzzoni, Viviana Avallone, Ilaria Cevolani	78
14	Fingerprint della frazione polifenolica di vegetali del genere <i>cichorium</i> <u>Dora Mascherpa</u> , Adele Papetti, Chiara Carazzone, Maria Daglia, Gabriella Gazzani	79
15	I profumi della dieta mediterranea: chimica e bioattività degli oli essenziali di piante officinali siciliane <u>Edoardo M. Napoli</u> , Giusy Curcuruto, Tonia Strano, Giuseppe Ruberto	80
16	Integratori alimentari a base di soia in menopausa: mito o toccasana? Aspetti analitici <u>Maria Addolorata Saracino</u> , Laura Mercolini, Francesca Bugamelli, Maria Augusta Raggi	81
17	Fitocomplessi da foglie di liquirizia (<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.) ad attività anti-infiammatoria come ingredienti per preparati alimentari ad alto valore protettivo <u>Laura Siracusa</u> , Antonella Saija, Mariateresa Cristani, Francesco Cimino, Manuela D'Arrigo, Domenico Trombetta, Felice Rao, Giuseppe Ruberto	82
18	Valutazione di efficacia e tollerabilità a breve termine di un nutraceutico combinato con ad azione ipolipemizzante: uno studio clinico randomizzato	83

	Arrigo F.G. Cicero, Marilisa Bove, Beatrice Gerocarni, Marina Giovannini, Claudio Borghi	
19	Achillea millefolium S.L. come rimedio complementare per i disturbi mestruali: aspetti chimici ed efficacia clinica Francesco Francini-Pesenti, Filippo Brocadello, Laura Bertazzo, Stefano Dall'Acqua, Erich Cosmi, Paola Minesso, Gabriella Innocenti	84
20	Characterization of ribes nigrum and rosmarinus officinalis food supplements A. Grosso, I. Marzochella, P. Aducci, R. Bei, M. Marra	85
21	Nutraceuticals in neurological diseases P. Mainardi, R. Raggio	86
22	Azione prebiotica e crioprotettiva di fibre da nocciola (<i>Corylus avellana</i> L.) Nei confronti di <i>Lactobacillus plantarum</i> p17630 e <i>Lactobacillus crispatus</i> p17631 Rosa Montella, Jean Daniel Coïsson, Fabiano Travaglia, Monica Locatelli, Aldo Martelli, Marco Arlorio	87
23	An analysis of side effects of nutraceutical products involving the immune system Alfredo Nunziata, Valeria Ghirardi	88
24	Applicazione di un metodo HPLC-DAD per la determinazione dell'attività ACE-inibitoria di idrolizzati proteici di legumi Graziana Scigliuolo, Giovanna Boschini, Donatella Resta, Elena Sirtori, Anna Arnoldi	89
25	Il succo di arancia rossa inibisce l'accumulo di grasso in modelli animali L. Titta, M. Trinei, M. Stendardo, I. Berniakovich, K. Petroni, C. Tonelli, P. Riso, M. Porrini, S. Minucci, P.G. Pelicci, P. Rapisarda, G. Reforgiato Recupero, M. Giorgio	90

I FENOLI DELL'OLIVO (*OLEA EUROPEA*): CARATTERISTICHE CHIMICHE E PROPRIETÀ NUTRACEUTICHE

Armandodoriano Bianco, Mauro Serafini, Anna Maria Serrilli, Alessandra Stanzione, Sebastiano Foddai

Dipartimento di Chimica e Dipartimento di Biologia Ambientale, Università di Roma "La Sapienza", Piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma.

Studi epidemiologici hanno evidenziato, nel bacino mediterraneo, che una dieta ricca in cereali, legumi, frutta, verdura, vino, olive ed olio d'oliva, apporta effetti benefici a livello della salute umana. Infatti questi cibi sono ricchi in sostanze antiossidanti, flavonoidi e polifenoli, sostanze che giocano un ruolo molto importante nel prevenire il cancro e le malattie cardiovascolari.

È infatti ormai dimostrato che il contenuto in antiossidanti negli alimenti, principalmente composti polifenolici, assieme a quello in acidi grassi insaturi, conferisce alla dieta mediterranea i suoi effetti benefici.

I frutti di *Olea europæa* L. (il comune olivo) e l'olio che da essi si ricava, sono tra le maggiori fonti di grassi insaturi (acido oleico, linoleico, etc.) e composti fenolici. Pertanto un maggiore utilizzo di olio extra-vergine di oliva, particolarmente ricco in composti fenolici antiossidanti, porterebbe certamente ad una maggiore protezione nei confronti di forme cancerogene (cancro del colon, seno, prostata, pelle, etc.) e disturbi cardiovascolari (ipertensione, infarto, ictus, etc) grazie alla inibizione degli stress ossidativi.

Infatti nella letteratura scientifica esistono oltre cinquecento pubblicazioni che riguardano gli effetti del resveratrolo contenuto nel vino, sul cancro; ne esistono addirittura oltre seicento sull'interazione tra epigallocatechina, contenuta nel tè, e cancro; mentre sono ancora un numero limitato, ma sempre significativi, i lavori sugli effetti dei fenoli biologicamente più attivi, contenuti nell'extra vergine di oliva, nella prevenzione dei tumori.

I numerosi studi epidemiologici, in Italia, ma anche Spagna, Grecia, Francia e persino Nuova Zelanda e Australia, evidenziano come esista una correlazione positiva tra assunzione di olio extra vergine di oliva nella dieta e diminuzione del rischio di insorgenza di tumori, con particolare riferimento a quelli al seno, alla prostata, al colon e alla laringe.

L'oleuropeina è, nella maggior parte degli studi che riguardano olive ed i prodotti derivati, uno dei principali componenti della frazione antiossidante assieme a idrossitirosolo e acidi idrossicinnamici. L'oleuropeina è un efficiente radical scavenger grazie alla sua struttura molecolare, caratterizzata da una parte catecolica che costituisce l'unità responsabile della sua attività antiossidante.

Bibliografia

1. Bianco, A.; Ramunno, A.. The Chemistry of *Olea europæa*, in, Atta-ur-Rahman Ed., *Studies in Natural Products Chemistry*, Elsevier, **2006**, vol 33, p.859-903.

DIFFERENTI APPROCCI ANALITICI PER LA DETERMINAZIONE DELLE PROANTOCIANIDINE DA MIRTILLO ROSSO

Stefano Dall'Acqua, Paola Minesso, Gabriella Innocenti

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche Università degli Studi di Padova, via Marzolo 5, 35131 Padova.

L'ampia diffusione di prodotti a base di mirtillo rosso rende tale materia prima particolarmente interessante per il settore farmaceutico e nutraceutico ove occupa un posto di spicco per prodotti utili per la prevenzione ed il trattamento di infezioni del tratto urinario non complicate^{1,2}. Le sostanze ritenute responsabili dell'azione sono proantocianidine con legami di tipo A^{3,4}. Ad oggi gli estratti commercialmente disponibili presentano titoli in proantocianidine molto diversi fra di loro, e tali dati sono ottenuti con differenti metodiche che non permettono di confrontare i valori dichiarati. La determinazione della quantità delle proantocianidine in un estratto è un problema analitico piuttosto complesso data la grande complessità delle miscele di proantocianidine. Tali composti sono polimeri di unità flavan-3-oliche uniti fra loro con uno o più legami. Possono esistere quindi nello stesso estratto monomeri o oligomeri a basso peso molecolare e, contemporaneamente, polimeri con alto grado di polimerizzazione (DP >10). La differente distribuzione dei polimeri nell'estratto ne caratterizza ovviamente le proprietà, ad esempio ad oggi solo per i piccoli oligomeri (trimeri) sembra essere stata dimostrata efficacia contro l'adesività dei batteri nel tratto urinario. Le metodiche normalmente proposte per le analisi sono raggruppabili in due famiglie: spettrofotometriche ed HPLC⁵. Entrambe gli approcci presentano limiti e nessuno dei metodi attualmente proposti è univocamente accettato. Recentemente un metodo colorimetrico è stato proposto come metodo di analisi ufficiale data la semplicità della determinazione⁶, tale approccio, però appare limitato soprattutto perché non permette di ottenere un fingerprint del prodotto utile ad esempio anche per la verifica dell'invecchiamento dei prodotti finiti.

In questo lavoro saranno presentati risultati ottenuti analizzando estratti di mirtillo rosso mediante un approccio spettrofotometrico (metodica Bate Smith)⁵, confrontati con due metodi cromatografici, uno RP-HPLC ed uno HILIC quest'ultimo sviluppato su colonna a dioli e con rivelatore di massa. Le notevoli differenze osservate mediante l'uso di diversi metodi sugli stessi estratti pone in evidenza la necessità di redigere un protocollo analitico univoco per l'analisi degli estratti di mirtillo rosso in modo da permettere un corretto confronto fra differenti materie prime. Inoltre, data la grande complessità degli estratti in questione sarebbe auspicabile conoscere non solamente il titolo in proantocianidine totali del campione ma anche il grado di polimerizzazione medio.

Bibliografia

1. Howell, AB et al. *BMC Infect Dis.* **2010**; 14: 10-94.
2. Howell, AB et al. *Mol Nutr Food Res.* **2007**; 51: 732-737.
3. Yeap Foo, L et al. *J. Nat. Prod.*, **2000**; 63: 1225-1228.
4. Howell, AB et al. *Phytochemistry*, **2005**; 66: 2281-2291.
5. Hümmer, W et al. *Mol Nutr Food Res.* **2008**; 52:1381-1398.
6. Prior, RL et al. *J Sci Food Agric.* **2010**; 90: 1473-1478.

RUOLO DELLA L-CARNITINA NEL TRATTAMENTO DELLA IPERLIPOPROTEINA(A)

Fabio Galvano, Michele Malaguarnera

Dipartimento di Chimica Biologica, Chimica Medica e Biologia Molecolare, Università di Catania, V.le A. Doria 6, 95125 Catania, Italia.

La lipoproteina(a) [Lp(a)] è una grossa lipoproteina costituita da una LDL la cui apoB100 è legata covalentemente con l'apoproteina(a) [apo(a)] attraverso un ponte disolfuro e costituisce un fattore di rischio cardiovascolare¹. La dieta non influenza particolarmente la quantità di Lp(a). Farmaci ipolipidizzanti tradizionali come le resine, la terapia estrogenica, i fibrati, hanno fornito risultati modesti o nulli. Sembra inoltre che il solo trattamento con le statine non sia in grado di ridurre significativamente i livelli plasmatici di Lp(a)².

È stato evidenziato che la L-carnitina, grazie al ruolo svolto nel metabolismo ossidativo degli acidi grassi, potrebbe influenzare la clearance della Lp(a)³.

