

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

RIASSUNTI

PROGRAMMA GENERALE DEL CONGRESSO

	GIOVEDI' 20 SETTEMBRE	Pag.
9:30-10:50	SESSIONE NUTRACEUTICA E HEALTH CLAIMS Moderatori: Prof. Cesare Sirtori, Università degli Studi di Milano Dr. Massimo Leonardi, Ministero della Salute	
9:30-10:00	Designing trials for health claim substantiation Dr. Roberta Re, Leatherhead Food Research	7
10:00-10:20	L'evoluzione concettuale e normativa in corso nel settore dei prodotti dietetici Dr. Massimo Leonardi, Ministero della Salute	--
10:20-10:35	Regolamento CE 1924/2006 sui claims: il punto di vista dell'industria su difficoltà e prospettive future Dr. Paolo Casoni, Dr. Anna Paonessa, AIIPA	8
10:35-10:50	L'attuazione del Regolamento 1924/06 ed i claims "funzionali" (art. 13.1). Cosa non sta funzionando nell'applicazione della norma e le proposte dell'industria Dr. Germano Scarpa, Dr. Massimiliano Carnassale, FederSalus	9
10:50-11:20	IL MERCATO DEI NUTRACEUTICI Moderatori: Prof. Cesare Sirtori, Università degli Studi di Milano Dr. Massimo Leonardi, Ministero della Salute	
10:50-11:20	La nutraceutica: mercato attuale e prospettive future Dr. Sergio Liberatore, Amministratore Delegato IMS Health SpA	10
11:20-11:40	COFFEE BREAK - SESSIONE POSTER	
11:40-13:00	NUTRACEUTICA E PREVENZIONE Moderatori: Prof. Carlo Franchini, Università degli Studi di Bari Prof. Claudio Galli, Università degli Studi di Milano	
11:40-12:00	Proprietà salutistiche del lupino <u>Anna Arnoldi</u> , Giovanna Boschini, Carmen Lammi, Donatella Resta, Graziana Scigliuolo, Chiara Zanoni, Università degli Studi di Milano	11
12:00-12:30	Approccio nutraceutico multitarget alla sindrome metabolica: risultati preliminari di uno studio clinico randomizzato, in doppio cieco, crossover <u>Paolo Magni</u> , Valerio Barbieri, Alighiero Bondioli, Raffaella Bosisio, Laura Calabresi, Francesca Di Nitto, Francesca Di Vizio, Monica Gomaschi, Giuliana Mombelli, Franco Pazzucconi, Chiara Pavanello, Massimiliano Ruscica, Michela Triolo, Anna Arnoldi, Cesare R. Sirtori, Università degli Studi di Milano	12

12:30-13:00	HOWARU® Restore reduces antibiotic associated diarrhoea and other side-effects of antibiotic-use; a dose-response study Dr. Arthur C. Ouwehand, DuPont Nutrition & Health Sponsorizzato DuPont	13
13:00-14:00	COLAZIONE - SESSIONE POSTER	
14:00-16:00	NUTRACEUTICA E METABOLISMO - CORSO ECM Moderatori: Prof. Francesco Visioli, IMDEA-Food, Madrid Dr. Arrigo F. G. Cicero, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	
14:00-14:30	The portfolio diet: what we have learnt and what we need to learn Prof. David A. Jenkins, Dr. Kristie Srichaikul - University of Toronto	14
14:30-15:00	Nutraceutici da fenoli dell'oliva Prof. Francesco Visioli, IMDEA-Food, Madrid	15
15:00-15:30	Metanalisi sull'effetto antipertensivo dei lactotripeptidi nelle popolazioni caucasiche Dr. Arrigo F. G. Cicero, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	16
15:30-16:00	Prebiotic-induced modification of the gut microbiota as a new tool to control energy homeostasis Dr. PhD Patrice Cani, Université Catholique de Louvain	17
16:00-16:30	COFFEE BREAK - SESSIONE POSTER	
16:30-17:40	COMUNICAZIONI Moderatori: Prof. David J.A. Jenkins, University of Toronto Prof. Paolo Magni, Università degli Studi di Milano	
16:30-16:50	Activity of natural hydroxytyrosol versus a synthetic sample and its chiral analogues: hypothesis on mechanism of action Carlo Franchini, Giovanni Lentini, Claudio Bruno, Mariagrazia Roselli, Solomon Habtemariam, Emilio Birillo, Università degli Studi di Bari	18
16:50-17:00	Glycemic index on oxidative stress and dietary pulses on arterial damage in type 2 diabetes Arash Mirrahimi, Laura Chiavaroli, Livia S.A. Augustin, Sonia Blancomejia, Kristie Srichaikul, Nishi Stephanie, Bashyam Balachandran, James Zhan, Cyril W.C. Kendall, John L. Sievenpiper, Julia M.W. Wong, Alan R. Moody, David J.A. Jenkins, St. Michael's Hospital, Toronto	19
17:00-17:10	Effects of varying the dietary glycemic index and load on postprandial glucose, insulin, antioxidants and markers of oxidative damage Livia S.A. Augustin, Cyril W.C. Kendall, Andrea R. Josse, Edward Vidgen, S. Salvatore, David J.A. Jenkins, St. Michael's Hospital, Toronto	20

17:10-17:25	Crocus sativus extracts possess significant antitumor properties against human prostate cancer cells Andrea Mancini, Anna Rita Lizzi, A. De Simone, C.E. Marroccella, Giovanni Luca Gravina, C. Tatone, Claudio Festuccia, <u>Anna Maria D'Alessandro</u> , Università dell'Aquila	21
17:25-17:40	Ristorazione e nutraceutica Giuseppe Manolo Bontempo, Istituto Alberghiero di Stato di Salsomaggiore Terme	22
18:00-19:00	ASSEMBLEA SOCI SINUT - ELEZIONE PRESIDENTE E CONSIGLIO DIRETTIVO	
	VENERDI' 21 SETTEMBRE	
9:00-9:40	SESSIONE NUTRACEUTICA E SISTEMA NERVOSO Moderatori: Prof. Giovanni Scapagnini, Università degli Studi del Molise Prof. Maria Benedetta Donati, Università Cattolica, Campobasso	
9:00-9:20	Risultati a lungo termine sull'efficacia dell'acido α-lipoico nella cura e nella prevenzione delle neuropatie sacrali <u>Silvia Malaguti</u> , Laura Campanelli, Jacques Lamarche, Studio Medico Malaguti Lamarche	23
9:20-9:40	Sinergia di azione dei trattamenti manuali e delle sostanze nutraceutiche: efficacia e rapidità di azione nella terapia del dolore pelvi-perineale Jacques Lamarche, Laura Campanelli, Daniela Sorrentino, Alessandro Caminiti, Federico Rampazzo, <u>Silvia Malaguti</u> , Studio Medico Malaguti Lamarche	24
9:40-11:00	COMUNICAZIONI Moderatori: Prof. Giovanni Scapagnini, Università degli Studi del Molise Prof. Maria Benedetta Donati, Università Cattolica, Campobasso	
9:40-10:00	Effect of CHOLACTIV™ supplementation in subjects with moderate cardiovascular risk <u>Maria Benedetta Donati</u> , Franco Zito, Francesca Bracone, Anna Sciarretta, Paola Barisciano, Livia Rago, Francesco Gianfagna, Amalia De Curtis, Rita Savarè, Enzo Grossi, Giovanni de Gaetano, Licia Iacoviello, Università Cattolica, Campobasso	25
10:00-10:15	Profilo fitochimico e valenza nutraceutica di varietà di frumento antiche e moderne <u>Emanuela Leoncini</u> , Cecilia Prata, Marco Malaguti, Ilaria Marotti, Antonio Segura-Carretero, Pietro Catizone, Giovanni Dinelli, Silvana Hrelia, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	26
10:15-10:30	Effetto protettivo del sulforafane nei confronti dello stress carbonilico indotto da metilgliosale <u>Daniele Fabbri</u> , Cristina Angeloni, Silvana Hrelia, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	27

10:30-10:45	Acido linoleico coniugato come terapia nutrizionale per la cura di malattie neurodegenerative <u>Anna Petroni</u> , Marco Cappa, P. Gonnelli, Stefania Carta, Elena Murru, Sebastiano Banni, Università degli Studi di Milano	28
10:45-11:00	Espressione di enzimi antiossidanti in cellule progenitrici endoteliali trattate con lisati di grano e di fagiolo ed esposte a stress ossidativo Daniela Lucchesi, Rossella Russo, Giuseppe Penno, Vincenzo Longo, Stefano Del Prato, <u>Laura Pucci</u> , CNR Pisa	29
11:00-11:30	COFFEE BREAK - SESSIONE POSTER	
11:30-13:00	COMUNICAZIONI Moderatori: Dr.ssa Laura Mercolini, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna Prof. Anna Petroni, Università degli Studi di Milano	
11:30-11:40	Il latte di asina: un alimento nutraceutico non solo per l'infanzia <u>Cristina Panetta</u> , Vittorio Lo Presti, Francesco Fantuz, Elisabetta Salimei, Biagina Chiofalo, Università degli Studi di Messina	30
11:40-11:55	Determinazione di composti nutraceutici in spezie amare e piccanti mediante elettroforesi capillare <u>Roberto Mandrioli</u> , Emanuele Morganti, Francesca Bugamelli, Anna Arnoldi, Maria Augusta Raggi, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	32
11:55-12:10	Caffè e camomilla: "solo" bevande? Valutazione e confronto del loro potere antiossidante <u>Maria Addolorata Saracino</u> , Emanuele Morganti, Rinaldo Cervellati, Emanuela Greco, Maria Augusta Raggi, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna	33
12:10-12:40	Pleiotropic protective effects of phytochemicals in Alzheimer's disease <u>Giovanni Scapagnini</u> , Davide Zella, Sergio Davinelli, Università degli Studi del Molise	34
12:40-13:00	Linea oenobiol: bellezza attraverso la nutrizione Diana Scatozza, Specialista in Scienza dell'Alimentazione Sponsorizzato Sanofi	35
13:00-14:00	COLAZIONE - SESSIONE POSTER	
14:00-16:00	NUTRACEUTICA: NUOVI SVILUPPI NELLA COSMETICA E NELLA PRATICA SPORTIVA - CORSO ECM Moderatori: Dr. Paolo Vintani, Associazione Chimica Farmaceutica Lombarda fra Titolari di Farmacia Prof. Francesco Bonina, Università di Catania	

