

Effetti terapeutici del butirrato in pazienti pediatriche obese affette da insulino-resistenza

Serena Coppola¹, Carmen Di Scala¹, Lorella Paparo¹, Rita Nocerino¹, Luana Voto¹, Anna Luzzetti¹, Giusy Della Gatta¹, Veronica Giglio¹, Simone De Vita¹, Roberto Berni Canani¹

¹Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Federico II.

Introduzione ed obiettivi: Dati preclinici suggeriscono il ruolo preventivo e terapeutico del butirrato, un acido grasso a corta catena prodotto dal microbiota intestinale, nell'obesità e nella sindrome metabolica. In un trial in doppio cieco, randomizzato con placebo della durata di 6 mesi, abbiamo valutato gli effetti del butirrato in una coorte di pazienti pediatriche (range età 7-16 anni) affette da obesità ed insulino-resistenza. I pazienti sono stati randomizzati in 2 gruppi di intervento: gruppo 1: dieta ipocalorica + sodio butirrato (20 mg/kg/die); gruppo 2: dieta ipocalorica + placebo (amido di mais). L'obiettivo primario era la riduzione del 30% dell'indice di resistenza insulinica (HOMA index), gli obiettivi secondari riguardavano gli effetti su BMI, BMI z-score, circonferenza vita, glicemia, insulinemia, profilo lipidico e espressione del miRNA-221.

Risultati: 43 pazienti (18 maschi, 41.9%), età media 11.5 anni (DS 2.4) assegnati a 2 gruppi di intervento: gruppo 1 (n=21) e gruppo 2 (n=22). Al termine del periodo di studio abbiamo osservato solo nel gruppo trattato con butirrato una significativa riduzione di HOMA index, insulinemia, BMI z-score e espressione di miRNA-221.

Conclusioni: La somministrazione orale di butirrato è efficace nel coadiuvare il trattamento di obesità e IR nel bambino. Gli effetti sono almeno in parte mediati da un meccanismo epigenetico.

Un approccio multidisciplinare alla base della comprensione del ruolo dell'aflatossina B1 come antagonista della vitamina D nell'insorgenza del rachitismo

Marco Persico¹, Raffaele Sessa², Michela Grosso², Paola Costanzo², Caterina Fattorusso¹, Alberto Ritieni¹

¹Dipartimento di Farmacia, Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Federico II;

²Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Federico II.

Introduzione ed obiettivi: Le micotossine nella catena alimentare sono responsabili di forme di tossicità acute e, soprattutto, croniche. Le aflatossine, specie l'aflatossina B1 (AFB1), prodotte da *Aspergillus spp* sono comuni in aree caldo-umide e tra quelle con maggiore tossicità. Recentemente, in cellule della linea di osteosarcoma SAOS-2 abbiamo dimostrato che AFB1 determina una riduzione dei livelli di espressione del recettore della vitamina D (VDR). Queste osservazioni e l'analogia strutturale tra AFB1 e la vitamina suggeriscono che questa micotossina possa interferire con l'attività di VDR e che l'esposizione alle aflatossine aumenti il rischio di rachitismo interferendo con il metabolismo della vitamina D.

Risultati: Per evidenziare possibili interazioni tra AFB1 e VDR si è ricorsi all'analisi *in silico* che ha anche mostrato come tali interazioni possano interferire con l'eterodimerizzazione di VDR con RXR. Studi di espressione genica in cellule SAOS-2 trattate con AFB1 o vitamina D hanno mostrato come l'attività del gene della luciferasi sotto controllo del promotore di VDR viene indotta dalla vitamina D e si riduce dopo trattamento con AFB1. Successivamente, questi dati sono stati confermati valutando i livelli endogeni del messaggero di VDR con un'analisi quantitativa di tipo qRT-PCR. Inoltre, l'analisi mediante Western blot ha mostrato che AFB1 è in grado di alterare la traslocazione nucleare del eterodimero VDR/RXR che, invece, è indotta dalla vitamina D. Infine, saggi di Chromatin Immunoprecipitation (ChIP) hanno dimostrato che il trattamento con AFB1 nelle cellule SAOS-2 è in grado di ostacolare l'eterodimerizzazione VDR/RXR e, di conseguenza, l'attività trascrizionale di VDR, confermando quindi che AFB1 è in grado di interferire con il meccanismo d'azione della vitamina D.