La L-carnitina agisce sulla Lp(a); finora è stato ipotizzato un ruolo sull' Apo(a), componente della Lp(a) ma è probabile che ci sia un'azione su altre componenti dell' Lp(a) (ApoB e LDL). Il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato che la concomitante somministrazione di simvastatina ed L-carnitina riduce significativamente i livelli plasmatici di Lp(a) nei pazienti con diabete di tipo 2. Questa riduzione è legata alla riduzione di Apo B100, LDL e apo(a)⁴.

È noto che L-carnitina agisce sul controllo dell'iperglicemia migliorando la sensibilità all'insulina. Inoltre aumenta l'utilizzazione periferica del glucosio nei pazienti con insulinoresistenza⁵. L'azione di controllo della carnitina sulla sintesi di enzimi chiave della glicolisi e gluconeogenesi ha un effetto di riduzione su Lp(a) e apo(a). La L-carnitina agevola il trasporto degli acidi grassi attraverso la membrana mitocondriale interna e la conseguente beta-ossidazione e può ragionevolmente ridurre il livello di acidi grassi deputati alla produzione di apo(a). Il trattamento combinato di simvastatina ed L-carnitina accelera l'utilizzo degli acidi grassi intracellulari, migliorando la capacità di ossidazione degli acidi grassi e può anche inibire l'afflusso di acidi grassi a catena lunga, diminuendo i trigliceridi ed aumentando le HDL nel siero⁶.

Bibliografia

1. Galvano, F. et al. *Front Biosci (Schol Ed)*. **2010**, 2: 866-7.
2. Carlson, L. et al. *J Intern Med* **1989**, 226: 271-6.
3. Sirtori, CR. et al. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **2000**, 10: 247-51.
4. Galvano, F. et al. *Expert Opin Pharmacother* **2009**, 10: 1875-82.
5. Power, RA. et al. *Diabetologia* **2007**, 50: 824-32.
6. Malaguarnera, M. et al. *Metabolism* **2009**, 58: 1618-23.

V. Latina, AR. Togna, G. Trefiletti, A. Koverech, GI. Togna

Dipartimento di Fisiologia e Farmacologia "Vittorio Erspamer", "Sapienza" Università di Roma

Evidenze sempre più numerose indicano che lo stress ossidativo gioca un importante ruolo nella patogenesi di disordini neurodegenerativi e vari sono i lavori presenti in letteratura sul potenziale effetto neuroprotettivo di composti naturali con attività antiossidante^{1,2}.

Scopo di questo lavoro è stato quello di approfondire lo studio del potenziale effetto neuroprotettivo di un isocromano naturale recentemente identificato nell'olio extra-vergine di oliva dell'area mediterranea, l'1-fenil-6,7-diidrossi-isocromano³. Questo composto in nostri precedenti studi aveva mostrato un buon potere antiossidante⁴ e la capacità di inibire la produzione di mediatori dell'infiammazione, nonché l'espressione di proteine pro-infiammatorie quali l'iNOS, la COX-2 e del fattore di trascrizione NF-kB, sia in monociti umani⁵ che in cellule gliali⁶. Viene qui investigato l'effetto dell'1-fenil-6,7-diidrossi-isocromano sull'attività della nucleoside trifosfato difosfoidrolasi microgliale (NTPDasi-1), in presenza o meno di stress ossidativo. Questo enzima appartiene alla famiglia delle ectonucleotidasi⁷ che idrolizzano sequenzialmente l'ATP fino ad adenosina, con attività neuroprotettiva⁸. L'NTPDasi, modulando le concentrazioni extracellulari di ATP, massivamente rilasciato da neuroni e glia in condizioni di stress ossidativo⁹, gioca un ruolo decisivo nell'attivazione delle cellule microgliali¹⁰, attivazione coinvolta nei processi neurodegenerativi su base infiammatoria.

Le prove sono state condotte su colture primarie di cellule microgliali ottenute da corteccia cerebrale di ratto (la sperimentazione è stata condotta nel rispetto delle vigenti leggi, D. L. n. 116 del 27/01/1992). Le colture microgliali sono state trattate con l'isocromano in studio a tre differenti concentrazioni (1-10 e 100 µM) per 24 h e, nelle prove con stress ossidativo, successivamente trattate con H₂O₂ (50 µM, concentrazione scelta sulla base di test di vitalità cellulare) per 30 min. Le cellule sono state, quindi, lavate ed incubate in un tampone specifico a cui veniva aggiunto ATP 0,1 mM. L'attività NTPDasica è stata valutata determinando la concentrazione di fosfato inorganico presente nel medium di reazione dopo 3, 5, 10 e 20 min dall'aggiunta del nucleotide¹¹.

I risultati ottenuti hanno dimostrato che l'1-fenil-6,7-diidrossi-isocromano è capace di stimolare l'attività NTPDasica microgliale a tutte le concentrazioni saggiate. In condizioni di stress ossidativo, l'attività NTPDasica è risultata significativamente ridotta ed il pre-trattamento per 24 h delle cellule microgliali con l'isocromano ha ripristinato tale attività enzimatica, in modo dose-relato.

Questi risultati, dimostrando che l'1-fenil-6,7-diidrossi-isocromano è in grado di potenziare l'attività NTPDasica microgliale e di ripristinarla a seguito di danno ossidativo, confermano un potenziale effetto neuroprotettivo del composto.

Bibliografia

1. Wang, JY. et al. *Curr. Pharm. Des.* **2006**; 12: 3521-32.
2. Zhen LT. et al. *Int. Immunopharmacol.* **2008**; 8: 484-94.
3. Bianco, A. et al. *Food Chem.* **2001**; 77: 405-11.
4. Togna, GI. et al. *J. Nutr.* **2003**; 133: 2532-6.
5. Trefiletti, G. et al. *Br. J. Nutr.* **2011**. In stampa.
6. Latina, V. et al. 34° Congresso Nazionale SIF. **2009**.
7. Braun, N. et al. *J. Neurosci.* **2000**;12: 4357-66.
8. Bruno, AN. et al. *Life Sci.* **2002**; 71:215-25.
9. Kim, SY. et al. *Exp.Mol. Med.* **2007**; 39:820-7.
10. Ferrari, D. et al. *J. Biol. Chem.* **2009**; 274:13205-10.
11. Delwin, D. et al. *Neurochem. Res.* **2007**; 32:1209-16.

RISCHI E BENEFICI DEGLI INTEGRATORI ANTI-OBESITÀ A BASE DI ARANCE AMARE: IL RUOLO DELL'ANALISI CHIMICO-TOSSICOLOGICA

Roberto Mandrioli¹, Laura Mercolini¹, Anna Ferranti¹, Emanuele Morganti¹, Domenico Spinelli², Maria Augusta Raggi¹

¹ Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica, Università di Bologna, via Belmeloro 6, 40126 Bologna, Italia

² Dipartimento di Chimica "G. Ciamician", Università di Bologna, via Selmi 2, 40126 Bologna, Italia

Sono attualmente presenti sul mercato numerosi integratori alimentari dichiaratamente a base di *Citrus x aurantium*, o arancio amaro, un ibrido del genere *Citrus*. Questi integratori sembrano essere utili nelle diete ipocaloriche, in quanto promuovrebbero la riduzione del tessuto adiposo. Tale azione sembra essere correlata al contenuto di ammine adrenergiche (come sinefrina, octopamina e tiramina) dei frutti dell'arancio amaro ¹. In particolare, sinefrina ed octopamina sembrano avere un'azione adrenergica diretta sui recettori β_3 , con attività lipolitica e termogenica; al contrario, la tiramina avrebbe un'azione indiretta, stimolando il rilascio di neurotrasmettitori adrenergici endogeni ¹.

Proprio a causa dei supposti meccanismi d'azione, sono possibili effetti collaterali o tossici a carico del sistema cardiovascolare, come tachicardia ed ipertensione ¹, specialmente se l'assunzione è molto frequente o particolarmente elevata.

È quindi evidente la necessità di procedere ad un accurato controllo di qualità degli integratori, con una duplice finalità: da una parte, evidenziare possibili adulterazioni o supplementazioni con prodotti di sintesi; secondariamente, escludere la possibilità di sovradosaggi accidentali dovuti ad eccessive concentrazioni dei principi attivi.

Per questo motivo si è effettuata la messa a punto di un metodo analitico basato sull'elettroforesi capillare (CE) per il controllo di qualità di integratori commerciali e prodotti erboristici contenenti arance amare, anche allo scopo di individuare eventuali supplementazioni o contaminazioni con efedrina, proibite dalle legislazioni vigenti. La separazione delle quattro ammine adrenergiche è effettuata in un capillare di silice fusa, utilizzando un elettrolita supporto (BGE) a pH acido ed applicando un voltaggio di +20 kV.

Il pre-trattamento consiste in un'estrazione con solvente acquoso sia per i campioni commerciali sia per quelli vegetali, cui segue l'iniezione, effettuata per pressione (5 mbar, 50 s). L'identificazione dei composti avviene per confronto dei tempi di migrazione e degli spettri di assorbimento UV. La procedura analitica proposta ha dato buoni risultati di precisione, selettività ed accuratezza, risultando quindi adatta per scopi di controllo di qualità.

Utilizzando questo metodo si sono potute valutare le concentrazioni di sinefrina, octopamina e tiramina di tutte le matrici considerate, e si è inoltre potuto identificare un caso di sospetta adulterazione per aggiunta di sinefrina sintetica.

Bibliografia

1. Putzback, K. et al. *J Chromatogr A*. **2007**, 1156:304-311.
2. Broadley, KJ. et al. *Pharmacol Ther*. **2010**; 125: 363-375.
3. Hibino, T. et al. *J Pharmacol Sci*. **2009**; 111:73-81.

SOSTANZE FARMACOLOGICAMENTE ATTIVE NEGLI ESTRATTI DI CAMOMILLA: È SOLO SUGGERZIONE? METODICHE ANALITICHE A CONFRONTO

Emanuele Morganti¹, Maria Addolorata Saracino¹, Roberto Mandrioli¹, Anna Ferranti¹, Alessandra Molinari², Maria Augusta Raggi¹

¹ Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica, Università di Bologna, via Belmeloro 6, 40126 Bologna, Italia

² Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara, Via Borsari 46, 44100 Ferrara, Italia

I capolini di diverse specie di camomilla (*Matricaria recutita*, *Chamaemelum nobile*) sono utilizzati sotto forma di decotti ed infusi in virtù delle loro presunte proprietà terapeutiche. Numerosi studi svolti negli ultimi 20 anni hanno evidenziato la presenza di sostanze farmacologicamente attive di natura sia idrofila che lipofila¹.

Tra i principi attivi idrosolubili l'apigenina (nella forma libera e in quella di O-glucoside) ha mostrato attività antinfiammatoria e spasmolitica (come riportato in diversi lavori scientifici sugli estratti acquosi e idroalcolici di camomilla). Anche i costituenti principali dell'olio essenziale, camazulene, alfa-bisabololo, bisabololo ossido e beta-farnesene risultano avere proprietà antiflogistiche, antinfiammatorie, spasmolitiche, cicatrizzanti, antibatteriche e antiossidanti¹.