14:00-14:30	Integratori alimentari nel ringiovanimento cutaneo Dr. Riccarda Serri, Specialista in Dermatologia-Presidente SKINECO	36
14:30-15:00	BEAUTY FOODS: la nuova frontiera dell'integrazione alimentare Prof. Francesco Bonina, Università di Catania	37
15:00-15:30	Alimentazione e Sport: un connubio imprescindibile per la prestazione Prof. Marcello Faina, Dipartimento di Scienza dello Sport CONI	38
15:30-16:00	Nutrizione e supplementazione negli sport di endurance Dr. Pier Luigi Fiorella, Federazione Italiana di Atletica leggera	--
16:00-16:30	COFFEE BREAK - SESSIONE POSTER	
16:30-18:30	TAVOLA ROTONDA - TALK SHOW APERTO AI CONSUMATORI Moderatore: Dr. Carlo Gargiulo	

DESIGNING TRIALS FOR HEALTH CLAIM SUBSTANTIATION

Roberta Re

Leatherhead Food Research, Randalls Road, Leatherhead, Surrey, KT22 7RY, UK, Nutrition Research Manager

Many health claims submitted to EFSA have been rejected due to insufficient data or because no cause and effect can be determined. This is proving a bigger challenge than predicted for the food industry. A strong scientific body of evidence, including at least one human intervention study, is required and careful consideration must be given when designing clinical trials for a health claim. Selection of the population, choosing appropriate controls, study power, selection of relevant endpoints and accepted biomarkers as well as mode of use are key components of this process. This presentation will describe these key components and identify the main challenges associated with designing trials for health claim substantiation.

REGOLAMENTO CLAIMS 1924/2006: STATO DELL'ARTE E PROSPETTIVE

Paolo Casoni

Presidente AIIPA* "Prodotti per un'alimentazione particolare e integratori"
AIIPA - ASSOCIAZIONE ITALIANA INDUSTRIE PRODOTTI ALIMENTARI
Corso di Porta Nuova 34, 20121 MILANO
Tel. 02 65 41 84

AIIPA, Associazione Italiana Industrie Prodotti Alimentari, settore "**Nutrizione e Salute**", ha seguito con grande attenzione gli sviluppi del Regolamento claims.

La comunicazione al consumatore e agli operatori sanitari dei benefici sulla salute (health claims) dei prodotti dell'area integratori, salutistici/funzionali, prima infanzia e dietetici, rimane infatti un punto chiave per il futuro di questo settore.

Viene svolto un primo bilancio a quasi 6 anni dalla pubblicazione del Regolamento 1924/2006 con uno sguardo alle prospettive in vista degli imminenti e importanti sviluppi che ci attendono nei prossimi mesi.

***AIIPA, Associazione Italiana Industrie Prodotti Alimentari**, aderente a Confindustria, nata nel 1945, rappresenta circa 300 aziende ed è articolata in **6 Associazioni di settore** a tutela di particolari esigenze ed interessi specifici di imprese che operano nello stesso ambito di attività.

L'Associazione di settore **AIIPA "Nutrizione e Salute"** comprende i seguenti Gruppi:

- Alimenti per l'infanzia e prodotti dietetici**
- Integratori alimentari e prodotti salutistici**
- Edulcoranti**

L'ATTUAZIONE DEL REGOLAMENTO 1924/06 ED I CLAIMS "FUNZIONALI" (ART. 13.1). COSA NON STA FUNZIONANDO NELL'APPLICAZIONE DELLA NORMA E LE PROPOSTE DELL'INDUSTRIA

Germano Scarpa

Presidente FederSalus

L'attuazione del Regolamento 1924/06 contraddice, nell'opinione dell'Industria italiana di produzione e commercializzazione degli integratori alimentari, gli scopi e gli obiettivi della norma sanciti nei Considerando introduttivi dell'atto comunitario.

La recente pubblicazione del Regolamento 432/12, primo compimento del processo di valutazione degli health claims di cui all'art. 13.1 del Reg. 1924/06, rafforza detta convinzione.

Lacune procedurali, assenza di regole certe e di indicazioni operative, scarsa assistenza alle aziende richiedenti hanno pregiudicato una legittima e coerente implementazione della norma.

Risultano quindi approvati pochi health claims, scarsamente significativi per il consumatore e di nessun valore per il lavoro di promozione e sviluppo di prodotti da parte delle aziende che operano nel mercato dell'integrazione nutrizionale.

Si impone quindi un ripensamento delle regole. L'industria italiana propone di modificare il processo di validazione scientifica degli health claims.

Una proposta in tal senso è stata avanzata alla Commissione UE da FederSalus (Associazione nazionale produttori prodotti salutistici) che è pronta ad intraprendere ogni ulteriore iniziativa a tutela dei legittimi interessi del mercato nazionale e comunitario degli integratori alimentari.

LA NUTRACEUTICA: MERCATO ATTUALE E PROSPETTIVE FUTURE

Sergio Liberatore

Amministratore Delegato IMSHealth Italia

Il mercato della salute presenta uno scenario dinamico caratterizzato dall'ambiente macroeconomico negativo, dal ridisegno della distribuzione territoriale e da dinamiche di prezzo influenzate pesantemente dalle scadenze brevettuali.

Il trend del mercato Commerciale bilancia, almeno in parte, questa tendenza. Dal 2009 infatti presenta un andamento in controtendenza rispetto al comparto Etico. Con un valore di 10 miliardi di Euro questo comparto rappresenta un polmone indispensabile per sostenere la redditività della Farmacia.

In Farmacia i segmenti di prodotti a carico del paziente (Classe C e Autocura) sono i più penalizzati: questo suggerisce l'ipotesi che il consumatore, davanti alla scelta di un prodotto con caratteristiche prettamente clinico/terapeutiche, preferisca la richiesta di prodotti rimborsati, riservando invece l'esborso out of pocket a prodotti più specifici e particolari, quali ad esempio i prodotti nutraceutici.

Il neologismo fonde in sé due fondamentali concetti propri del canale professionale: 'nutritional', inteso a determinare più l'iter burocratico per ottenere l'autorizzazione all'immissione in commercio che non la finalità d'uso, e 'pharmaceutical', a rappresentare le "capacità terapeutiche" dei prodotti stessi.

Il termine ben si addice quindi a un consumatore che, in virtù del posizionamento di marketing, non fa differenza alcuna tra questi e gli altri prodotti farmaceutici non soggetti all'obbligo della prescrizione medica.

A fronte di un'evoluzione negativa del mercato in farmacia (- 3%*), con un comparto commerciale modestamente attestato allo 0,6%*, la nutraceutica presenta ancora un trend con andamenti positivi.

Il mercato dei nutraceutici notificati vale oggi per il canale attorno a 1,6 Miliardi di Euro* con una crescita del 5,1%* sull'anno mobile a Giugno 2012. Tuttavia pur evidenziando alcuni segmenti che si evolvono a doppia cifra (Apparato circolatorio, Urologia ...), il trend si è dimezzato rispetto all'anno precedente.

Siamo quindi giunti al momento faticoso del passaggio dall'epoca dello sviluppo dei consumi alla crescita delle marche per "share gain".

E' ormai aperta la battaglia per le preferenze, in cui i produttori, dato il quasi raggiunto plafonamento di mercato, competono per mantenere i clienti acquisiti e per conquistarne di nuovi sottraendoli alla concorrenza.

*IMS Multichannel View – Giugno 2012

PROPRIETA' SALUTISTICHE DEL LUPINO DOLCE

Anna Arnoldi,¹ Giovanna Boschini,¹ Carmen Lammi,¹ Donatella Resta,² Graziana Scigliuolo,² Chiara Zanoni¹

¹ Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano

² HPF Nutraceutics SRL

I legumi, che rappresentano la migliore fonte di proteine vegetali, recentemente stanno guadagnando grande interesse per la grande sostenibilità ambientale. Infatti, è ormai cosa nota che i consumi di terreno coltivabile, di acqua potabile e di energia per la produzione delle proteine animali sono notevolmente più elevati di quelli per la produzione delle proteine vegetali. Mentre in Asia numerose popolazioni hanno usato tradizionalmente la soia come fonte di proteine vegetali, in Europa si incontrano caratteristiche simili nel lupino, che può contenere oltre il 40% di proteine con un contenuto soddisfacente di amino acidi essenziali. Per questo motivo sta aumentando la presenza sul mercato di ingredienti a base di proteine di lupino che trovano utilizzo in diverse applicazioni alimentari.

Il nostro gruppo di ricerca è stato il primo al mondo a studiare in modo sistematico le proprietà salutistiche di questo seme, dapprima relativamente alla specie *Lupinus albus*, in seguito anche alla specie *Lupinus angustifolius*. Abbiamo studiato i nutrienti più interessanti, come i tocoferoli (1) e gli acidi grassi polinsaturi; i fattori antinutrizionali, come gli alcaloidi chinolizidinici (2); e l'allergenicità, che dipende dalla cross-reattività con le proteine di arachide (3); abbiamo sviluppato metodi per la tracciabilità (4), basati su tecniche in spettrometria di massa; e abbiamo indagato in dettaglio le proprietà nutraceutiche in animali modello e anche nell'uomo. Questi ultimi risultati hanno sollevato grande interesse a livello scientifico e industriale. Abbiamo dimostrato che alimenti a base di lupino diminuiscono il colesterolo totale e LDL e sono utili nel controllo della pressione. In particolare, uno studio basato su barrette dietetiche contenenti 30 g di proteine ha prodotto in un mese una diminuzione del 4.2% del colesterolo totale in un gruppo di 25 pazienti, rispetto alla caseina usata come controllo (5). E' attualmente in corso il progetto europeo LUPICARP (SME-2011-285819) che sta approfondendo ulteriormente questi aspetti.