Conclusioni: Questo tipo di approccio multidisciplinare ha permesso di evidenziare l'effetto antagonista di AFB1 rispetto alla vitamina D e ha dimostrato come l'esposizione all'AFB1 in popolazioni a rischio possa essere associata all'aumentata incidenza di forme di rachitismo.

Un nutraceutico a base di Melannurca Campana IGP per il trattamento delle calvizie: dai test *in vitro* alla sperimentazione clinica

Maria Maisto¹, Connie Schisano¹, Fortuna Iannuzzo¹, Giuseppe Annunziata¹, Roberto Ciampaglia¹, Elisabetta Schiano,¹ Gian Carlo Tenore¹, Ettore Novellino¹

¹Dipartimento di Farmacia, Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Federico II.

Introduzione ed obiettivi: Nel corso degli ultimi decenni sono stati formulati numerosi prodotti farmaceutici indicati per il trattamento dell'alopecia (formulazioni ad applicazione topica di minoxidil o prodotti per somministrazione orale a base di finasteride), ritrovati che però, hanno mostrato importanti effetti collaterali a carico del sistema cardiovascolare e riproduttivo.¹⁻⁴ L'obiettivo di tale studio è la formulazione e la valutazione dell'efficacia sia *in vitro* che sull'uomo di un prodotto nutraceutico sicuro a base di estratto polifenolico di Melannurca Campana IGP utile per il trattamento delle calvizie.

Risultati: I primi test *in vitro*, condotti su cellule cheratiniche umane HaCaT, hanno dimostrato come il trattamento ha portato ad un significativo incremento dell'espressione di cheratina, di circa 3 volte rispetto al controllo. A tali risultati è seguito uno studio clinico monocentrico, randomizzato, contro placebo, condotto su 250 volontari sani con alopecia moderata, della durata di 16 settimane. I soggetti sono stati equamente suddivisi in due sottogruppi: al primo sottogruppo è stato chiesto di assumere 2 capsule gastroresistenti/die contenenti il solo estratto polifenolico (400 mg), mentre al secondo di assumere due capsule gastroresistenti/die contenenti oltre all'estratto polifenolico (400 mg) anche biotina, selenio e zinco. I risultati ottenuti dimostrano che il prodotto è capace dopo 60 giorni di favorire un aumento di circa il doppio del numero dei capelli per cm² di cute e di incrementare di circa un terzo sia il peso dei capelli che il loro contenuto di cheratina. È interessante notare che la co-presenza di zinco, biotina e selenio, coadiuva in modo non significativo l'effetto dell'estratto stesso.

Conclusioni: Lo studio condotto dimostra per la prima volta che l'assunzione per via orale di una formulazione a base del estratto polifenolico di Melannurca è in grado di garantire effetti benefici sulla crescita ed il trofismo dei capelli.

Referenze:

1. Wilson C, Walkden V, Powell S, et al.: Contact dermatitis in reaction to 2% topical minoxidil solution. *J Am Acad Dermatol* 1991;24:661–662.
2. Boeck C, Parker J, Shank J, Hordinsky M: Safety of long term therapy with 3% and 5% topical minoxidil in female androgenetic alopecia. In: *Hair Research for the Next Millenium*. Elsevier, Amsterdam, 1996, pp. 61–65.
3. Nickel JC, Fradet Y, Boake RC, et al.: Efficacy and safety of finasteride therapy for benign prostatic hyperplasia: Results of a 2-year randomized controlled trial (the PROSPECT study). *PROscar Safety Plus Efficacy Canadian Two year Study*. *CMAJ* 1996;155:1251–1259.
4. Wilton L, Pearce G, Edet E, Freemantle S, Stephens MD, Mann RD: The safety of finasteride used in benign prostatic hypertrophy: A non-interventional observational cohort study in 14,772 patients. *Br J Urol* 1996;78:379–384

L'importanza della caratterizzazione chimica dei nutraceutici: il caso della BPF (Bergamot Polyphenol Fraction), frazione polifenolica del succo di bergamotto

Carmina Sirignano¹, Carmen Formisano¹, Daniela Rigano¹, Annalisa Lopatriello¹, Lolita Arnoldi², Nicola Sardone², Orazio Tagliatela-Scafati¹

¹Dipartimento di Farmacia, Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Federico II;

²INDENA SpA, Settala (Mi).