L'importanza della camomilla dal punto di vista farmacologico è testimoniata anche dalle monografie presenti nelle Farmacopee Ufficiali di 26 paesi e in quella Europea. Pertanto è indispensabile disporre di metodiche analitiche precise e affidabili per poter quantificare esattamente il contenuto di queste sostanze.

Per la separazione e l'analisi dell'apigenina negli estratti di camomilla si è sviluppato un metodo HPLC-DAD in grado di quantificare l'apigenina libera, l'apigenina 7-O-glucoside e l'apigenina totale ottenuta in seguito ad idrolisi. Si utilizza una colonna C18 a fase inversa ed una fase mobile composta da acqua ed acetonitrile. Questa metodica è stata messa a confronto con un metodo elettroforetico (CZE-DAD) che utilizza un tampone borato a pH basico. I risultati, ottenuti in modo indipendente con le due tecniche, sono in buon accordo tra loro (contenuto di apigenina non inferiore a 0,25%).

Inoltre si sta sviluppando un metodo originale semplice e veloce, basato sulla elettrocromatografia micellare (MEKC) per la determinazione quantitativa del contenuto di camazulene, alfa-bisabololo, bisabololo ossido e beta-farnesene nell'olio essenziale commerciale (ottenuto per distillazione) e nell'olio estratto dai capolini con solventi organici. I primi risultati, confrontati con quelli ottenuti con la metodica ufficiale GC presente nella Farmacopea Europea², sembrano promettenti.

Bibliografia

1. McKay, DL. et al. *Phytother Res.* **2006**; 20: 519-530.
2. *European Pharmacopoeia* 6th edition. **2008**; 2343-2344.

SVILUPPO DI INGREDIENTI INNOVATIVI PER IL SETTORE NUTRACEUTICO E COSMETICO DA SPECIE BOTANICHE TRADIZIONALI CRESCIUTE NELLE DOLOMITI BELLUNESI : *CALENDULA OFFICINALIS*

Alessandro Portolan², Stefano Dall'Acqua¹, Ernesto Riva², Giovanni Baratto², Alessandra Semenzato¹

¹Dipartimento di Scienze Farmaceutiche Università degli Studi di Padova, via Marzolo 5, 35131 Padova.

² Unifarco spa. Via Cal Longa, 62. 32035. S.Giustina Belluno

La crescente richiesta da parte del mercato dei settori nutraceutico, cosmeceutico e cosmetico di differenziazione dei prodotti spinge le aziende del settore alla ricerca di nuovi ingredienti di origine naturale. In quest'ottica lo sviluppo di estratti ottenuti da specie botaniche appartenenti alla tradizione europea ma ottenuti con sistemi estrattivi innovativi o alternativi risulta attrattiva. Un esempio che è stato realizzato nel corso di questo lavoro è lo sviluppo di ingredienti da capolini di *C. officinalis* mediante l'uso di estrazioni in CO₂ supercritica e l'utilizzo del materiale residuo dalla prima estrazione per l'ottenimento di una seconda materia di differente composizione. *C. officinalis* è tradizionalmente utilizzata sia per uso topico per gli effetti antiinfiammatori e cicatrizzanti, che per uso interno come emmenagogo, coleretico e protettivo della mucosa gastrica^{1,2}. I composti ritenuti più importanti per l'azione antiinfiammatoria sono da un lato i triterpeni esteri (faradiolo, arnidiolo e calenduladiolo esteri)^{2,3} dall'altro i flavonoidi glicosilati (derivati di quercetina ed isoramnetina). Scopo del presente lavoro era sviluppare estratti arricchiti selettivamente in tali sostanze per ottenere materie prime con caratteristiche innovative.

In primis si è proceduto alla estrazione selettiva dei triterpeni esteri. Tali sostanze sono particolarmente lipofile e vengono efficacemente estratte con la CO₂ supercritica⁴. Il residuo vegetale che deriva da questa lavorazione viene invece trattato mediante estrazione in ultrasuoni utilizzando miscele etanolo acqua ottenendo un secondo estratto ricco invece composti idrofili. Sia gli estratti ottenuti mediante CO₂ supercritica, e quelli idrofilici sono stati sottoposti ad accurate analisi HPLC-APCI-MS/MS, ed HPLC-ESI-MS/MS per l'identificazione e la quantificazione dei composti presenti. I composti prevalenti nell'estratto in supercritica erano i triterpeni esteri in particolare i derivati del faradiolo; negli estratti idrofili invece venivano concentrati i flavonoidi glicosilati in particolare derivati glicosilati di quercetina ed isoramnetina.

Considerando i triterpeni abbiamo confrontato i titoli degli estratti in CO₂ con quelli di estratti ottenuti sul materiale essiccato per macerazione con etanolo, osservando un titolo medio del 5% per i primi contro 0,1-0,05 % presenti nelle tinture. L'ottenimento di estratti con fluidi supercritici appare dunque molto vantaggioso per la realizzazione di materie prime ad elevato titolo in composti lipofili, tale approccio estrattivo inoltre permette di fare lavorazioni senza utilizzare solventi garantendo dunque un processo rispettoso dell'ambiente ed un prodotto finito che non presenta alcun residuo di solvente chimico.

Per quanto riguarda il materiale vegetale residuo dalla lavorazione in supercritica esso è stato utilizzato per ottenere estratti ricchi in flavonoidi glicosilati mediante estrazioni in acqua o in acqua etanolo tramite ultrasuoni. I flavonoidi presenti negli estratti ottenuti dai residui delle precedenti lavorazioni sono risultati essere derivati glicosilati di quercetina ed isoramnetina.

Tale approccio permette dunque di ottenere due differenti tipologie di estratti dalle caratteristiche completamente differenti mediante l'utilizzo di tecniche estrattive opportune.

Bibliografia

1. Basch, E. et al. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*. **2006**; 6: 135-159
2. Zitterl-Eglseer, K. et al. *J Ethnopharmacol*. **1997**; 57: 139-144
3. Baumann D. et al. *Phytochemical analysis*. **2004**; 15: 226-230
4. Hamburger, M. et al. *Fitoterapia*. **2003**; 74: 328-338

PROFILO METABOLICO DI ZAFFERANO COLTIVATO IN SICILIA

Laura Siracusa¹, Fabio Gresta², Umberto Anastasi³, Giuseppe Ruberto¹

¹Istituto del CNR di Chimica Biomolecolare, Via Paolo Gaifami 18, 95126 Catania, Italy

²Dipartimento di Scienze Agronomiche, Agrochimiche e delle Produzioni Animali, Università di Catania, Via Valdisavoia 5, 95123 Catania, Italy

³Dipartimento di Biotecnologie per il Monitoraggio Agroalimentare ed Ambientale, Università Mediterranea di Reggio Calabria, C.da Melissari, 89124 Reggio Calabria, Italy.

Lo zafferano (*Crocus sativus* L.), Iridaceae, è una pianta triploide sterile che non produce frutti e la cui propagazione avviene soltanto per mezzo dei bulbi. Lo zafferano è una spezia impiegata da millenni grazie alle peculiari caratteristiche che è in grado di conferire ai cibi (colore, sapore e aroma). Tali caratteristiche organolettiche sono dovute a specifici metaboliti contenuti negli stigmi: le crocine responsabili del colore, la picrocrocina del sapore amaro ed il safranale dell'aroma. A queste sostanze è stata riconosciuta una significativa attività antiossidante, antitumorale e chemopreventiva, ed un effetto protettivo sul sistema nervoso centrale e su quello cardiovascolare¹. In particolare le crocine, fra i pochi carotenoidi idrosolubili, hanno mostrato delle interessanti proprietà nutraceutiche.

La coltivazione di zafferano in Italia è concentrata principalmente in Abruzzo e Sardegna, ma in questi ultimi anni si è osservato un significativo incremento della produzione in Sicilia, dove lo zafferano è impiegato come ingrediente nella produzione di un tipico formaggio locale, il "*Piacintinu ennese*". Pertanto, allo scopo di promuoverne la diffusione, è stato studiato l'effetto dell'ambiente di coltivazione, delle epoche e della densità di impianto, e delle dimensioni dei bulbi sulle principali caratteristiche organolettiche.

I vari campioni di zafferano sono stati sottoposti ad analisi chimiche che hanno comportato l'uso della microestrazione in fase solida (SPME) e la successiva analisi gas cromatografica – spettrometria di massa (GC-MS) per i componenti responsabili dell'aroma; e l'estrazione con solventi e analisi mediante cromatografia liquida abbinata a rivelatori ultravioletto-visibile a fotodiodi e spettrometria di massa (LC-UV-vis-DAD-MS), per i componenti responsabili del colore e del sapore. Una ulteriore indagine ha comportato l'applicazione di un metodo ISO (International Organization for Standardization), specifica per lo zafferano, che attraverso misure spettrofotometriche a 440 e 257 nm, permette di stabilire una graduatoria qualitativa dei campioni (I-II-III cat.)

Nel complesso i campioni hanno mostrato valori di crocina e picrocrocina piuttosto elevati rispetto ai valori citati in letteratura, appartenendo nella quasi totalità alla I categoria ISO. Lo zafferano coltivato nell'ambiente posto a 500 m s.l.m. ha mostrato un contenuto di crocine e picrocrocina superiore a quello coltivato a quota più elevata (700 m s.l.m.). Lo zafferano ottenuto dai bulbi messi a dimora in epoca precoce è risultato avere caratteristiche organolettiche superiori a quello interrato in epoca tardiva. Nessuna differenza è emersa a carico della dimensione del bulbo e della densità di impianto.