Bibliografia

1. Boschini, G., Arnoldi, A. *Food Chem.* **2011**, 127, 1199-1203.
2. Boschini G. et al. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, 56, 3657-3663.
3. Sirtori, E. et al. *Food Chem.* **2011**, 126, 902-910.
4. Resta, D. et al. *Food Chem.* **2012**, 131, 126-133.
5. Sirtori, C.R. et al. *Brit. J. Nutr.* **2012**, 107, 1176-1183.

APPROCCIO NUTRACEUTICO MULTITARGET NELLA SINDROME METABOLICA CON IPERCOLESTEROLEMIA MODERATA: RISULTATI PRELIMINARI DI UNO STUDIO RANDOMIZZATO, CROSSOVER, IN DOPPIO CIECO

Paolo Magni^{1,2}, Valerio Barbieri¹, Alighiero Bondioli¹, Raffaella Bosisio¹, Laura Calabresi^{1,2}, Francesca Di Nitto², Francesca Di Vizio^{1,2}, Monica Gomaraschi^{1,2}, Giuliana Mombelli¹, Franco Pazzucconi^{1,2}, Chiara Pavanello^{1,2}, Massimiliano Ruscica^{1,2}, Michela Triolo¹, Anna Arnoldi^{1,3}, Cesare R. Sirtori^{1,2}

¹ Centro Dislipidemie, A. O. Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano

² Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi, Milano

³ Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi, Milano

La sindrome metabolica raggruppa una serie di fattori di rischio cardiovascolare e metabolico, tra cui dislipidemia, resistenza all'insulina/diabete mellito, ipertensione arteriosa e adiposità viscerale. Sebbene vi sia un ampio dibattito su quali fattori debbano essere inclusi nella sindrome metabolica e su quali siano i livelli diagnostici della stessa per ogni parametro considerato, appare certo come la correzione di tali fattori di rischio mediante modifica dello stile di vita, anche in associazione con farmaci appropriati, possa contribuire a ridurre morbilità e mortalità nei soggetti interessati.

Il presente studio ha lo scopo di valutare l'utilità di un approccio nutraceutico multitarget per il miglioramento dei fattori di rischio cardiometabolico in soggetti con sindrome metabolica e dislipidemia di grado moderato. E' stata utilizzata una miscela di molecole ad attività nutraceutica (ARMOLIPID PLUS^R), comprendenti: lovastatina (3 mg/die; inibitore della HMGCoA riduttasi), berberina (500 mg/die; stimolatore dell'espressione dei recettori delle LDL e con attività insulino-sensibilizzante), policosanoli (10 mg/die); acido folico (0,2 mg/die); coenzima Q10 (2 mg/die) e astaxantina (0,5 mg/die) (antiossidanti). Trenta pazienti di entrambi i generi, portatori di 3 o più dei 5 criteri di sindrome metabolica secondo NCEP ATP III, sono stati arruolati in uno studio randomizzato in doppio cieco con disegno cross-over, allo scopo di confrontare l'effetto del composto nutraceutico rispetto al placebo (8 settimane di trattamento). Successivamente i pazienti sono stati sottoposti a trattamento (8 settimane) con pravastatina (10 mg/die), per valutare l'attività del composto nutraceutico anche rispetto ad un trattamento standard. Nel corso dello studio sono stati esaminati parametri biochimici clinici (profilo lipidico e glicometabolico) e sperimentali (adipochine, citochine pro-infiammatorie) associati all'espressione della sindrome metabolica.

I risultati ottenuti hanno dimostrato l'efficacia del prodotto sia sui parametri metabolici standard, sia su alcuni dei parametri endocrini ed anti-infiammatori caratteristici della sindrome metabolica. In particolare, l'intervento nutraceutico ha prodotto una riduzione della colesterolemia totale (-12,8%) e dell'LDL-colesterolo (-21,1%) rispetto al placebo, con risultati comparabili con quelli ottenuti con pravastatina (-15,5% e -20,6%, rispettivamente), ed un aumento dell'HDL-colesterolo (+5%). I livelli circolanti di adiponectina, un fattore protettivo in campo cardiometabolico, non sono stati modificati dal trattamento nutraceutico, ma sono stati ridotti del 10,3% da pravastatina.

Questi risultati permettono quindi di indicare questo trattamento nutraceutico multitarget per pazienti con dislipidemia e sindrome metabolica di livello moderato o medio, affiancando alle abituali valutazioni cliniche quella di nuovi biomarcatori (adipochine, indicatori di infiammazione di basso grado), utili per descrivere meglio la modifica del rischio cardiometabolico. L'approccio nutraceutico multifattoriale appare un utile strumento, soprattutto nelle condizioni di rischio cardiovascolare moderato, in cui l'intervento farmacologico può non essere indicato.

HOWARU® RESTORE REDUCES ANTIBIOTIC ASSOCIATED DIARRHOEA AND OTHER SIDE-EFFECTS OF ANTIBIOTIC-USE; A DOSE-RESPONSE STUDY

Arthur C. Ouwehand

Active Nutrition, DuPont Nutrition & Health, 02460 Kantvik, Finland

Antibiotics have brought great benefits to human medicine and have enabled us to successfully treat infectious diseases. However, by their nature, antibiotics kill bacteria and although narrow spectrum antibiotics are available even these will inevitably affect bacterial groups other than the pathogen they are intended to kill. Antibiotic consumption has therefore been shown to negatively influence the composition and functionality of our intestinal microbiota. The most prominent sign of this is antibiotic associated diarrhoea, but it can also manifest itself in more benign side effects as bloating, gas, cramps, etc.

Probiotics have in several studies shown to ameliorate the risk for antibiotic associated diarrhoea (AAD); in particular *Saccharomyces cerevisiae* (boulardii), but also various strains of *Lactobacillus* probiotics. We have recently shown that a combination of lactobacilli and bifidobacteria (HOWARU® Restore) was able to maintain the stability of the whole microbiota of healthy volunteers consuming antibiotics. We therefore aimed to investigate the effect of this probiotic combination on patients seeking clinical care and being prescribed antibiotics.

We recruited 503 patients whom were randomised over three groups receiving either a placebo (micro crystalline cellulose) or HOWARU® Restore at a dose of 2.5×10^9 CFU/day (Low) or 10^{10} CFU/day (High). Incidence and duration of diarrhoea was assessed as well as the incidence of *Clostridium difficile* associated diarrhoea

Subjects were 50 years of age (± 11 years). Older subjects were more likely to suffer from AAD than younger subjects; also subjects with a longer exposure to antibiotics were more likely to suffer from AAD. Women tended to have a higher incidence of AAD, but this did not reach statistical significance. Over all incidence of AAD was 19% while overall incidence of *C. difficile* associated diarrhoea (CDAD) was 2.8%.

There was a significant difference in the incidence of AAD between the treatment groups; 25%, 20% and 13%, for placebo, Low and High dose, respectively. There was also a significant difference in CDAD between the treatment groups; 4.8%, 1.8% and 1.8%, for placebo, Low and High dose, respectively. Also the duration of diarrhoea was significantly different between groups; 5.4, 2.6 and 3.5 days (placebo, High and Low dose, respectively) as well as bloating, fever and abdominal pain.

This is one of the few dose-response studies with probiotics; showing a dose dependent reduction in side effects of antibiotic use.

THE PORTFOLIO DIET EXPERIENCE: WHAT WE HAVE LEARNT AND WHAT WE NEED TO LEARN

David Jenkins^{1,2}, Arash Mirrahimi^{1,2}, Korbua Srichaikul^{1,2,3}, Laura Chiavaroli^{1,2}, Livia Augustin^{1,2}, John Sievenpiper^{1,2,4}, Cyril Kendall^{1,2}

¹ Clinical Nutrition & Risk Factor Modification Center; Division of Endocrinology and Metabolism, St. Michael's Hospital, 61, Queen St. East, Toronto, Ontario M5C-3E2, Canada

² Departments of Nutritional Sciences, Faculty of Medicine, University of Toronto, 150 College St. Toronto, Ontario, M5S-3E2, Canada

³ University of Ottawa, Canada

⁴ Departments of Pathology and Molecular Medicine, Faculty of Health Sciences, McMaster University, Hamilton, ON, Canada

Concern has been expressed that diet is ineffective in lowering serum cholesterol in the age of powerful drugs (e.g. statins). However diet is a combination of many foods and it is therefore useful to consider the therapeutic effects of foods taken in combination i.e. a dietary portfolio of foods carefully constructed in the same way as a financial portfolio.

A combination of recognized cholesterol-lowering foods including soy protein, plant sterols, viscous fibers, and nuts reduce serum cholesterol under metabolic conditions similarly to 20 mg of lovastatin.

In yearlong studies, 1/3 the statin reduction was achieved in those who continued with such as diet.

A large (345 participants) study involving 4 centres across Canada over 6 month showed an overall LDL-C reduction of 13-14% on the dietary portfolio and 3% reduction on the high cereal fibre therapeutic diet. However of interest was the number of instruction visits, 2 versus 6 made no difference, but the degree of LDL-C reduction related to the number of vegetarian restaurants and health food stores in the area. We conclude that the dietary portfolio approach provides an opportunity to maximize the effect of diet in lowering LDL-C. Studies now need to be carried out to test the effect of this dietary approach in reducing arterial damage and CHD risk.

These studies have been funded by NSERC, CIHR, Loblaws, Unilever, Solae, The Almond board of California and Barilla.