Introduzione ed obiettivi: il bergamotto, un agrume del genere *Citrus* definito come un ibrido naturale tra l'arancio amaro e il limone, è una pianta endemica della Calabria. L'olio essenziale ricavato dal frutto è ampiamente utilizzato nell'industria cosmetica ed ha rappresentato, fino a pochi anni fa, l'unico motivo per cui utilizzare il bergamotto, ignorando completamente le potenzialità nutraceutiche che derivano dalle molecole antiossidanti presenti nel succo.¹ Da questo viene estratta infatti la cosiddetta BPF (Bergamot Polyphenol Fraction), la frazione polifenolica che ha rivelato una importante attività anti-infiammatoria ed un'azione nel controllo dei sintomi della sindrome metabolica.² Per migliorare la biodisponibilità della BPF, l'industria italiana Indena ha immesso in commercio sotto il nome di VazguardTM, un sistema definito Fitosoma®, un complesso molecolare caratterizzato dalla vettorizzazione di principi attivi con fosfolipidi. In tale ambito, abbiamo analizzato la composizione fitochimica della BPF partendo dalla tecnica standard di analisi dei nutraceutici, l'UPLC-DAD-MS, integrandola con tecniche cromatografiche e spettroscopia NMR.

Risultati: l'approccio combinato scelto per l'analisi della BPF ha portato all'identificazione di diverse molecole appartenenti alla classe dei flavonoidi glicosilati, delle cumarine, dei limonoidi e dei fenilpropanoidi, non precedentemente identificate mediante le tecniche convenzionalmente usate. È stato inoltre possibile isolare un composto naturale mai caratterizzato prima, un derivato della naringina da noi denominato bergamjuicina.

Conclusioni: l'analisi chimica dettagliata della BPF (Bergamot Polyphenol Fraction) ha sottolineato l'importanza di uno studio fitochimico approfondito dei prodotti nutraceutici per poter razionalizzare su basi molecolari il loro utilizzo. Il profilo chimico riportato potrà essere una guida per le analisi di routine dei prodotti destinati al consumo umano. Inoltre, da tale studio si evince la necessità di affiancare alle tecniche di analisi normalmente impiegate per lo studio dei nutraceutici, come la UPLC-MS, altre tecniche in grado di rivelare ulteriori costituenti.

Referenze:

1. G. Mandalari, *et al.* Characterization of flavonoids and pectins from bergamot (*Citrus bergamia* Risso) peel, a major byproduct of essential oil extraction. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 197–203.
2. V. Mollace, *et al.* Hypolipemic and hypoglycaemic activity of bergamot polyphenols: from animal models to human studies. *Fitoterapia* **2011**, *82*, 309–316.

Estratti secchi di *Citrus Aurantium L.* modulano l'espressione del *miRNA-155* e migliorano l'adipogenesi in cellule 3T3-L1 esposte al TNF α

Michele Campitelli^{1,2}, Antonella Desiderio^{1,2}, Giuseppe Cacace^{1,2}, Sonia de Simone^{1,2}, Francesco Beguinot^{1,2}, Gregory A Raciti^{1,2,*}, Claudia Miele^{1,2,*}

¹Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Federico II;

²URT "Genomica del Diabete" - Istituto di Endocrinologia ed Oncologia Sperimentale, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Napoli, Italia.

*Hanno contribuito in egual modo come ultimo autore

Introduzione ed obiettivi: L'adipogenesi è un processo biologico finemente regolato, che coinvolge un gran numero di "pathways" molecolari. Stimoli micro-ambientali, quali il Tumor Necrosis Factor alpha (TNF α), regolano negativamente tale processo contribuendo in tal modo alla disfunzione del tessuto adiposo. In particolare, il TNF α inibisce l'adipogenesi inducendo l'espressione del *miR-155*. Recentemente, è stato dimostrato che CAde, un composto di natura nutraceutica ottenuto da estratti secchi del *Citrus Aurantium L.*, è in grado di migliorare il differenziamento adipocitario di cellule murine 3T3-L1 *in vitro*. Tali effetti sono il riflesso di una precoce modulazione dell'espressione genica di *CCAAT/enhancer binding protein beta (C/Ebp β)* dovuta all'attivazione della proteina cAMP response element-binding protein (CREB). *C/Ebp β* e *Creb* sono anche bersagli del *miR-155*. Questo studio, pertanto, ha come scopo quello di valutare se CAde è in grado di regolare l'espressione del *miR-155* durante le prime fasi del differenziamento adipocitario e se tale composto può migliorare anche il differenziamento adipocitario di cellule murine 3T3-L1 esposte al TNF α .