Bibliografia

1. Gresta, F. et al. *Agron. Sustain. Dev.* **2008** ; 28 : 95-112.

LE ANEMIE SIDEROPENICHE: STUDIO NON CONTROLLATO IN APERTO SULL'UTILIZZO DI FERRO E SOSTANZE SINERGICHE

Niccolò Visalli¹, Roberto Pulcri², Heide De Togni³

¹ Direttore Sanitario OMOIOS-Accademia Italiana Medicine Tradizionali, ROMA, Docente del Master triennale in Agopuntura Clinica, Tor Vergata

² Centro Studio OMOIOS-Accademia Italiana Medicine Tradizionali, ROMA, Docente del Master triennale in Agopuntura Clinica, Università di Roma Tor Vergata

³ Direttore Tecnico Pegaso srl

La carenza di ferro risulta essere una problematica di vasto interesse e diffusione a livello planetario. I dati epidemiologici mostrano come in Europa ne sia colpito circa il 29% della popolazione totale.¹ Tra i bambini fino a 14 anni la percentuale che manifesta sideropenia varia dal 2-48 %, con una presenza di anemia conclamata tra il 2-4%. Le donne rappresentano la principale categoria a rischio con un valore in età fertile tra il 10 e il 30% con anemia nel 15% dei casi. Le donne in gravidanza sono le più colpite con il 62% di sideropenia e il 30% di anemia ferropriva. Dopo la menopausa il problema si presenta nel 25-30% di casi. Nella terza e quarta età le donne raggiungono il 20%, gli uomini il 26%. Una tra le problematiche più frequentemente riscontrate nella terapia marziale è la scarsa tollerabilità gastro-intestinale dei preparati farmaceutici a base di ferro. È stato effettuato uno studio non controllato in aperto² allo scopo di valutare tollerabilità ed efficacia di un preparato a base di ferro ed estratti vegetali³ su pazienti con anemia ferropriva. Il presente studio segue un protocollo codificato e le regole della Good Clinical Practice (GCP). Lo studio è stato condotto in un unico centro (Centro Clinico OMOIOS – Roma), in accordo con la dichiarazione di Helsinki. Sono stati arruolati 40 pazienti di età compresa tra i 7 e gli 85 anni. I principali criteri ematochimici di indagine sono stati: Emoglobina, MCHC, MCV, MCH, Ematocrito, Piastrine, Formula Leucocitaria, Sideremia, Trsferrina, Ferritina: valutati al basale (T0) e dopo 60 giorni (T60). I risultati hanno messo in evidenza l'efficacia del preparato, infine è stata rilevata una ottima compliance complessiva.

Di seguito i principali risultati dello studio:

- dopo 60 giorni l'Hb è rientrata nella norma nell'87.5% dei casi (12.1 – 13.5 g/dl) così come l'Ht nell'80% dei casi (38.1 – 40.5%).
- Gli eritrociti sono risultati nel 65% dei casi superiori ai 4.200.000.
- La sideremia ha ottenuto un buon incremento nel 55% dei casi (37.1 – 40) e ottimo nel 40% (>40).
- La Trsferrina è nel 97,5% dei casi fra 0.21 – 0.29. La Ferritina nel range superiore a 30 è passata da 2.5% a 60%.

Bibliografia

1. Iron deficiency in Europe Serge Hercberg*, Paul Preziosi and Pilar Galan Unite de Sur veillance et d'Epidemiologie Nutritionnelle (USEN), In: VS/Institut Scientifique et Technique de la Nutrition et de l'Alimentation, CNAM, 5 rue Vertbois, F-75003 Paris, France Public Health Nutrition: 4(2B), 537-545

2. Il presente studio segue un protocollo codificato e le regole della Good Clinical Practice (GCP). Lo studio è stato condotto in un unico centro (Centro Clinico OMOIOS – Roma), in accordo con la dichiarazione di Helsinki.

3. AXIFERRO, Pegaso Srl, www.pegaso.eu

IL LUPINO: UN NUTRACEUTICO PER L'ALIMENTAZIONE ANIMALE

Biagina Chiofalo¹, Vittorio Lo Presti¹, Riccardo Fiumanò¹, Vincenzo Chiofalo¹, Fabio Gresta²

¹ Dipartimento di Morfologia, Biochimica, Fisiologia e Produzioni animali, Università degli Studi di Messina, Polo Universitario Annunziata, 98168 - Messina, Italia

² Dipartimento di Scienze Agronomiche, Agrochimiche e delle Produzioni Animali, Università di Catania, Via Valdisavoia, 5 95123 - Catania, Italia

Negli ultimi anni la crescente domanda di prodotti di origine animale di tipo biologico e le restrizioni imposte dalla UE sull'utilizzo di additivi ad azione auxinica in alimentazione animale¹ hanno orientato l'interesse scientifico verso l'impiego in ambito zootecnico dei nutraceutici, al fine di assicurare elevati livelli di benessere animale² e sicurezza alimentare. Tra le leguminose da granella, il lupino, la cui diffusione nell'alimentazione animale è stata recentemente promossa dalla selezione di varietà a bassissimo contenuto di alcaloidi chinolizidinici, possiede per il suo particolare profilo nutrizionale proprietà nutraceutiche³. Numerosi studi hanno evidenziato le specificità del lupino, rispetto ad altri alimenti di origine vegetale, nella composizione in acidi grassi omega-3, di cui oramai è ampiamente riconosciuto il ruolo nella prevenzione delle malattie cardiovascolari, autoimmuni e infiammatorie⁴. In Italia, tuttavia, la sua diffusione è ancora piuttosto limitata sia nella coltivazione che come alimento zootecnico. Pertanto, nell'ottica di rilanciare questa coltura proteica nella filiera agro-alimentare, scopo del lavoro è stato quello di confrontare le caratteristiche produttive e nutrizionali delle 3 più diffuse specie di Lupino, impiegando cultivar migliorate sotto il profilo nutrizionale, ponendo particolare attenzione alla identificazione e quantificazione degli acidi grassi. La prova è stata condotta in un terreno vulcanico sito nella Sicilia orientale (Acireale, CT - 16 m s.l.m.) su 3 varietà "dolci" di lupino appartenenti alle specie *L. albus* var. Luxor, *L. angustifolius* var. Jindalee e *L. luteus* var. Dukat. Per quanto riguarda i parametri produttivi, è stata valutata la resa e le sue componenti, mentre per ciò che concerne i parametri nutrizionali sono stati determinati il contenuto in lipidi grezzi e il profilo degli acidi grassi mediante GC-FID. L'identificazione degli acidi grassi è stata effettuata tramite confronto con standard commerciali e la quantificazione espressa in percento sul totale degli acidi grassi identificati. Tutte le analisi di laboratorio sono state eseguite in triplicato ed i risultati sono stati sottoposti ad analisi della varianza, previa trasformazione dei valori percentuali in valore angolare, utilizzando in presenza di significatività il test di Tukey. Tutte le specie si sono adattate all'ambiente di coltivazione; tra le specie studiate il *L. albus* ha fatto registrare rese produttive significativamente più elevate rispetto al *L. angustifolius* e *L. luteus*. Tuttavia, il *L. luteus* ha mostrato caratteristiche nutrizionali migliori con il più elevato contenuto percentuale in proteina, il minor contenuto in lignina⁵ e con valori significativamente più elevati degli acidi grassi polinsaturi, specificatamente di linoleico, in linea con quanto riportato dalla letteratura⁶. L'acido alfa-linolenico ha mostrato percentuali intermedie rispetto alle altre specie. Gli indici di qualità, Aterogenico e Trombogenico, sono risultati significativamente migliori nel *L. luteus*. Il lupino potrebbe rappresentare pertanto una coltura alternativa nei sistemi agro-zootecnici delle aree del mediterraneo specialmente nelle filiere orientate verso produzioni biologiche di qualità e/o con elevate caratteristiche di tracciabilità .

Bibliografia

1. European Commission Decisions Nos. **98/272/CE** and **2000/374/CE**.
2. Viveros, A. et al. *Poultry Science*. **2007**; 86: 2631-2638.
3. Arnoldi, A. Proc. 12th Int. Lupin Conference, Fremantle, West. Australia, 14-18 Sept. **2008**.
4. Cocchi, M. *Progress in Nutrition*. **2000**; 2: 43-51.
5. Gresta, F. et al. *Italian Journal of Agronomy*. **2010**, in stampa.
6. Uzun, B et al. *Food Chemistry*. **2007**; 102: 45-49.

I GLUCOSINOLATI: UNA CLASSE DI COMPOSTI FITOCHIMICI NUTRACEUTICI

Gina Rosalinda De Nicola¹, Manuela Bagatta¹, Eleonora Pagnotta¹, Arnaud Tatibouët², Patrick Rollin², Renato Iori¹

¹ CRA - Centro di Ricerca per le Colture Industriali, Via di Corticella 133 – 40128, Bologna.

² ICOA-UMR 6005, Université d'Orléans, BP 6759, 45067 Orléans, France

Email: g.denicola@isci.it; renato.iori@entecra.it

Una correlazione diretta tra il consumo di *Brassicaceae* quali broccoli, rucola, cavoli, ravanelli ecc. e la riduzione dell'incidenza di numerose forme tumorali è sostenuta sia da studi epidemiologici, sia da studi *in vitro* ed *in vivo*¹. La protezione da queste patologie è stata attribuita alla presenza nelle parti eduli dei vegetali di non trascurabili quantità di glucosinolati (GLs).

I GLs costituiscono una vasta classe di composti β -tioglucosidici, esclusivi del regno vegetale. In natura sono stati identificati oltre 120 GLs che possiedono una struttura comune formata da una parte glucosidica con un tioidrossimato anomerico O-solfatato collegato a una catena laterale variabile sulla base della quale si suddividono in tre classi: alchilici, arilalifatici e indolici². La concentrazione e il tipo di GLs variano a seconda del vegetale e del luogo di coltivazione attestandosi a livelli di circa 5-25 micromoli g⁻¹ in orticole da mensa³, mentre i germogli cresciuti per 4-7 giorni ne contengono quantità circa 5-10 volte maggiori.

I GLs sono idrolizzati dall'enzima mirosinasi (β -tioglucoside glucohydrolase, EC. 3.2.1.147) o dalla microflora intestinale in isotiocianati (ITC). Numerosi studi hanno attribuito agli ITC della dieta, sia la capacità di alterare il metabolismo dei cancerogeni, attraverso una modulazione degli enzimi del metabolismo degli xenobiotici, sia un effetto apoptotico su cellule tumorali⁴. Un ITC che ha evidenziato una potenziale attività chemiopreventiva e/o chemioterapica è il sulforafano⁵.

L'esperienza ventennale maturata ci ha consentito sia di identificare i GLs presenti in orticole da mensa e germogli di *Brassicaceae*, mediante analisi HPLC metodo ISO 9167-1, sia di isolare una vasta gamma di GLs di interesse nutraceutico-farmacologico, in particolare la glucorafanina⁶, precursore del sulforafano, ad elevato grado di purezza, maggiore del 95%.