NUTRACEUTICALS FROM OLIVE PHENOLICS

Francesco Visioli

IMDEA – Food, CEI UAM+CSIC. C/ Faraday 7, 28040 Madrid, Spain

Olives contain high proportion of phenolic compounds, which are produced in response to environmental stress (namely, UV light, heat, and insects). These compounds, e.g. hydroxytyrosol and oleuropein are being studied in the area of human health for approximately 20 years and it is noteworthy that the field of olive phenols and health, as related to the cardiovascular system, is very advanced (far more than that of, e.g. green tea or red wine). Approximately 20 human trials describe the superiority of phenol-rich olive oil to other vegetable oils or sources of fat. As a result, the EFSA recently approved a health claim for olive phenols, including hydroxytyrosol.

Several mechanisms of action have been proposed to explain the cardioprotective properties of olive phenols. While the antioxidant hypothesis – however challenged – still holds true, several other actions are being demonstrated in controlled trials. These include activation of nrf2 and production of glutathione, interference with CD40, anti-inflammatory activities, etc. It is difficult to single out the main mechanism responsible for the healthful activities of olive phenols, but it is conceivable that a combination of more than one biological activity would translate into the observed benefits.

Two major fields remain to be investigated, namely that of neurodegenerative disease and that of cancer. Epidemiological evidence is suggestive, but experimental studies are lacking; hence, we cannot draw firm conclusions on the activities of hydroxytyrosol and other phenolics.

In conclusion, there is now solid evidence that olive phenolics exert beneficial effects once ingested. Future research will further clarify their mechanisms of action, precise targets, and appropriate dose and timing of administration.

METANALISI SULL'EFFETTO IPERTENSIVO DEI LACTOTRIPEPTIDI NELLE POPOLAZIONI CAUCASICHE

Arrigo F.G. Cicero^a, François Aubin^b, Véronique Azais-Braesco^c, Claudio Borghi^a

^a Medicine and Surgery Dept., University of Bologna, Italy

^b Cardinal Systems, Paris, France

^c VAB-nutrition, Clermont-Ferrand, France

Razionale: I lactotripeptidi derivati dal latte isoleucina-prolina-prolina (IPP) e valina-prolina-prolina (VPP) hanno dimostrato di ridurre i livelli pressori, specie della pressione arteriosa sistolica (PAS).¹⁻³ Questa riduzione è chiara nei soggetti di etnia asiatica mentre meno consistente nelle popolazioni caucasiche.

Metodi: E' stata condotta una metanalisi degli studi clinici controllati disponibili, secondo i criteri PRISMA, e usando un REML random-effect, per verificare l'effetto dei lactotripeptidi IPP/VPP sulla PAS in soggetti Europei e di valutare i determinanti di questo effetto.

Risultati: Sono state identificate 18 pubblicazioni e 12 trials con 13 set di dati (n=1042) rispondevano ai criteri di inclusione. Sebbene non in tutti i singoli trials si osservasse una significativa riduzione della PAS, combinando tutti i dati si osservava un significativo effetto antipertensivo di IPP/VPP rispetto al placebo, di ampiezza di -1.29 mmHg (95% CI: [-2.16, -0.42], p=0.0038). Non vi era evidenza di bias di pubblicazione. L'esplorazione dell'eterogeneità (sebbene non statisticamente significativa - p=0.068) mostrava un significativo effetto dell'età. Ogni anno addizionale di età riduceva l'effetto antipertensivo di 0.09 mmHg; questo può essere correlate alla maggior prevalenza di ipertensione sistolica isolata nei soggetti più anziani che potrebbe essere meno responsiva a trattamenti non farmacologici.

Conclusione: I lactotripeptidi IPP/VPP riducono significativamente la PAS anche in soggetti Europei. Sebbene moderato questo calo di PAS è sovrapponibile a quello ottenibile con una moderata riduzione dell'apporto sodico.

Bibliografia

1. Cicero AFG et al. *J Hum Hypertens.* **2011**, 25(7), 425-36.
2. Geleijnse JM, Engberink MF. *Curr Opin Lipidol.* **2010**, 21(1), 58-63.
3. Cicero AFG, et al. *Hypertens Res.* **2011**, 34(9), 1035-1040.

GUT MICROBIOTA, OBESITY AND TYPE 2 DIABETES: INSIGHTS INTO THE PREBIOTICS

Patrice D. Cani

Université catholique de Louvain, Louvain Drug Research Institute, Metabolism and Nutrition research group, Av. E. Mounier, 73 box B1.73.11. 1200 Brussels, Belgium
Email: Patrice.cani@uclouvain.be

Obesity, type-2 diabetes and low-grade inflammation are becoming worldwide epidemic. We and others have provided evidence that the gut microbiota participate to the control of energy homeostasis¹. Therefore, we have defined a novel concept, that we called the “*MicrObesity*” (*Microbes* and *Obesity*). This concept aims to understand the specific role played by the gut microbes and their impact on host metabolism, energy storage, and metabolic inflammation.

Over the last 15 years, our work has been devoted to investigate the mechanisms by which the bacteria present within the gastrointestinal tract interact with nutrients and host biology to control obesity and associated disorders, including diabetes, metabolic inflammation and liver diseases.

In 2007, we discovered that the gut microbiota contribute to the development of the insulin resistance and the low grade inflammation characterizing obesity. We described the concept of metabolic endotoxemia (increase in plasma LPS levels) as a triggering factor leading to the development of the metabolic inflammation and insulin resistance associated with obesity².

Following this discovery, we identified the gut barrier function as a key player involved in the development of metabolic endotoxemia observed upon obesity. We found that both nutritional and genetic-induced obesity and type 2 diabetic animals display an increased gut permeability leading to the leakage of LPS and possibly other microbiota derived factors³. Although the clear mechanisms involved in the bacteria-host interactions are still under investigation, we found that the gut microbiota interact with enteroendocrine functions (production of GLP-1, PYY, GIP, GLP-2) as well as with enteroendocrine L-cells (producing GLP-1, PYY and GLP-2). For instance, we found that prebiotics treatment increase L-cells number and differentiation, modulate the endocannabinoid system tone⁴ but also leptin sensitivity⁵. We found that this selective changes in the gut microbiota composition (by using prebiotics) reduce metabolic endotoxemia and gut permeability via different mechanisms (e.g., GLP-2, endocannabinoid system).

More recently, we have identified a novel bacterial candidate (*Akkermansia muciniphila*) that plays a major role upon obesity, diabetes and inflammation.

Taken together, the compelling data currently published suggest that specific changes in the gut microbiota could be promoted to counteract fat mass development, diabetes and the low levels of inflammation associated with obesity.

References

1. Delzenne N. et al. *Nature Reviews Endocrinology*, **2011**, 7, 639-646.
2. Cani, P.D. et al. *Diabetes*, **2007**, 56, 1761-1762.
3. Cani, P.D. et al. *Diabetes*, **2008**, 57, 1470-1481.
4. Muccioli, G.G. et al. *Molecular Systems Biology*, **2010**, 6, 392.
5. Everard, A. et al. *Diabetes*, **2011**, 60, 2775-2786.

ACTIVITY OF NATURAL HYDROXYTYROSOL VERSUS A SYNTHETIC SAMPLE AND ITS CHIRAL ANALOGUES: HYPOTESIS ON MECHANISM OF ACTION

Carlo Franchini,¹ Giovanni Lentini,¹ Claudio Bruno,¹ Mariagrazia Roselli,¹ Solomon Habtemariam,² Emilio Jirillo³

¹ Dipartimento Farmaco Chimico, Università degli Studi di Bari, via Orabona 4, 70125 Bari, Italy

² Pharmacognosy Research Laboratories, Medway School of Science, University of Greenwich Central Avenue Chatham Maritime Kent ME4 4T

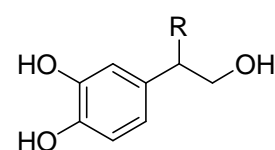
³ Department of Clinical Medicine, Immunology and Infectious Diseases, Faculty of Medicine, University of Bari, Policlinico, 70124 Bari, Italy

E-mail: cfranc@farmchim.uniba.it

Hydroxytyrosol is a potent phenolic antioxidant present in olive oil and olive mill waste water¹. It exhibits a wide range of biological effects such as scavenging of superoxide anion and hydroxyl radical², antimicrobial, and immunostimulatory action^{3,4}.

The aims of the present research are to obtain:

- natural extracts of hydroxytyrosol from olive mill waste waters;
- the synthetic standard of hydroxytyrosol;
- analogues of hydroxytyrosol both in racemic form and in their corresponding optically active forms.
- evaluation of the effects of the above compounds on human peripheral blood mononuclear cell cytokine production in order to verify the contribution of this activity to the overall pharmacological profile of hydroxytyrosol.



R = H, Hydroxytyrosol

Data on chemical and enantiomeric purity obtained by the use of capillary electrophoresis as well as on biological activities, even including regulation of the immune networks, of both synthetic and extract derived catechols will be presented.

References

1. Manna, C. et al. *AdV. Exp. Med. Biol.* **1999**, 472, 115–130.
2. Visioli, F. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, 247, 60–64.
3. Furneri, P. M. et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, 48, 4892–4894.
4. Pinelli, P., Galardi, C.; Mulinacci, N.; Vincieri, F.F.; Romani, A. ; Tattini, M. *J. Commodity Sci.* **2000**, 39, 71–83.