Risultati: In cellule 3T3-L1 il trattamento con CAde (100 μ g/ml) determina durante le fasi precoci (15-240 min) dell'adipogenesi una riduzione dell'espressione del *miR-155* ed un conseguente aumento sia dell'espressione genica che proteica di *C/Ebp β* e *Creb*. Differentemente dal CAde, il trattamento delle stesse cellule con il TNF α inibisce l'adipogenesi terminale delle cellule 3T3-L1 ed abolisce gli effetti degli stimoli adipogenici (AS) sull'espressione del *miR-155*, e dei geni *C/Ebp β* e *Creb*. Tuttavia, nelle cellule esposte al TNF α , CAde migliora il differenziamento adipocitario e ripristina gli effetti dell'AS sulla modulazione dell'espressione del *miR-155* e dei geni *C/Ebp β* e *Creb*.

Conclusioni: Questo studio identifica la ridotta espressione del *miR-155* come parte del meccanismo molecolare attraverso il quale CAde migliora l'adipogenesi dei pre-adipociti 3T3-L1 *in vitro*. Inoltre, fornisce una prova dell'efficacia di CAde contro gli effetti deleteri del TNF α sul processo adipogenico.

Effetti metabolici del pane ricco in amilosio in individui ad elevato rischio cardiometabolico

Claudia Vetrani¹, Ilaria Calabrese¹, Marilena Vitale¹, Giuseppe Della Pepa¹, Giuseppina Costabile¹, Paola Cipriano¹, Dominic Salamone¹, Roberta Testa¹, Angela A Rivellese¹, Gabriele Riccardi¹

¹Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Scuola di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Federico II.

Introduzione ed obiettivi: L'amido rappresenta la principale fonte di energia nella dieta abituale. Il rapporto tra le sue componenti (amilopectina e amilosio) ne modifica le proprietà funzionali. L'aumento del contenuto in amilosio potrebbe ridurre la risposta metabolica postprandiale. Pertanto, lo scopo dello studio è stato valutare, in individui a rischio cardiometabolico elevato, gli effetti del consumo di pane prodotto con farina di frumento ricca in amilosio, rispetto ad un pane convenzionale. Venti individui (11M/9F, 48±19anni, BMI:30±3kg/m²) hanno assunto in ordine casuale 3 pasti test a distanza di almeno una settimana l'uno dall'altro. I pasti differivano esclusivamente per la fonte di carboidrati: pane con circa 40% o 50% di amilosio (pasto A e B, rispettivamente) o pane convenzionale (controllo, <30% amilosio). Dopo 4 ore di osservazione, i partecipanti consumavano un pranzo standard, uguale per tutte le giornate sperimentali, per valutare gli effetti metabolici durante il pasto successivo (*second meal effect*). Campioni ematici erano prelevati a digiuno, durante le 4 ore dopo il pasto test e fino a 2 ore dopo il pranzo standard.

Risultati: I pani ricchi in amilosio riducevano significativamente il profilo glicemico (-17% per entrambi i pasti test; p<0.05) e quello insulinemico (-8%, p<0.05 solo per amilosio 50%) rispetto al controllo. Le differenze più marcate per la glicemia rispetto al controllo si osservavano nelle prime 2 ore dopo il pasto test: -26% e -18%, pasto A e B, rispettivamente, p<0.05. La risposta metabolica durante il successivo pranzo standard mostrava un trend non significativo di riduzione con i pani ad alto contenuto di amilosio.

Conclusioni: Il consumo di pane ricco in amilosio migliora la risposta metabolica postprandiale in individui a rischio cardiometabolico elevato. Pertanto, i prodotti a base di farina ricca in amilosio potrebbero essere testati per i loro effetti sulla prevenzione e il trattamento del diabete tipo 2.