Bibliografia

1. IARC Handbooks of Cancer Prevention, vol. 9 IARC Press, Lyon **2004**.
2. Fahey, JW. et al. *Phytochemistry*. **2001**; 56: 5-51.
3. Kushad, MM. et al. *J. Agric. Food Chem.* **1999**; 47: 1541-1548.
4. Hays, JD. et al. *Eur J Nutr.* **2008**; 47 (Suppl 2) : 73-88
5. Fimognari, C. et al. *Carcinogenesis*. **2002**; 23 (4): 581-586.
6. Razis, AFA. et al. *Toxicology*. **2010**; 277: 74-85

RUOLO DEI PUFA N-3 NEL TRATTAMENTO NUTRIZIONALE DELLE PATOLOGIE INFIAMMATORIE RESPIRATORIE

Giudetti Anna Maria¹, Cagnazzo Raffaele²

¹ Laboratorio di Biochimica e Biologia Molecolare, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, Università del Salento, Lecce Via Prov.le Lecce-Monteroni, 73100 Lecce e-mail: anna.giudetti@unisalento.it

² Dirigente Medico UOC Servizio Pneumotisiologico Aziendale ASL, P.zza Bottazzi 1, 73100 Lecce

Gli acidi grassi introdotti con la dieta sono componenti specifici dei fosfolipidi delle membrane cellulari. L'infiammazione è modulata dagli eicosanoidi e da altri mediatori che sono generati a partire da acidi grassi. Esistono quindi correlazioni tra acidi grassi assunti con la dieta e infiammazione. E' stato ampiamente dimostrato che gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) della serie n-3, al contrario dei PUFA della serie n-6, hanno un effetto antinfiammatorio. Un aumento del rapporto n-6/n-3, causato da uno scorretto apporto alimentare di acidi grassi, è stato correlato ad un costante incremento di patologie infiammatorie, allergiche e auto-immunitarie [1,2]. In patologia respiratoria gli interventi nutrizionali con supplementazione di PUFA n-3 hanno mostrato avere particolari benefici nei pazienti BPCO [3] e nelle malattie allergiche che risultano particolarmente influenzate dalla nutrizione [4].

Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la composizione lipidica eritrocitaria di donne (n=4) di età compresa tra 25 e 30 anni affette da asma bronchiale allergica, prima e dopo trattamento alimentare per 4 mesi con 750 mg/die complessivi di PUFA n-3, di cui mg 400 di acido eicosapentaenoico (EPA 20:5), mg 200 di acido docosaesaenoico (DHA 22:6) e mg 150 altri acidi grassi della serie n- 3.

L'analisi della composizione dei lipidi di membrane eritrocitarie, effettuata prima del trattamento dietetico, evidenziava un elevato (+15 %) valore del rapporto acidi grassi saturi/acidi grassi monoinsaturi, in confronto a valori standard di riferimento, un aumento (+23 %) del contenuto di acido vaccenico (C18:1 trans-11) correlabile ad un elevato consumo di carne e salumi ed un valore più alto, rispetto ai valori standard, di acido arachidonico (C20:4 n-6). Per quanto riguarda i PUFA n-3 è stato osservato un decremento (-14%) del valore di DHA e di EPA. Il valore del rapporto n-6/n-3, prima del trattamento dietetico, risultava al di sopra (+15.2%) dei valori standard. La supplementazione di PUFA n-3 induceva un miglioramento delle manifestazioni cliniche e della funzionalità respiratoria e conseguentemente una netta riduzione dell'assunzione di farmaci, accompagnato da un riequilibrio del profilo lipidomico con decremento dei PUFA n-6 e normalizzazione del rapporto n-6/n-3 che da un valore iniziale di 6,3 scendeva ad un valore finale di 3,4.

Bibliografia

- 1 De Pablo, MA. et al. *Immunol Cell Biol.* **2000**; 78: 31-39
- 2 Daynes, RA. et al. *Nature.* **2002**; 2: 748-759
- 3 Broekhuizen, R. et al. *Thorax.* **2005**; 60: 376-382
- 4 Stephensen, CB. *Nutr Rev.* **2004**; 62: 486-489

CONFRONTO DELL'AZIONE SULLA RIDUZIONE E CONTROLLO DEL PESO DI INTEGRATORI ALIMENTARI A BASE DI DIVERSI FITOESTRATTI

Chiara Lisi, Lisa Buzzoni, Viviana Avallone, Ilaria Cevolani

NATURHOUSE srl, via Caselli 11/f, 44124 Ferrara, Italia

Il sovrappeso e l'obesità sono i disordini nutrizionali più comuni nei paesi sviluppati. Negli USA la prevalenza del sovrappeso riguarda il 34% degli adulti e l'obesità il 27%, in Italia la popolazione obesa è stimata in circa 4 milioni di soggetti ed almeno 20 milioni di italiani hanno problemi di peso¹. E' inoltre riconosciuto che l'obesità determina un incremento del rischio di sviluppare ipertensione, iperlipidemia, diabete di tipo 2 e malattie coronariche². Una diminuzione del peso può far diminuire questi rischi ed un'efficace riduzione del peso corporeo può essere ottenuta modificando stile di vita ed abitudini alimentari. Gli effetti di questi importanti cambiamenti possono essere ottimizzati ed resi maggiormente efficaci con l'utilizzo sinergico di integratori a base di fitoestratti ad azione diversificata. Ad esempio diverse pubblicazioni scientifiche mettono in evidenza l'azione ipolipemizzante e coleretica dell'estratto di carciofo³ (*Cynara scolymus*), l'azione antiaggregante piastrinica, antinfiammatoria ed antiepatotossica dei bioflavonoidi⁴ o ancora l'azione stimolante nei confronti del metabolismo delle alghe⁵ ricche di iodio.

Sulla base di quanto appena riportato e visto il crescente interesse e consumo di integratori alimentari come messo in evidenza da una recente indagine demoscopica⁶ svolta da AIIPA (*Associazione Italiana Industrie Prodotti Alimentari*) è stato intrapreso uno studio volto a valutare l'azione di integratori nutrizionali a base di diversi fitoestratti su soggetti sovrappeso che si sono rivolti ai nostri centri di rieducazione alimentare, presenti su tutto il territorio nazionale. Tale studio è stato condotto su soggetti di età compresa tra i 35 ed i 55 anni di età, caratterizzati da un'IMC compreso tra 25 e 29,9 e senza alcun tipo di patologia. Per ogni soggetto sono state registrate oltre alle variazioni ponderali anche le modifiche riguardanti l'eccesso di grassi e liquidi corporei attraverso un'analisi bioimpedenziometrica. I soggetti sono stati suddivisi in tre gruppi da 35 individui ciascuno e trattati per 8 settimane con un approccio integrato composto da un piano alimentare standard da 1500 Kcal circa in associazione a complementi nutrizionali caratterizzati da diversi estratti naturali e diverse proprietà. I prodotti selezionati sono stati suddivisi nel seguente modo: Gruppo A caratterizzato da prodotti a base di carciofo (*Cynara scolymus*); Gruppo B che comprende prodotti a base di mirtillo (*Vaccinium myrtillus*), vite rossa (*Vitis vinifera*) e arancio amaro (*Citrus aurantium*); Gruppo C contenente prodotti a base di carnitina ed estratti d'alga (*Fucus vesiculosus*).

I dati raccolti hanno messo in evidenza una riduzione media del peso corporeo paragonabile in ogni gruppo coinvolto nell'analisi. Alla riduzione di peso si è però associata un'azione diversa nei confronti dei grassi e liquidi in eccesso presenti nei soggetti in analisi. Infatti la perdita di grassi si è rivelata maggiore nel gruppo B ovvero quello trattato con complementi nutrizionali ricchi di bioflavonoidi mentre la riduzione di liquidi si è rivelata più cospicua nel gruppo A caratterizzato dall'utilizzo di prodotti a base di carciofo (*Cynara scolymus*). Inaspettatamente il gruppo C, trattato con integratori nutrizionali a base di carnitina ed estratti d'alga ha mostrato valori di riduzione di grassi e liquidi corporei complessivamente inferiori rispetto agli altri due gruppi.

Bibliografia

1. Indagine multiscopo ISTAT "Condizioni di salute e ricorso ai servizi sanitari"
2. NHI publication n°98-4083 sep **1998** National Institute of Health.
3. a) Sannita, A. *Minerva Gastroenterol Dietol.* **2010**; 56(2):93-9. b) Petrowicz, O et al. *Atherosclerosis.* **1997**: 129-147.
4. a) Gohel, MS; Davies, AH. *Curr Vasc Pharmacol.* **2009**; 7(3):303-8. b) Katsenis, K. *Curr Vasc Pharmacol.* **2005**; 3(1):1-9. c) Bladé, C. et al. *Mol Nutr Food Res.* **2010**; 54(1):37-59.
5. a) Moro, CO; Basile, G. **2000**; 71 Suppl 1:S73-82. b) Miyata, M. et al. **2009**; 73(10):2326-8.
6. Italiani e integratori alimentari – Indagine demoscopica, *L'integratore nutrizionale* **2010**; 13(2): 69

FINGERPRINT DELLA FRAZIONE POLIFENOLICA DI VEGETALI DEL GENERE *CICHORIUM*

Dora Mascherpa, Adele Papetti, Chiara Carazzone, Maria Daglia, Gabriella Gazzani

Dipartimento di Chimica Farmaceutica, Laboratorio di Chimica degli Alimenti, Università degli Studi di Pavia, Viale Taramelli 12, 27100 Pavia, Italia

E' ormai accertato che il consumo quotidiano di frutta e verdure diminuisce significativamente il rischio di sviluppare diversi tipi di patologie cronico-degenerative oggi molto diffuse nei Paesi occidentali¹⁻⁵. Tale effetto protettivo è da attribuire, almeno in parte, ai polifenoli presenti nei vegetali che possiedono proprietà antiossidanti e antiradicaliche e presentano la capacità di agire sull'espressione di particolari geni e sull'attività di enzimi coinvolti nel mantenimento dell'equilibrio redox e nello sviluppo dei processi infiammatori⁶⁻⁷. Per questi motivi risulta molto importante conoscere la composizione quali- quantitativa della componente polifenolica dei vegetali della nostra dieta

La componente polifenolica dei vegetali del genere *Cichorium*, è già stata oggetto di numerosi studi, tuttavia essa non risulta ancora ben definita soprattutto per quanto riguarda le numerose forme isomeriche con cui i componenti delle diverse classi di polifenoli sono presenti nelle diverse specie appartenenti a questo genere.

La presente ricerca è stata condotta con lo scopo di individuare e caratterizzare, applicando la tecnica accoppiata RP-HPLC-DAD-ESI/MSⁿ, i diversi isomeri 1) dell'acido idrossicinnamico (acidi caffeoil- e feruloilchinici), 2) dei flavonoli (in particolare derivati mono e diglicosidici di Kampferolo e quercetina), e 3) dei flavanoli presenti in vegetali a foglia verde appartenenti alle specie *C. intybus* e *C. endivia*.

Bibliografia

1. Androutsopoulos, VP. et al. *Pharmacol Ther.* **2010**; 126: 9-20.
2. Soory, M. *Infect Disord Drug Targets.* **2009**; 9: 400-414.
3. Landis-Piwowar, KR. et al. *Curr Mol Pharmacol.* **2008** ; 1: 233-243.
4. Queen, BL. et al. *Curr Aging Sci.* **2010**; 3: 34-42.
5. Kim, J. et al. *J Neurochem.* **2010**; 112 : 1415-1430.
6. Nicholson, SK. et al. *Proc Nutr Soc.* **2008**;67, 42-47.
7. Salas, A. et al. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* **2009**; 2: 43-52.