GLYCEMIC INDEX ON OXIDATIVE STRESS AND DIETARY PULSES ON ARTERIAL DAMAGE IN TYPE 2 DIABETES

Arash Mirrahimi^{1,2}, Laura Chiavaroli^{1,2}, Livia S.A. Augustin^{1,2}, Sonia Blancodejia^{1,2}, Kristie Srichaikul¹, Nishi Stephanie^{1,2}, Bashyam Balachandran^{1,2}, James Zhan³, Cyril W.C. Kendall^{1,2,4}, John L. Sievenpiper^{1,5}, Julia M.W. Wong⁶, Alan R. Moody³, David J.A. Jenkins^{1,2}

¹ Clinical Nutrition & Risk Factor Modification Center; Division of Endocrinology and Metabolism, St. Michael's Hospital, 61, Queen St. East, Toronto, ON, M5C3E2, Canada

² Departments of Nutritional Sciences, Faculty of Medicine, University of Toronto, 150 College St. Toronto, ON, M5S3E2, Canada

³ Department of Medical Imaging, Sunnybrook Health Sciences Center, Toronto, ON, Canada; 2075 Bayview Ave., Room AG 57, Toronto, ON, M4N3M5

⁴ College of Pharmacy and Nutrition, University of Saskatchewan, 110 Science Place, Saskatoon, Saskatchewan, S7N5C9, Canada

⁵ Departments of Pathology and Molecular Medicine, Faculty of Health Sciences, McMaster University, HSC-2N22B, 1200 Main St. W, Hamilton, ON, L8N3Z5, Canada

⁶ Division of Endocrinology, Children's Hospital Boston, 300 Longwood Avenue, Boston, Massachusetts. 02115, USA

E-mail: arash.mir.rahimi@utoronto.ca

BACKGROUND: Increased glycemic excursions in type 2 diabetes have been linked to free radical generation and oxidative damage. Oxidative damage to low density lipoproteins (LDL) has in turn been linked to arterial damage. We have therefore assessed the effect of diet on lipid oxidation as well as carotid intima-medial thickness (IMT) in clinical trials.

METHODS: Separate analyses were performed on two different trials. First, the oxidative stress analysis involved 151 type 2 diabetic participants who completed either 6 months of low glycemic index or high cereal fiber dietary advice in a randomized parallel design. Measurements were made of both thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and conjugated dienes (CDs) in the LDL fraction as markers of LDL oxidation. Secondly, we analyzed baseline biochemistry and 7 day food records of 158 type 2 diabetic individuals from a low GI pulse study. Intima-medial thickness (IMT) measurements of the carotid arteries were also performed by high resolution B-mode ultrasound prior to collection of food records. Subjects were divided into two groups, those with significant single segment maximum focal disease (IMT>1.5mm) and those without (IMT≤1.5mm).

RESULTS: The low GI diet reduced HbA1c but did not significantly change markers of oxidative damage. However, when the data from the two treatments were pooled, changes in oxidized LDL measured both as TBARS and conjugated dienes (CDs) related inversely to low glycemic index carbohydrate intake (TBARS $r = -0.17$, $N=150$, $P=0.042$ and CDs $r=-0.22$, $n=151$, $P=0.008$, respectively). In the second study, for the arterial damage analysis, although habitual daily pulse intake was not significantly higher in the IMT≤1.5mm ($N=65$) group ($39.6g\pm 5.6g$) compared to the IMT>1.5mm ($n=93$) group ($27.4g\pm 5.5g$) ($P=0.129$), the ratio of pulse-eaters (>0g) to non-pulse-eaters (=0g) was significantly higher in the IMT≤1.5mm (55:10) compared to IMT>1.5mm (55:38) ($P=0.0008$).

CONCLUSION: Current data suggest that intake of low glycemic index carbohydrates in type 2 diabetes is associated with reduce levels of oxidized LDL. This association may explain the lower levels of arterial damage seen in type 2 diabetics who habitually consume low GI-pulses.

EFFECTS OF VARYING THE DIETARY GLYCEMIC INDEX AND LOAD ON POSTPRANDIAL GLUCOSE, INSULIN, ANTIOXIDANTS AND MARKERS OF OXIDATIVE DAMAGE

Livia S.A. Augustin^{1,2}, Cyril W.C. Kendall^{1,2}, Andrea R. Josse², Edward Vidgen², Salvatore S.³, David J.A. Jenkins^{1,2}

¹ Clinical Nutrition & Risk Factor Modification Center; Division of Endocrinology and Metabolism, St. Michael's Hospital, 61, Queen St. East, Toronto, Ontario M5C-3E2, Canada

² Departments of Nutritional Sciences, Faculty of Medicine, University of Toronto, 150 College St. Toronto, Ontario, M5S-3E2, Canada

³ Nutrition Unit, Ferrero Group, Piazzale Pietro Ferrero, Alba 12051 (CN), Italy

Background: Hyperglycemia and diabetes have been associated with increased oxidative stress and cancer risk. In Italian case-control studies high bread consumption was associated with higher colorectal and breast cancer risk while high pasta consumption was not. Strategies that reduce postprandial glucose excursions (e.g. low glycemic index diets) have been associated with reduced cancer risk. One possible mechanism may be through reduced postprandial oxidative stress.

Objective: To assess the effect of reducing postprandial glucose excursions by means of low GI foods on circulating antioxidant concentrations and measures of oxidative damage.

Methods: In an acute study lasting 4 hours, 14 healthy subjects were fed, on separate days, 4 foods containing either 50g or 100g available carbohydrates from either a high GI food (white bread: Bread-50 and Bread-100) or a low GI food (pasta: Pasta-50 and Pasta-100).

Results: The incremental area under the blood glucose curve (iAUC) for Bread-100 and -50 (196±11 minmmol/L and 157±16 minmmol/L, respectively) were significantly higher than the respective pasta-100 and -50 (126±11 minmmol/L and 103±9 minmmol/L, respectively, $p < 0.01$). No post-meal differences were seen between treatments in total antioxidant capacity, antioxidants or markers of oxidative damage. Pearson correlations showed significant inverse correlations of glucose peak height and glucose iAUC with total carotenoids AUC at 2 hours ($r = -0.64$, $p = 0.014$; $r = -0.87$, $p = 0.000$, respectively) and at 4 hours ($r = -0.62$, $p = 0.017$; $r = -0.72$, $p = 0.004$, respectively).

Conclusions: postprandially all treatments increased oxidative stress, however, the dietary GI did not seem to affect postprandial oxidative damage or antioxidants status in healthy subjects. Trials including subjects with compromised glucose control resulting in larger glucose fluctuations may be required to investigate this potential link and longer term trials may be needed to fully capture any potential effect. The lower postprandial glycemia of both pasta portions suggests potential health benefits which could extend to other chronic diseases. Pasta also represents a vehicle for the intake of beneficial micronutrients and antioxidants (e.g. lycopenes, Vitamin C and E) and for the consumption of a Mediterranean-style diet (e.g. 'pasta e fagioli') which has been linked to reduced chronic diseases.

CROCUS SATIVUS EXTRACTS POSSESS SIGNIFICANT ANTITUMOR PROPERTIES AGAINST HUMAN PROSTATE CANCER CELLS

Mancini A.¹, Lizzi A.R.², De Simone A.³, Marroccella C.E.³, Gravina G.L.⁴, Tatone C.¹; Festuccia C.⁴, D'Alessandro A.M.¹

¹ Health Sciences, University of L'Aquila

² Biomedical science and Technologies, University of L'Aquila

³ Chamber of Commerce, Agenzia per lo Sviluppo

⁴ Experimental Medicine, University of L'Aquila

In this study, we investigated the antitumor effects of Saffron extract (SE) and its major constituent crocin on malignant and nonmalignant prostate cancer cell lines. Using high performance liquid chromatography (HPLC), the purity and content of crocin were determined. In vitro studies demonstrated that SE or crocin influenced cell cycle and induced Apoptosis in a time- and concentration-dependent manner with IC50 values ranging between 0.4 and 4 mg/ml for SE and between 0.26 and 0.95 mM/ml for crocin. Nonmalignant cells were not affected. Flow cytometry profiles revealed that most cells were arrested at G0/G1. phase with a significant presence of apoptotic cells. Western blot analysis revealed that the expression of Bcl-2 was strikingly downregulated, while Bax was upregulated. Analysis of Caspase activity indicated a caspase-dependent pathway with involvement of caspase-9 activation, suggesting an intrinsic pathway. In vivo experiments were performed on 22rv1 cells xenografted in male nude mice. Saffron extract or crocin were administered per os at 400 mg/Kg/day and 200 mg/Kg/day, respectively, by oral gavage. We observed a reduction although not significant of tumor mass verified at the end (28 days) of experiment after treatment with saffron extract (31.3% vs control, 988 +/- 147 mg [mean +/- SD] vs 1438 +/- 167 mg, p=0.063) but a significant reduction after treatment with crocin (56.8% vs control, 621 +/- 87 vs 1438 +/- 167 mg, p<0.001). A significant reduction of angiogenesis was also observed. Taken together, these findings suggest that crocin may be used in the treatment of locally aggressive prostate cancer. However, due to absence of partial or complete responses, crocin could be use in combination with chemotherapy or radiotherapy. Further studies in this filed should be performed.

RISTORAZIONE E NUTRACEUTICA

Giuseppe Manolo Bontempo

Istituto Alberghiero di Stato di Salsomaggiore Terme Viale Romagnosi 7 43039 Salsomaggiore Terme (PR)
Tel 0524 572270

Dopo anni di insegnamento nella scuola alberghiera, mi sono reso conto della necessità di affrontare l'educazione alimentare in modo più sistematico, vista la mancanza di consapevolezza alimentare nella maggior parte degli studenti, futuri chef.

Inoltre, sulla spinta di una crescente urgenza di tipo sanitario, legata ad effetti sempre più evidenti della cattiva alimentazione soprattutto tra i più giovani, mi sono reso conto che mancavano informazioni per riappropriarsi di un rapporto più diretto con il cibo, realizzabile attraverso il fare concreto, per un avvicinamento attivo, consapevole e critico all'alimentazione.

Ho così deciso di trattare la tematica della nutraceutica inserita in un contesto ristorativo. Durante l'anno scolastico 2011/2012 con alcune delle mie classi ho affrontato l'argomento prima dal punto di vista teorico, con il supporto di strumenti multimediali, passando attraverso dibattiti, incontri formativi e informativi e laboratori didattici, poi dal punto di vista pratico.

Con il supporto di un'azienda del territorio, ho realizzato esercitazioni pratiche in cucina, preparando con gli studenti menù composti secondo i principi della nutraceutica. Questa attività ha portato alla realizzazione di filmati dallo scopo divulgativo e di dispense di ricette nutraceutiche.