I PROFUMI DELLA DIETA MEDITERRANEA: CHIMICA E BIOATTIVITA' DEGLI OLI ESSENZIALI DI PIANTE OFFICINALI SICILIANE

Edoardo M. Napoli, Giusy Curcuruto, Tonia Strano, Giuseppe Ruberto

Istituto del CNR di Chimica Biomolecolare, Via Paolo Gaifami, 18, 95126 Catania, Italy

Il bacino del Mediterraneo è un'area climaticamente e geomorfologicamente peculiare in cui la Sicilia, grazie alla sua posizione centrale e la sua estensione, gioca un ruolo predominante. Il clima siciliano con la sua variabilità tra stagioni con temperature moderate e bassi tassi di umidità e stagioni più calde o ancora più fredde, favorisce la biodiversità vegetale del suo territorio e promuove sempre diverse strategie biologiche adattative a questa variabilità stagionale del proprio patrimonio vegetale. E' in questo tipo di contesto che molti taxa della famiglia delle Labiatae trovano il loro habitat ideale, entrando nel novero di quelle piante 'utili' a diversi scopi sin dall'antichità. Piante appartenenti a questi taxa sono infatti al giorno d'oggi utilizzate per diversi scopi, dall'alimentazione umana ed animale, all'uso medicinale umano e veterinario, al controllo dei parassiti, in aromaterapia ed in campo cosmetico¹. Alcune di esse trovano anche vasta applicazione come piante ornamentali nei parchi e nei giardini².

In questa ricerca, sono state studiate la composizione quali-quantitativa e le attività antiossidanti degli oli essenziali estratti da piante officinali selvatiche, con l'obiettivo di promuovere la coltivazione e lo sfruttamento di queste, troppo a lungo considerate una non adeguata fonte di profitto economico. Recentemente a livello mondiale si sta assistendo ad una rivalutazione economica delle piante aromatiche, fenomeno in gran parte dovuto alla crescente domanda di mercato ed a costi di produzione relativamente bassi³.

Obiettivo principale di questo studio è ottenere un quadro il più esaustivo possibile dello scenario di queste specie allo stato selvatico da poter sfruttare per una coltivazione controllata ed ottenere un prodotto finale di elevata qualità e facilmente standardizzabile, scoraggiando, nel contempo, la raccolta indiscriminata di materiale spontaneo la quale, tra i vari aspetti negativi, non garantisce omogeneità qualitativa di prodotto nel lungo periodo.

Origano, rosmarino, timo, salvia e finocchio sono stati campionati durante gli anni 2006 e 2007 cercando di coprire approssimativamente l'intero territorio siciliano. Gli oli essenziali sono stati ottenuti mediante idrodistillazione secondo le direttive della farmacopea europea ed analizzati attraverso la tecnica GC-MS per ottenere il relativo profilo aromatico. E' stata determinata oltre il 95% della composizione totale di ciascun campione e tutti i dati raccolti sono stati analizzati statisticamente allo scopo di determinare le relazioni esistenti tra i campioni attraverso lo studio della composizione percentuale dei loro oli essenziali utilizzando la distanza euclidea come misura della similarità.

Come test di valutazione dell'attività antiossidante sono stati utilizzati il contenuto fenolico totale e la perossidazione UV-indotta su membrane liposomiali.

Questo studio fornisce un quadro piuttosto ampio della varietà compositiva delle piante officinali selvatiche siciliane, e permette di affermare che la loro ricchezza e tipicità fitochimica, e le interessanti attività biologiche, rappresentano un patrimonio da proteggere e al tempo stesso valorizzare il più possibile nell'ottica degli obiettivi precedentemente descritti.

Bibliografia

1. Mulas M. *Acta Horticulturae*, **2006**; 723: 25-32;
2. Devecchi M. *Acta Horticulturae*. **2006**, 723: 51-57;
3. Dordas C. *Ind. Crops. Prod.* **2009**; 29: 599-608.

INTEGRATORI ALIMENTARI A BASE DI SOIA IN MENOPAUSA: MITO O TOCCASANA? ASPETTI ANALITICI

Maria Addolorata Saracino¹, Laura Mercolini¹, Francesca Bugamelli¹, Maria Augusta Raggi¹

¹ Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica, Università di Bologna, via Belmeloro 6, 40126 Bologna, Italia

Molti studi preclinici ed epidemiologici hanno evidenziato che i fitoestrogeni, sostanze naturali non steroidee contenute nelle piante, potrebbero svolgere un ruolo importante nella prevenzione di diverse malattie ormone-dipendenti come il cancro al seno, i disturbi della menopausa e l'osteoporosi. Negli ultimi anni, sono stati introdotti sul mercato integratori alimentari o formulazioni a base di estratti di soia, per il trattamento dei sintomi della menopausa¹, in quanto osservazioni epidemiologiche hanno evidenziato una minore incidenza dei disturbi climaterici, dei tumori mammari, uterini e intestinali nelle donne asiatiche, la cui dieta giornaliera è molto ricca in estratti della soia. Questa contiene fitoestrogeni, in particolare gli isoflavoni genisteina e daidzeina, che hanno una conformazione chimica simile a quella dell'estradiolo, il principale ormone sessuale femminile. Si ritiene che gli isoflavoni della soia agiscano attraverso un effetto di modulazione selettiva sui recettori estrogenici (azione ormone-simile), che riducano la produzione di radicali liberi ("radical scavenger") e che inibiscano la proliferazione di cellule tumorali (azione non ormonale).

L'abbondanza di prodotti commerciali a base di derivati della soia determina la necessità di procedere ad un loro accurato controllo di qualità al fine di evidenziare possibili adulterazioni o escludere la possibilità di sovradosaggi.

Nel Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica sono stati sviluppati alcuni metodi analitici basati sia sulla cromatografia elettrocinetica micellare (MEKC) che sulla cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) per il controllo di qualità di integratori commerciali contenenti estratti di soia. In particolare, l'analisi elettroforetica di genisteina, daidziena, gliciteina (e loro glicosidi) è stata effettuata, utilizzando un elettrolita supporto (BGE) a pH basico contenente sodio dodecil solfato². Si sta ora mettendo a punto un metodo più sensibile e selettivo basato sull'uso di un HPLC con detector coulombometrico. Inoltre, è in fase di sviluppo anche un metodo semplice e veloce che utilizza un HPLC con detector Diode Array che permette oltre alla quantificazione anche l'identificazione degli analiti attraverso gli spettri di assorbimento UV.

I risultati preliminari sembrano essere soddisfacenti; si sta proseguendo con i test per la convalida dei metodi.

Bibliografia

1. Kessel, B. et al. *Endocrinol Metab Clin North Am.* **2004**; 33: 717-740.
2. Saracino, MA. et al. *J Sep Sci.* **2008**; 31:1851-1859.

FITOCOMPLESSI DA FOGLIE DI LIQUIRIZIA (*Glycyrrhiza glabra* L.) AD ATTIVITA' ANTI- INFIAMMATORIA COME INGREDIENTI PER PREPARATI ALIMENTARI AD ALTO VALORE PROTETTIVO

Laura Siracusa¹, Antonella Saija², Mariateresa Cristani², Francesco Cimino², Manuela D'Arrigo²,
Domenico Trombetta², Felice Rao³, Giuseppe Ruberto¹

¹Istituto del CNR di Chimica Biomolecolare, Via Paolo Gaifami, 18 95126 Catania, Italy

²Dipartimento Farmaco-Biologico, Università di Messina, Contrada Annunziata, 98168 Messina, Italy

³Rao Erbe, Via Vincenzo Bellini, 31 95027 S. Gregorio di Catania, CT, Italy

L'eziopatogenesi di diverse malattie di natura sistemica, incluse le neuro-degenerazioni, è chiaramente multifattoriale. Lo stress ossidativo è un evento chiave nella patogenesi della neuro-degenerazione, come pure una complessa serie di reazioni tossiche quali la neurotossicità glutammatergica, la ridotta espressione di fattori trofici, l'espressione di proteine pro-apoptopiche e i processi di natura infiammatoria. La radice di liquirizia (*Glycyrrhiza glabra* L.) è una tra le droghe più antiche e largamente usate nel mondo, mentre al contrario poca attenzione è stata rivolta alle parti aeree della pianta. Recentemente è stato caratterizzato il metaboloma secondario di foglie di liquirizia siciliana, contenente svariati composti diidrostilbenici mai prima isolati¹. Questi nuovi diidrostilbeni hanno attirato la nostra attenzione per le loro interessanti caratteristiche strutturali, simili ad altre molecole, quali il resveratrolo e l'oleocantale, ben note per le loro proprietà biologiche (in particolare anti-infiammatorie). Come indagine preliminare, si è deciso dunque di sottoporre alcuni di questi diidrostilbeni al test per l'attività anti-infiammatoria basato sulla misura del rapporto di inibizione COX1/COX-2. L'azione inibente degli stilbeni in esame sull'attività e sull'espressione di COX-1 e COX-2 è stata valutata in vitro determinando la formazione di TBX2 in sangue intero non addizionato con anticoagulanti e la formazione di PGE2 stimolata da LPS in sangue intero eparinizzato ed addizionato con aspirina. Inoltre è stata determinata l'attività protettiva di questi stilbeni contro l'azione mutagena *in vitro* della 4-nitroquinolina-N-ossido nel SOS Chromotest su *Escherichia coli* PQ37². Dai risultati ottenuti si evince che gli stilbeni in esame sono dotati di buona attività antinfiammatoria e presentano un maggiore efficacia nei confronti della COX-2 piuttosto che della COX-1. Inoltre, essi hanno un'azione antigenotossica particolarmente evidente e paragonabile a quella del trolox, la quale è chiaramente correlabile alla loro capacità antiossidante, visto che aumenta con il numero di gruppi OH. Sono già stati effettuati test preliminari sulla tossicità e le proprietà antinfiammatorie su umani, e sono attualmente in corso studi di integrazione dei citati fitocomplessi in opportune matrici edibili. I preparati alimentari derivati si configurano come candidati nel campo della prevenzione e del trattamento, esclusivamente via alimentazione, di disordini la cui eziologia è riconducibile a processi infiammatori ed ossidativi.

Bibliografia

1. Biondi DM. et al. *J. Nat. Prod.* **2005**; 68: 1099-102;
2. Siracusa L. et al. *Fitoterapia*, *submitted*.
3. Vigorita MG. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**;11:999-1006.

VALUTAZIONE DI EFFICACIA E TOLLERABILITÀ A BREVE TERMINE DI UN NUTRACEUTICO COMBINATO CON AD AZIONE IPOLIPEMIZZANTE: UNO STUDIO CLINICO RANDOMIZZATO

Arrigo F.G. Cicero, Marilisa Bove, Beatrice Gerocarni, Marina Giovannini, Claudio Borghi

Dip. Di Medicina Interna, dell'Invecchiamento e Malattie Nefrologiche, Alma Mater Studiorum Università di Bologna

Numerosi nutraceutici hanno dimostrato interessanti proprietà ipolipemizzanti¹. Il nostro obiettivo è stato quello di valutare efficacia e tollerabilità a breve termine di un nuovo nutraceutico combinato non contenente sostanze statino-simili.