Con questa attività, realizzata in piena sintonia tra la scuola e l'azienda ospite, anche attraverso lo sviluppo di percorsi di educazione alimentare, ho cercato di incentivare la consapevolezza sull'importanza del rapporto cibo-salute così da sviluppare una coscienza alimentare personale e collettiva. Ho cercato di favorire l'adozione di sani comportamenti alimentari, adottando opportune metodologie didattiche e considerando con particolare attenzione la conoscenza delle produzioni agroalimentari di qualità.

Ho cercato di sensibilizzare ciascun studente con una presa di coscienza etico-professionale su quello che potrebbe diventare il loro lavoro, sensibilizzandoli sull'importanza cruciale della corretta trasformazione del cibo nell'azienda ristorativa. Il cibo, infatti, non deve nuocere alla salute di chi lo consuma, ma deve soddisfare precisi requisiti di aspetto, forma, colore, odore, sapore, consistenza, ecc, e deve contenere sostanze utili all'organismo. Il cibo deve soddisfare le necessità di gratificazione psicologica e sociale del consumatore, senza danneggiarlo.

Gli studenti hanno accolto l'esperienza in modo positivo, manifestando un comportamento attivo e responsabile nei confronti di questa tematica.

Inoltre, questo progetto mi ha permesso di sviluppare altre tematiche collegate alla buona e salutare alimentazione quali, ad esempio, "La cucina del benessere" e "Mettiamoci il cuore".

Progetto eseguito sulle classi quarte e quinte dell'Istituto Alberghiero di Stato di Salsomaggiore Terme (PR). Indirizzo: Gestione dei Servizi Ristorativi.

Anno Scolastico 2011/2012

Il progetto è stato realizzato con l'ausilio e la collaborazione del Giardino Botanico "Gavinell" di Salsomaggiore Terme loc. Gaviana (Contignaco) 43039 Salsomaggiore Terme (Pr)

Le lezioni frontali e laboratoriali sono state tenute dal Prof. G.M. Bontempo.

RISULTATI A LUNGO TERMINE SULL'EFFICACIA DELL'ACIDO ALFA LIPOICO NELLA CURA E NELLA PREVENZIONE DELLE NEUROPATIE SACRALI

Silvia Malaguti^{1,2}, Laura Campanelli², Jacques Lamarche²

¹Neurourologia Ospedale Niguarda Milano

²Centro Medico di Neurofisiologia e Biomeccanica per le Patologie Pelviche e Perienali Milano

Il dolore pelvico cronico è spesso sostenuto da una neuropatia sacrale¹: in questi casi di dolore neuropatico la terapia comunemente instaurata prevede l'uso di farmaci antinevralgici ad azione antiepilettica² (gabapentin, pregabalin...) efficaci, ma con effetti collaterali sul sistema nervoso centrale. In letteratura è ampiamente riportata l'efficacia sul dolore neuropatico ed il ruolo sulla reinnervazione periferica promosso dall'acido alfa-lipoico e da complessi multivitaminici³.

L'obiettivo del nostro studio è stato quello di comparare l'efficacia della terapia farmacologica e delle sostanze nutraceutiche sui sintomi e di verificarne l'azione sui nervi sacrali attraverso le misure neurofisiologiche.

Una serie consecutiva di 120 pazienti (68 uomini e 52 donne) di età compresa tra i 22 e i 74 anni, tutti con diagnosi di neuropatia sacrale di diversa eziologia (iatrogena nel 49%, post-traumatica nel 35%, biomeccanica-posturale nel 16% dei casi) è stata suddivisa in 2 gruppi:

I pazienti del gruppo A hanno assunto pregabalin (75 mg 1 cp x 2/di) e Dianural® (acido alfa-lipoico 600 mg + complesso multivitaminico 1 cp/day) per 90 giorni, poi per 90 giorni Dianural®.

I pazienti del gruppo B hanno assunto pregabalin (75 mg 1 cp x 2/di) per 180 giorni.

All'inizio dello studio (T0) dopo 3 mesi (T1) e dopo 6 mesi (T2) ogni paziente ha compilato il questionario sul dolore (McGill Pain Questionnaire⁴) la scala analogica sul dolore (VAS), il diario vescicale, intestinale le scale di Wexner⁵, i questionari sulla sessualità (maschile IIEF-5, o femminile FSFI^{6,7}).

Ai tempi T0 e T2 ogni paziente è stato sottoposto ad uno studio neurofisiologico pelvi-perineale (EDX)⁸ costituito da: Potenziali Evocati Somato-Sensoriali (SEP), la latenza terminale dei nervi Pudendo (PNTML), i riflessi sacrali (RBC; RA), Elettromiografia della muscolatura perineale (CNEMG) e la risposta simpatico-cutanea (SSR).

I risultati hanno mostrato una riduzione del dolore (VAS T0= 8, T1=3, T2= 1 p<0.01) ed un incremento delle funzioni pelviche in entrambi i gruppi. Al tempo T2 i test neurofisiologici sono migliorati in entrambi i gruppi (SEP, PNTML p<0.01).

Al tempo T2 il miglioramento osservato nei risultati clinici e neurofisiologici (EDX) del gruppo A sono stati significativamente più elevati rispetto al gruppo B (p<0.05).

In conclusione possiamo affermare che l'associazione di Pregabalin e Dianural® si è dimostrata efficace nel ridurre il dolore e nel promuovere la reinnervazione periferica.

La somministrazione del solo Dianural® ha mantenuto l'effetto terapeutico: questo è un elemento estremamente favorevole per una terapia del dolore neuropatico a lungo termine senza effetti collaterali e promettente come terapia preventiva nei casi di neuropatia sacrale^{9,10}.

Bibliografia

1. Delavierre D et al. *Prog Urol*. **2010** 20(12), 853-864.
2. Attal N et al. *Eur J Neurol*. **2010** 17(9), 1113-e88.
3. Mijnhout GS et al. *Int J Endocrinol*. **2012**, ID 456279.
4. Maiani G e Sanavio E. *Pain*, **1985**, 22, 399-405.
5. Agachan F et al. *Dis Colon Rectum*, **1996**, 39(6), 681-685.
6. Rosen RC et al. *Int J Impot Res* **1999**, 11, 319-326.
7. Rosen RC et al. *Journal of Sex & Marital Therapy*, **2000**, 26, 191-208.
8. Mauguière F. et al. Recommendations for the Practice of Clinical Neurophysiology Guidelines of the International Federation of Clinical Neurophysiology; Deuschl G. and Eisen A. (eds) *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **1999**, Suppl.52; 79-90.
9. Malaguti S. et al. *Clin Neurophysiol*. **2011**, June S1P4.19
10. Malaguti S. et al. *Clin Neurophysiol* **2011**, June S1P 5.21

SINERGIA DI AZIONE DEI TRATTAMENTI MANUALI E DELLE SOSTANZE NUTRACEUTICHE: EFFICACIA E RAPIDITÀ DI AZIONE NELLA TERAPIA DEL DOLORE PELVI-PERINEALE

Jacques Lamarche¹, Laura Campanelli¹, Daniela Sorrentino¹, Alessandro Caminiti¹, Federico Rampazzo¹, Silvia Malaquiti^{1,2}

¹ Centro Medico di Neurofisiologia e Biomeccanica per le Patologie Pelviche e Perineali Milano.

² Neurourologia Ospedale Niguarda Milano.

Nell'ambito delle terapie utilizzate per il controllo del dolore, per la limitazione dei movimenti e per le alterazioni biomeccaniche posturali, il ricorso alla terapia manuale trova spesso un'efficacia immediata attraverso tecniche di normalizzazione osteo-articolare, manipolazione miofasciale e viscerale.

La rieducazione e la riabilitazione neuro-muscolare successiva porta a consolidare il percorso terapeutico.

Nell'eziologia del dolore pelvi-perineale cronico la neuropatia sacrale e del pudendo riveste un ruolo centrale condizionando l'intero processo terapeutico e riabilitativo.

Nei casi in cui le alterazioni biomeccaniche posturali siano alla base della neuropatia sacrale e/o del pudendo, si impone un iter terapeutico che per primo riporti ad una biomeccanica bilanciata per favorire il recupero della funzione nervosa ed il controllo del sintomo.

Dal 2008 al 2011, abbiamo trattato 385 pazienti consecutivi (65% donne, tra i 18 e gli 89 anni) con dolore pelvico cronico di eziologia post-traumatica (290 pz), congenita – malformativa (72 pz), post-chirurgica (141 pz), da postura lavorativa o sportiva usurante (95 pz)

Le valutazioni cliniche biomeccaniche posturali davano alterazioni nel 95% e la diagnostica neurofisiologica nel 89% dei casi era indicativa di neuropatia sacrale e/o del pudendo.

La terapia manuale e la contemporanea assunzione di Dianural® (acido alfa-lipoico 600 mg + complesso multivitaminico 1 cp/di) ha portato alla riduzione del sintomo doloroso nel primo mese di terapia nel 89% dei casi, con scomparsa del sintomo al terzo mese di terapia nel 95% dei casi.

La combinazione della terapia manuale e dell'utilizzo di sostanze nutraceutiche si è dimostrata efficace nel controllare il sintomo in tempi brevi ed elemento fondamentale del processo di recupero a distanza, perché agendo sul comune obiettivo di permettere il recupero della funzione nervosa, attraverso un effetto di neuro plasticità ha permesso di consolidare il processo cambiamento funzionale.

EFFECT OF CHOLACTIV™ SUPPLEMENTATION IN SUBJECTS WITH MODERATE CARDIOVASCULAR RISK

Maria Benedetta Donati¹, Franco Zito¹, Livia Rago¹, Francesco Gianfagna¹, Amalia De Curtis¹, Rita Savarè², Enzo Grossi², Giovanni de Gaetano¹, Licia Iacoviello¹

1 Research Laboratories, Fondazione di Ricerca e Cura "Giovanni Paolo II", Università Cattolica, Campobasso

2 Medical Department, Bracco SpA

Background. Altered lipid levels and lipoprotein oxidation greatly contribute to atherogenesis and cardiovascular risk. Cholactiv™ is a natural supplement containing lycopene, policosanols from rice, polyphenols under the form of Leucoselect-R Phytosome-R and evening primrose oil. Although there are several studies that evaluated the ability of the individual components of Cholactiv™ to reduce blood lipid levels, there are no reports on the effect of their combination.

Aim. The aim of this study was therefore to explore the feasibility and test the efficacy of its administration to human volunteers in order to evaluate whether Cholactiv™ supplementation improves lipid profile and reduces cardiovascular risk in subjects at moderate global risk of cardiovascular disease. The latter, indeed, do not have presently any indication for treatment with statins.

Methods. The study was designed as a placebo-controlled, randomized, double-blind trial with 2 parallel arms, Cholactiv™ and placebo. After screening 335 volunteers, 224 male and female volunteers, aged 35 to 69 years, with a global cardiovascular risk between 5 and 19 % were included into the study. Finally, a total of 188 subjects successfully concluded the study: 91 under Cholactiv™ and 97 under Placebo. After a run-in phase of 1 week, participants were randomized to receive dietary advice plus either Cholactiv™ or placebo for 6 months in a double-blind manner. One capsule of Cholactiv™ or placebo, was taken twice daily, unchewed, during the main meals. The intervention lasted 24 weeks (6 months). Clinical visit, blood drawing, urine collection and clinical tests were performed, after an overnight fasting, at screening visit -1, 0, 1 and 2 (before and after a post-prandial oxidative stress) (day -7, 0, 3 and 6 months after supplementation, respectively). A 3-day food diary was filled by each participant before visit 0, 1 and 2. After recruitment selection, at visit 0, 1 and 2, each participant was subjected to blood drawing and urine collection for biochemical analyses, measurement of systolic and diastolic blood pressure, pulse rate, height and weight for BMI calculation and waist and hip circumferences, evaluation of endothelial function, administration of questionnaires for cardiovascular risk factors and dietary habits and calculation of global cardiovascular risk.

Results and conclusions. Cholactiv™ was effective in reducing both total and LDL cholesterol. The effect was time-dependent, being already present after three months of treatment and further increasing after 6 months. Cholactiv™ also significantly reduced triglyceride levels after 6 month treatment. The final change was around -8% for cholesterol, -5% for LDL and -18% for triglycerides: the net change on triglyceride and LDL was comparable with that reported after omega 3 supplementation (1). Cholactiv™ however also decreased total cholesterol levels, while omega 3 fatty acids did not. Although not significant, there was a trend towards a decrease of the global cardiovascular risk, that could have been possibly more evident with a longer treatment period. A significant decrease over time was observed in body weight, BMI and waist circumference both in placebo and Cholactiv™ group. Hip circumference decreased only in the Cholactiv™ group. The administration of Cholactiv™ for 6 months was safe, well tolerated and did not induce any relevant side effect. It is reasonable therefore to suggest that Cholactiv™, in addition to dietary advice, might produce clinically relevant benefits in the primary prevention of cardiovascular disease.

References

1. Bulck EM et al. *Atherosclerosis* **2006**, 189, 19-30.

PROFILO FITOCHIMICO E VALENZA NUTRACEUTICA DI VARIETÀ' DI FRUMENTO ANTICHE E MODERNE

Emanuela Leoncini¹, Cecilia Prata¹, Marco Malaguti¹, Ilaria Marotti², Antonio Segura-Carretero³, Pietro Catizone², Giovanni Dinelli², Silvana Hrelia¹

¹ Dipartimento di Biochimica "G. Moruzzi", Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, via Imerio, 48, 40126 Bologna, Italia

² Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali (DiSTA), Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, viale Fanin, 44, 40127 Bologna, Italia

³ Dipartimento di Chimica Analitica, Università di Granada, c/Fuentenueva s/n, 18003 Granada, Spagna

Numerose ricerche confermano l'appartenenza dei cereali alla categoria di alimenti che, nel contesto di una dieta equilibrata, possono avere un'azione protettiva sulla salute dell'uomo e fornire quindi un importante contributo nel determinare una dieta salutare. Le linee guida nazionali pongono infatti i cereali integrali ed i prodotti derivati alla base della piramide alimentare¹. In accordo a dati epidemiologici che dimostrano che la dieta svolge un ruolo cruciale nella prevenzione di malattie croniche con riconosciuta componente ossidativa, quali malattie cardiovascolari, cancro, diabete e neurodegenerazione, vi è un crescente interesse nell'individuazione di nuove strategie dietetiche finalizzate alla prevenzione / neutralizzazione del danno ossidativo e la ricerca è sempre più focalizzata sul potenziale ruolo citoprotettivo di antiossidanti esogeni^{2,3,4}. La maggior parte della letteratura sulle sostanze fenoliche vegetali si concentra principalmente su quelle presenti in frutta e verdura, vino e tè. Tuttavia, molti dei composti fenolici di frutta e verdura (ad esempio acidi fenolici e flavonoidi) sono presenti anche nei cereali⁵. L'obiettivo principale di questo lavoro è stato quello di dimostrare come alcune varietà di frumento, possiedano, in ragione di un peculiare profilo fitochimico, un migliore effetto antiossidante e citoprotettivo su cellule normali e un maggior effetto antiossidante e antiproliferativo su cellule tumorali. A questo scopo sono stati utilizzati due differenti modelli cellulari: culture primarie di cardiomiociti neonatali di ratto ed una linea cellulare leucemica HL60. Diversi approcci sperimentali sono comunemente utilizzati per la valutazione del valore nutraceutico di alimenti e ingredienti. L'uso di sistemi cellulari in vitro rappresenta un potente strumento informativo per la definizione della capacità antiossidante e relativi effetti citoprotettivi⁶. Sono state quindi valutate le proprietà nutraceutiche di estratti polifenolici di sfarinati di diverse varietà di frumento tenero: cinque varietà antiche (Andriolo, Frassineto, Gentil Rosso, Inallettibile, Verna) e una varietà moderna (Palesio). La caratterizzazione della composizione quantitativa in polifenoli totali e flavonoidi totali degli estratti ha rivelato una maggiore concentrazione di fitocomponenti antiossidanti nelle varietà antiche rispetto alla varietà moderna che, in accordo con questo dato, ha mostrato una capacità antiossidante significativamente inferiore in un sistema privo di cellule. La valutazione dell'effetto antiossidante degli estratti, ha permesso di evidenziare le differenze nelle proprietà citoprotettive/antiproliferative esistenti tra le diverse cultivar.

I risultati riportati in questo lavoro evidenziano quindi potenziali effetti nutraceutici del frumento che possono essere trasferiti dall'ingrediente ad un prodotto finito. L'utilizzo di varietà antiche di frumento consentirebbe di ottenere nuovi prodotti commerciali capaci di differenziarsi per il particolare valore aggiunto legato alle caratteristiche nutrizionali intrinseche in grado di conferire al prodotto proprietà salutistiche.

Lavoro svolto grazie al contributo del Ministero delle Attività Economiche e Produttive (Made in Italy-Over 50) e della Fondazione del Monte di Bologna e Ravenna.

Bibliografia

1. Bach-Faig, A. et al. *Public Health Nutr* **2011**, 14, 2274-2284.
2. Leifert, W.R. and Abeywardena, M.Y. *Nutr Res* **2008**, 28, 729-737.
3. Ramassamy, C. *Eur J Pharmacol* **2006**, 545, 51-64.
4. Scalbert, A. et al. *Crit Rev Food Sci Nutr* **2005**, 45, 287-306.
5. Dinelli, G. et al. *J Chromatogr A* **2011**, 1218, 7670-7681.
6. Angeloni, C. et al. *J Agric Food Chem* **2009**, 57, 5615-5622.

EFFETTO PROTETTIVO DEL SULFORAFANE NEI CONFRONTI DELLO STRESS CARBONILICO INDOTTO DA METILGLIOSSALE

Daniele Fabbri, Cristina Angeloni, Silvana Hrelia

Dipartimento di Biochimica "G. Moruzzi" – Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Via Irnerio 48, 40126 Bologna

Negli ultimi anni è notevolmente aumentata l'incidenza di patologie cronic-degenerative quali Parkinson, Alzheimer, patologie cardiovascolari e cancro. Per queste patologie, così come per l'invecchiamento, è stato evidenziato il ruolo di primaria importanza svolto dallo stress ossidativo. Più recentemente, alcuni studi hanno evidenziato anche il ruolo svolto dallo stress carbonilico, definito alla stregua di quello ossidativo come una condizione di squilibrio tra specie pro-glicanti e difese enzimatiche anti-glicanti, a favore degli agenti pro-glicanti. Le principali specie reattive dicarboniliche presenti nei sistemi fisiologici e responsabili della glicazione sono metilgliossale (MG), gliossale e 3-desossigliucosone. Questi composti causano modificazioni irreversibili alle macromolecole biologiche che conducono alla formazione e all'accumulo di advanced glycation end-products (AGE) quali prodotti terminali della glicazione non-enzimatica nei sistemi fisiologici¹. Una strategia chiave per difendere l'organismo dai danni indotti da MG consiste nel potenziare le difese endogene nei confronti della glicazione. Il sistema delle gliossalasi formato dagli enzimi gliossalasi (GLO) 1 e 2 rappresenta la difesa enzimatica primaria nei confronti della glicazione indotta da MG. Recentemente è stato dimostrato che l'espressione di GLO1 è regolata dal fattore di trascrizione "nuclear factor E2-related factor 2" (Nrf2)².