Questo è uno studio clinico randomizzato in doppio cieco e controllato contro placebo condotto su 40 soggetti affetti da ipercolesterolemia primaria poligenica in prevenzione primaria per malattia cardiovascolare. Dopo 4 settimane di accorgimenti dietetico-comportamentali secondo linee guida NCEP-ATP III i pazienti sono stati randomizzati ad assumere un nutraceutico combinato o placebo, 1 cp/die per 8 settimane. Il nutraceutico testato conteneva Octacosanoli, Tocotrienoli e Flavoni polimetossilati (offerto da Ca.Di.Group Srl, Rome, I).

Quando confrontato col placebo, si osserva che il nutraceutico combinato è stato associato ad un calo significativamente maggiore di colesterolo totale ($-17\pm 2\%$; $p < 0.001$), LDL ($-22\pm 3\%$; $p < 0.001$), non-HDL ($-21\pm 2\%$; $p < 0.001$) e Trigliceridi ($-20\pm 9\%$; $p < 0.001$), senza variazioni significative di colesterolemia HDL, indici di funzionalità epatica e creatinin-fosfo-kinasi (CPK).

In conclusione, il nutraceutico testato si è dimostrato ben tollerato ed efficace nel ridurre il livello di lipidi plasmatici in potenzialmente aterogeni in associazione ad una dieta adeguata in soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare poligenica. Questi risultati andranno confermati su più lunghi periodi di terapia e su di una maggiore numerosità campionaria.

Bibliografia

1. Cicero, AFG. et al. *Med J Nutr Metab.* **2008**; 1(2): 85–93

ACHILLEA MILLEFOLIUM S.L. COME RIMEDIO COMPLEMENTARE PER I DISTURBI MESTRUALI: ASPETTI CHIMICI ED EFFICACIA CLINICA

Francesco Francini-Pesenti^a, Filippo Brocadello^a, Laura Bertazzo^b, Stefano Dall'Acqua^c, Erich Cosmi^b, Paola Minesso^c, Gabriella Innocenti^c

^aDipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Azienda Ospedaliera di Padova.

^bDipartimento di Scienze Ginecologiche e della Riproduzione Umana, Università di Padova.

^cDepartmento di Scienze Farmaceutiche Università di Padova.

Achillea millefolium è tradizionalmente impiegata per lenire i disturbi legati al ciclo mestruale, come rimedio per disturbi gastrici (1) e come antispastico (1, 2). Nonostante la diffusione del rimedio e la sua appartenenza alla tradizione Europea poche sono le evidenze scientifiche che ne confermano l'efficacia soprattutto relativamente all'uso in ambito dei disturbi mestruali o premenstruali. Data la grande complessità chimica degli estratti di achillea e le notevoli variabilità possibili nel contenuto in metaboliti secondari (flavonoli, acidi caffeoilchinici, lattoni sesquiterpenici) è indispensabile conoscere in modo adeguato la composizione dell'estratto che viene studiato.

In questo lavoro un estratto di *Achillea millefolium* è stato utilizzato come trattamento complementare per la gestione dei dolori premenstruali in un campione di 62 donne nullipare con età compresa fra i 18 ed i 35 anni. La composizione dell'estratto impiegato nello studio è stata determinata mediante analisi HPLC-MS/MS, sono stati così rilevati flavonoidi (prevalentemente orientina e rutina) ed acidi caffeoilchinici. Le donne sono state divise in due gruppi, ad uno sono state somministrate capsule contenenti 400 mg di estratto standardizzato di *A. millefolium* (contenente 2,9 mg di flavonoidi e 1,4 mg di acidi caffeoilchinici per capsula), al gruppo di controllo placebo. Le pazienti assumevano due capsule per due volte al giorno nei cinque giorni prima e tre giorni dopo l'inizio delle mestruazioni.

I due gruppi hanno valutato l'entità e frequenza dei dolori mestruali mediante una scala VAS (3) ed ad entrambi i gruppi è stato concesso di utilizzare al bisogno farmaci antiinfiammatori non steroidei (NSAIDs).

I risultati hanno evidenziato una netta riduzione dell'uso di NSAIDs e una significativa diminuzione della percezione dei disturbi, secondo la scala VAS, nel gruppo trattato rispetto al placebo.

Questo studio preliminare evidenzia la potenzialità dell'estratto come trattamento complementare ai disturbi mestruali.

Bibliografia

1. Schulz, V. **2001**. Rational Phytotherapy: A Physician's Guide to Herbal Medicine, Springer, Berlin
2. Nemeth, E.; Bernath, J. *Current Pharmaceutical Design*. **2008**; 14: 3151-3167.
3. Larroy, C. *Behav Med*. **2002**; 27(4): 179-81.

CHARACTERIZATION OF *RIBES NIGRUM* AND *ROSMARINUS OFFICINALIS* FOOD SUPPLEMENTS

Grosso A.¹, Marzochella L.², Aducci P.¹, Bei R.², Marra M.¹

¹ Department of Biology, University of Tor Vergata, Rome, Italy.

² Department of Experimental Medicine and Biochemical Sciences, University of Tor Vergata, Rome, Italy.

Ribes nigrum and *Rosmarinus officinalis* are widespread in the Mediterranean area, where they are commonly used as food spice, or odorant in fragrances, as well as traditional remedy in folk medicine. Despite the ever growing scientific and commercial interest in the characterization of the chemical composition and of the biological properties of officinal plant extracts and preparations, much work is still to be done to achieve a wider knowledge of their bioactive compound profiles and a better comprehension of their beneficial effects on human health. For instance, whereas antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant activities are often investigated, much less it is known about their effect in cancer prevention. Here, we report on the HPLC secondary metabolites profile characterization of commercially available *Rosmarinus officinalis* and *Ribes nigrum* ethanolic extracts. The effect of these extracts on the proliferation of two different head/neck cancer cells lines has also been investigated.

NUTRACEUTICS IN NEUROLOGICAL DISEASES

P. Mainardi, R. Raggio

Very important neurotransmitters have amino acids as only precursors, and some of them are essential amino acids, then they are arising in our body only from the diet. Then diet is able to modify brain. The serotonergic effect of some foods are well known. The only serotonin precursor is tryptophan (trp), an essential amino acid, it's limited in the proteins of our diet. It compete to the BBB carrier with the other large neutral amino acids (LNAA), then the brain uptake of trp depend on the trp/LNAA plasmatic ratio. On the amount of trp uptaked in the brain depends serotonin synthesis. Insulin increases trp/LNAA plasmatic ratio, it's well know to bulimic patients.

But tryptophan is not only the precursor of serotonin, its intestinal level controls brain neuropeptide synthesis, by neuroendocrine system. Norepinephrine and NPY resulted increased by different intestinal stimuli, i.e. starvation, used at Biblical times to control seizure, fats, as ketogenic diet, medium chain triglyceride, as MCT diet, tryptophan and/or serotonin. Norepinephrine is linked to depression and to epilepsy, then the both antidepressive and anticonvulsive effect of SSRIs could depend more on their action in intestine than in the brain, in agreement with recent results demonstring that SSRIs are not able to reach the brain in right amount to inhibit serotonin reuptake.

NPY is named an "endogenous anticonvulsant" and it's linked to pain threshold. Recently we report the ability of alpha-lactalbumin (ALAC) to control seizures, this effect could depend on intestinal actions of ALAC. It's a prebiotic food, it decreases intestinal dysbiosis. Dysbiosis carry out an high decarboxylation of proteic amino acids, trp is transformed in indole and skatole, urinary markers of dysbiosis. High skatole urinary levels were found in epileptic patients.

ALAC, decreasing intestinal dysbiosis, is able to restore a right intestinal trp level, then a right brain level of NPY and norepinephrine. The anticonvulsant effect of ALAC let to it to entry in the new drug screening programs of NIH (USA).

AZIONE PREBIOTICA E CRIOPROTETTIVA DI FIBRE DA NOCCIOLA (*CORYLUS AVELLANA* L.) NEI CONFRONTI DI *LACTOBACILLUS PLANTARUM* P17630 E *LACTOBACILLUS CRISPATUS* P17631

Rosa Montella^{1,2}, Jean Daniel Coisson¹, Fabiano Travaglia¹, Monica Locatelli¹, Aldo Martelli¹, Marco Arlorio¹

¹Dipartimento di Scienze Chimiche, Alimentari, Farmaceutiche e Farmacologiche & DFB Center, Via Bovio 6, 28100 Novara, Italia

² Proge Farm srl, Largo Donegani 4/A, 28100 Novara, Italia

La pellicola che si stacca dal seme di nocciola (perisperma di *Corylus avellana* L.), è un sottoprodotto della torrefazione. Si tratta di una matrice di scarto interessante per il suo potere antiossidante (a causa della particolare ricchezza in polifenoli), nonché per la sua ricchezza in fibra alimentare. Questo scarto rappresenta quindi un'interessante matrice potenzialmente utilizzabile per la formulazione di ingredienti funzionali, di nutraceutici e integratori alimentari¹. Recentemente sono stati condotti in campo nutraceutico molti studi sulle proprietà prebiotiche di alcune fibre da fonte innovativa, in particolare fibre solubili suggerite in alternativa agli ormai classici FOS e GOS². Scopo di questo lavoro è stato i) caratterizzare le frazioni solubile ed insolubile della fibra del perisperma di nocciola tostato e ii) valutare le proprietà prebiotiche delle stesse - prima e dopo estrazione della frazione polifenolica - nei confronti di due microorganismi probiotici: *Lactobacillus plantarum* P17630 e *L. crispatus* P17631. Le stesse fibre, infine, sono state utilizzate come crioprotettori nella fase di liofilizzazione per valutarne la capacità di incrementare la vitalità dei ceppi probiotici e quindi allungare la shelf life di prodotto. Scopo globale della ricerca è stato quindi - in termini tecnologici - l'ottimizzazione della fase fermentativa e di protezione durante la stabilizzazione e - in termini nutrizionali e salutistici - la possibilità di integrare una preparazione di probiotici con fibre prebiotiche innovative.

I risultati hanno mostrato che, nelle condizioni testate, la concentrazione ottimale per la promozione della crescita batterica *in vitro*, sia per la frazione solubile che per quella insolubile, si attesta fra 0,03% e 0,11%; le fibre depolifenolizzate hanno mostrato azione prebiotica a concentrazioni maggiori. La frazione polifenolica, estratta dalla matrice delipidizzata e quindi frazionata mediante isolamento delle componenti a basso, medio ed alto peso molecolare tramite un protocollo SPE³, nonché caratterizzata attraverso HPLC-DAD, non ha mostrato nelle concentrazioni testate (0,5%, 0,25% e 0,11%) tossicità per i microorganismi. La frazione oligomerica (contenente procianidine a medio grado di polimerizzazione) ha confermato proprietà prebiotiche. La frazione solubile della fibra, infine, ha mostrato capacità di crioprotezione durante la liofilizzazione, portando all'allungamento della shelf life del prodotto simbiotico finito. Le condizioni, i parametri e i processi sono attualmente nella fase di *scale-up*.

Bibliografia

1. Locatelli, M. et al. *Food Chem* **2010**; 119: 1647-1655.
2. Fogliano, V. et al. *Mol Nutr Food Res* **2011**, in stampa.
3. Sun, B. S. et al. *J. Agric. Food Chem.* **1998**; 46: 1390-1396.

AN ANALYSIS OF THE SIDE EFFECTS OF NUTRACEUTICAL PRODUCTS INVOLVING THE IMMUNE SYSTEM

Alfredo Nunziata; Valeria Ghirardi

AKROS Bioscience Srl., P.za A. Moro, 20/D 00040 Pomezia, Roma, Italy

The use of Nutraceuticals, prepared from vegetal and animal derivatives, is on the rise in the population both because of an increasing attention to prevention and wellness and because they are commonly considered “safe”^{1,2}. Actually, nutraceuticals are often made of a mixture of officinal plants or derivatives by extraction or chemical treatment and of animal origin containing chemical compounds endowed with biological activity.

Side effects of Nutraceuticals have been reported more and more frequently in the last years. Most commonly the side effects are due to the pharmaco-toxicological activity of products' constituents or to the interactions with co-administered synthetic drugs. Although it is known that generally the interactions involving the metabolism can increase or decrease the drug effects, the reactions that involve the immune system, have not been sufficiently studied. Some natural substances can not be recognised by the immune system and /or can enhance the expected pharmacological effect; moreover natural substances can interact with the immune system in an unexpected manner, causing side effects.

To study and systematically categorise the side effects of immune origin as well as the interactions between Nutraceuticals and synthetic drugs, the authors have collected and analysed data from the following databases:

- the “Phytosurveillance” database, organised by University of Messina, containing 26 monographs, 66 direct adverse reactions, 182 reports from regulatory international agency and 65 documents on herbal/drugs reactions
- the NIH National Center for Complementary and Alternative Medicine database containing 43 monographs, 40 papers on direct adverse reactions,
- the MedLinePlus All Herbs and Supplements database containing 100 monographs with side effects, warning and interactions with drugs.

The results of this paper suggest the importance of a correct and scientifically based postmarketing surveillance on the Nutraceutical products also pointing to a international database of all the side effects due clearly to Nutraceutical product involving practitioner, pharmacist and herbalist expert

Bibliografia

1. Brower, V. *Nat Biotechnol.* **1998**; 16: 728-731.
2. Whitman, M. *Clin J Oncol Nurs.* **2001**; 5: 190-194.
3. Fitosorveglianza in Farmacosorveglianza: <http://www.farmacosorveglianza.com/>
4. National Center for Complementary and Alternative Medicine: nccam.nih.gov/camonpubmed
5. MedLinePlus All Herbs and Supplements: http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/herb_All.html
6. FDA dietary supplement rules: <http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/ConsumerInformation/ucm110567.htm>

APPLICAZIONE DI UN METODO HPLC-DAD PER LA DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITA' ACE-INIBITORIA DI IDROLIZZATI PROTEICI DI LEGUMI

Graziana Scigliuolo¹, Giovanna Boschin², Donatella Resta¹, Elena Sirtori², Anna Arnoldi²

¹ HPF-Nutraceuticals s.r.l., via Balzaretti 9, 20133 Milano.

² Dipartimento di Endocrinologia, Fisiopatologia e Biologia Applicata (DEFIB), Laboratorio di Chimica degli Alimenti e Spettrometria di Massa, Università degli Studi di Milano, via Balzaretti 9, 20133 Milano.

Per combattere le malattie cardiovascolari, che rappresentano la prima causa di morte nei paesi industrializzati, vengono pianificate strategie preventive che tengono conto dei maggiori fattori di rischio, in particolare ipercolesterolemia ed ipertensione.

Per quanto riguarda l'ipertensione, è stato recentemente messo in evidenza che l'idrolisi enzimatica di diverse proteine alimentari, come latte, soia, pisello, etc., dà origine a miscele di peptidi con azione anti-ipertensiva^{1,2}. Alcuni di questi peptidi sono stati separati e caratterizzati e la loro attività è stata confermata dopo sintesi chimica. Studi *in vitro* e *in vivo* hanno dimostrato che tali peptidi svolgono un'azione diretta sull'enzima di conversione dell'angiotensina (angiotensin converting enzyme, ACE), l'enzima chiave nella regolazione dei livelli pressori nell'organismo umano. Essi, infatti, legandosi al sito attivo dell'enzima competono in modo diretto con l'angiotensina I inibendone la conversione ad angiotensina II. Per il loro effetto fisiologico, i peptidi ACE-inibitori possono trovare applicazione come ingredienti di alimenti funzionali o integratori alimentari³.

Il nostro gruppo di ricerca studia da tempo i legumi per il loro elevato contenuto proteico e le proprietà ipocolesterolemizzanti. In uno studio clinico pilota, effettuato su pisello e lupino, oltre all'abbassamento del colesterolo, è stata osservata anche una diminuzione significativa della pressione sistolica e diastolica in soggetti moderatamente ipertesi, dato che conferma alcune precedenti pubblicazioni^{4,5}. Ipotizzando che il meccanismo possa essere legato ad un'attività ACE-inibitoria, è stata testata l'attività di miscele peptidiche ottenute idrolizzando le proteine di alcuni legumi.

La valutazione di questa attività viene normalmente effettuata mediante tecniche spettrofotometriche basate sull'idrolisi catalizzata dall'enzima ACE dello pseudo-tripeptide modello *hippuryl-histidyl-leucine* (HHL)⁶ ad acido ippurico e *histidyl-leucine* (HL). Malgrado questo saggio sia ampiamente utilizzato in letteratura, è soggetto a numerose interferenze che lo rendono poco affidabile, soprattutto quando devono essere testati non farmaci di sintesi, ma miscele peptidiche complesse ottenute da fonti alimentari. E' stato quindi deciso di mettere a punto un metodo HPLC con rivelatore DAD che consenta una misurazione accurata dell'inibizione dell'enzima ACE.

Il saggio è stato inizialmente validato su tre farmaci a nota attività ACE-inibitoria (captopril, enalapril e lisinopril) e due tripeptidi sintetici, responsabili dell'attività ACE-inibitoria degli idrolizzati proteici del latte (IPP e VPP). In seguito, è stata testata l'attività ACE-inibitoria di miscele peptidiche provenienti dall'idrolisi enzimatica di estratti proteici derivanti da diversi legumi tra cui ceci, lenticchie, fagioli, lupini, piselli, soia, ottenendo valori in linea con i dati di letteratura^{7,8}.

Bibliografia

1. Vermeirssen, V. et al. *J Dairy Sci.* **2003**; 86 : 429-438.
2. Rotimi, E. et al. *J AOAC International.* **2008** ; 91: 947-956.
3. Fujita, H. et al. *J Food Sci.* **2000**; 65: 564-569.
4. Naruszewicz, M. et al. *Annals of nutrition and metabolism.* **2007**; 51: 273.
5. Lee, YP. et al. *Am. J. Clin Nutr.* **2009**; 89: 766-772.
6. Cushman, DW et al. *Bio Pharm.* **1971**; 20: 1637-1648.
7. Barbana, C et al. *Food Res Int.* **2010**; 43: 1642-1649.
8. Li, H. et al. *J Agric Food Chem* **2010**, 58, 11471-11476.

IL SUCCO DI ARANCIA ROSSA INIBISCE L'ACCUMULO DI GRASSO IN MODELLI ANIMALI.

L. Titta^{1,2}, M Trinei³, M Stendardo¹, I Berniakovich¹, K Petroni⁴, C Tonelli⁴, P Riso², M Porrini², S Minucci^{1,4}, PG Pelicci^{1,4}, P Rapisarda⁵, G Reforgiato Recupero⁵ and M Giorgio¹

¹ Department of Experimental Oncology, European Institute of Oncology (IEO), Milan, Italy;

² Department of Food science and Microbiology (DISTAM), Division of Human Nutrition University of Milan, Milan, Italy;

³ Congenia Srl, Milan, Italy;

⁴ Department of Biomolecular Sciences and Biotechnology, University of Milan, Milan, Italy

⁵ Research Center for Citric culture and Mediterranean Crops (CRA-ACM), Acireale, Italy

E' noto che il consumo di succhi di frutta, dato il loro contenuto in zuccheri semplici, aumenta l'apporto calorico e di conseguenza, nonostante il valore salutistico di vitamine, polifenoli e carotenoidi, può aumentare il rischio di obesità.

Grazie ad uno studio dell'Istituto Europeo di Oncologia condotto in collaborazione con altri centri di ricerca italiani, tra cui l'Università di Milano e l'Istituto di Agrumicoltura, si è potuto sperimentare l'effetto del consumo del succo di arancia, il succo di frutta più comune, sull'adipogenesi.

In questo studio è stato analizzato l'effetto del succo di due varietà di arancia:

Naveline una varietà di arancia bionda comune e Moro una varietà di arancia rossa caratterizzata naturalmente da un alto contenuto in antocianine, pigmenti blu e rosso scuro conosciuti in letteratura scientifica per i numerosi effetti sull'organismo come la prevenzione del danno ossidativo o l'aumento dell'elasticità dei vasi sanguigni.

Come modello di adipogenesi su cui valutare gli effetti dei succhi di arancia è stato utilizzato il topo C57Bl6 alimentato con una dieta molto ricca in grassi e che quindi sviluppa rapidamente obesità. Il risultato è stato che, non solo il consumo di succo di arancia non promuove l'aumento del peso corporeo, ma sorprendentemente, solo nel caso del succo di arancia rossa, inibisce l'accumulo di grasso. Ulteriori esperimenti su colture cellulari e sull'espressione genica nel tessuto adiposo degli animali trattati, hanno confermato che il consumo di succo di arancia rossa è in grado convertire completamente il programma trascrizionale indotto dalla dieta ricca in grassi.

Sarebbe molto interessante studiare l'effetto del succo di arancia rossa sull'uomo per confermare l'efficacia di un sorprendente strumento di prevenzione dell'obesità.

Bibliografia

1. World Health Organ Tech Rep Ser. **2003**; 916: i-viii: 1-149, backcover.

2. Malik, VS. et al. *Am J Clin Nutr.* **2006**; 84: 274-288.

3. Vos, MB. et al. *Medscape J Med.* **2008**; 10: 160.

4. Tsuda, T. et al. *J Nutr.* **2003**; 133:2125-2130.