Il sulforafane (SF) è un composto naturale che si forma per idrolisi dai glucosinolati, un gruppo di fitocomponenti presenti nelle piante appartenenti alla famiglia delle Brassicaceae. SF, negli ultimi anni, è stato principalmente studiato per le sue proprietà chemiopreventive e per la sua capacità di indurre gli enzimi di fase II attraverso la modulazione del fattore di trascrizione Nrf2³.

Scopo di questo studio è stato valutare il potenziale effetto cardioprotettivo di SF nei confronti della glicazione non enzimatica indotta da MG in colture primarie di cardiomiociti di ratti neonati.

L'effetto protettivo di SF nei confronti della glicazione è stato valutato tramite il test di vitalità del MTT e il dosaggio dell'attività e dell'espressione proteica dell'enzima pro-apoptotico caspasi-3 attraverso un saggio spettrofluorimetrico e un'analisi immunoblotting, rispettivamente. La capacità di ridurre la formazione endogena delle ROS è stata valutata con il test della diclorofluoresceina diacetato. L'attività dell'enzima GLO1 è stata valutata con un saggio spettrofotometrico mentre la sua espressione tramite analisi immunoblotting.

Dai dati è emerso che l'esposizione dei cardiomiociti a MG 1 mM riduce la vitalità cellulare, induce morte apoptotica e incrementa la produzione delle ROS. Il pre-trattamento con sulforafane 5 μ M incrementa in maniera significativa la vitalità cellulare, riduce la morte apoptotica e la produzione delle ROS di cardiomiociti esposti da MG. Inoltre, SF è in grado di incrementare l'espressione proteica e l'attività dell'enzima gliossalasi 1. Quest'ultimo dato rappresenta un risultato estremamente innovativo in quanto, per la prima volta, viene dimostrata la possibilità di indurre la GLO1 attraverso la supplementazione di SF, composto naturale a valenza nutraceutica, rappresentando un approccio integrato ed efficace per la protezione dallo stress glicativo a livello cardiaco. Tali risultati aprono la strada a nuovi ed importantissimi studi in quanto la glicazione è coinvolta non solo nella patologia cardiovascolare indotta dal diabete, ma anche in numerose patologie cronic-degenerative e nell'invecchiamento, per cui la assunzione del nutraceutico SF potrebbe rappresentare, in tal senso, un'efficace strategia preventiva.

Lavoro svolto grazie al contributo della Fondazione del Monte di Bologna e Ravenna e della Fondazione S. Paolo (Torino) a D.F.

Bibliografia

1. Thornalley, P. et al. *Biochem J* **1999**, 344, 109-116.
2. Xue, M. et al. *Biochem J*. **2012**, 443, 213-222.
3. Leoncini, E. et al. *J Food Sci.* **2011**, 76: H175-H181.

ACIDO LINOLEICO CONIUGATO COME TERAPIA NUTRIZIONALE PER LA CURA DI MALATTIE NEURODEGENERATIVE

Anna Petroni¹, Marco Cappa², P. Gonnelli¹, Stefania Carta³, Elena Murru³, Sebastiano Banni³

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, 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.

Le patologie neurodegenerative sono spesso associate ad alterazioni del metabolismo lipidico, steroideo e ad eventi infiammatori secondari che possono contribuire alla progressione della malattia. Ne è un esempio la X-Linked Adrenoleukodystrophy (X-ALD), una malattia del sistema nervoso caratterizzata dall'accumulo dei *very long chain fatty acids* (VLCFA), acidi grassi che l'organismo non riesce ad eliminare. L'olio di Lorenzo, unica terapia dietetica disponibile, è costituita da una miscela di acido erucico ed oleico, come trigliceridi (GTOE). I pazienti sottoposti a terapia con GTOE nell'arco di due mesi normalizzano i livelli plasmatici di VLCFA, tuttavia il metabolismo di GTOE nel cervello è ridotto ed i potenziali somatosensoriali evocati misurati nei pazienti (SEP) non migliorano¹. Abbiamo ipotizzato di aggiungere alla terapia l'acido linoleico coniugato (CLA), composto costituito da numerosi isomeri con distinte attività biologiche tra le quali un'attività antiinfiammatoria.

In un recente studio clinico da noi condotto, il CLA è stato aggiunto al GTOE, la miscela è stata somministrata a 5 pazienti donne portatrici di X-ALD, con sintomatologia lieve o assente. Dopo un trattamento di 2 mesi il CLA veniva dosato nel liquor, dimostrandone il passaggio attraverso la barriera emato-encefalica, i livelli plasmatici di VLCFA nelle pazienti risultavano ridotti ed altri parametri clinici, quali i SEP miglioravano².

Abbiamo quindi somministrato questa terapia a pazienti maschi affetti da X-ALD con sintomatologie differenziate. I pazienti rispondevano in maniera positiva al trattamento, simile alle pazienti donne, con una diminuzione significativa dei livelli plasmatici di VLCFA.

I nostri risultati ci hanno permesso di proporre una strategia terapeutica più efficace per la X-ALD e per altre patologie neurodegenerative caratterizzate da una componente infiammatoria secondaria.

Sponsor: Associazione Biomedicina e Nutrizione, Italy www.biomedicinanutrizione.org

Bibliografia

1. Restuccia, D. et al. *Neurology*, **1999**, 4, 810-816.
2. Cappa, M. et al., *JIMD*, **2012**, in press.

ESPRESSIONE DI ENZIMI ANTIOSSIDANTI IN CELLULE PROGENITRICI ENDOTELIALI TRATTATE CON LISATI DI GRANO E DI FAGIOLO ED ESPOSTE A STRESS OSSIDATIVO

Daniela Lucchesi¹, Rossella Russo², Giuseppe Penno¹, Vincenzo Longo², Stefano Del Prato¹, Laura Pucci²

1. Dipartimento di Endocrinologia e Metabolismo, Azienda Ospedaliera-Universitaria di Pisa

2. Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria U.O.S. Pisa, CNR

La ricerca scientifica biomedica, nel settore della nutrizione e dell'alimentazione, si interessa fortemente a definire i composti più attivi della dieta ed a comprenderne i meccanismi d'azione a livello molecolare e cellulare. E' stato attribuito un ruolo positivo ad estratti di sostanze naturali in termini di aumento delle difese endogene antiossidanti, grazie alla regolazione dell'espressione di geni codificanti per enzimi chiave del sistema antiossidante.

Il Lisosan G, un lisato di grano, registrato presso il Ministero della Salute come integratore alimentare, nasce da una particolare lavorazione di cruschetto e germe di grano biologico. Tra le principali componenti del lisato c'è una consistente presenza di antiossidanti quali vitamina B, tocoferoli ed oligoelementi; Lisosan G ha mostrato un'azione protettiva nella tossicità indotta da un agente chemioterapico quale il cisplatino¹.

I fagioli, alimenti ad elevato contenuto di fibre e di proteine, rappresentano una ricca fonte di antiossidanti e possono fornire benefici alla salute simili a quelli della frutta quale uva, mele e mirtilli, come recentemente dimostrato². I fagioli presentano alte dosi di flavonoidi, in particolare antociani responsabili dell'effetto benefico descritto.

Asahara et coll. hanno dimostrato un subset di cellule circolanti in grado di differenziarsi in cellule endoteliali mature, attive nella vasculogenesi³ e denominate cellule progenitrici endoteliali (EPCs). Sono state descritti due tipi di EPCs: precoci (early EPCs) e tardive (late EPCs)⁴. Le EPCs precoci compaiono in 4-7 giorni di coltura e esprimono markers endoteliali e monocitari e rilasciano fattori di crescita angiogenica⁵.

Scopo di questo lavoro è stato valutare l'effetto protettivo di Lisosan G e di lisato di un fagiolo privo di fitoemoagglutinina ed arricchito in faseolamina, inibitore dell' α -amilasi (denominato Lady Joy), su EPCs precoci, esposte a stress ossidativo indotto da H₂O₂. Le EPCs sono state isolate da cellule mononucleari di sangue periferico (PBMCs). Brevemente, le PBMCs, isolate da sangue eparinato, sono state piastrate su fibronectina. Dopo 3 giorni di coltura le cellule non aderenti sono state rimosse; le cellule aderenti, al giorno 5 sono state incubate con i rispettivi lisati, quindi esposte ad H₂O₂.

Nelle cellule condizionate con i lisati (Lisosan G e Lady Joy) abbiamo valutato i livelli di vitalità, mediante saggio MTT, e l'espressione genica di superossido dismutasi (SOD2), catalasi (CAT) e glutatione perossidasi (GPx), mediante real-time PCR. In presenza di stress ossidativo la vitalità è risultata maggiore in cellule condizionate con gli estratti Lady Joy e Lisosan G.

I risultati preliminari del nostro lavoro rilevano una maggior espressione di GPx e CAT in EPCs pretrattate con Lisosan G, e successivamente esposte a H₂O₂, rispetto alle cellule pretrattate con il lisato di fagiolo. Quest'ultime mostrano un'induzione di enzimi antiossidanti rispetto alle colture di controllo, sebbene la differenza non risulti statisticamente significativa.

Bibliografia

1. Longo, V. et al. *Food Chem Toxicol* **2011**, 49(1), 233-237.
2. Oomah, BD. et al. *J Agric Food Chem* **2010**, 58(14), 8225-8233.
3. Asahara, T. et al. *Science* **1997**, 275(5302), 964-967.
4. Lin, Y. et al. *J Clin Invest* **2000**, 105, 71-77.
5. Rehman, J. et al. *Circulation*. **2003**, 107(8), 1164-1169.

IL LATTE DI ASINA: UN ALIMENTO NUTRACEUTICO NON SOLO PER L'INFANZIA

Cristina Panetta¹, Vittorio Lo Presti¹, Francesco Fantuz², Elisabetta Salimei³, Biagina Chiofalo¹

¹ Dip. Morfologia, Biochimica, Fisiologia e Produzioni animali, Università degli Studi di Messina, Messina

² Dip. Scienze Ambientali, Università degli Studi di Camerino, Camerino (MC)

³ Dip. Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Campobasso

Lo studio degli alimenti nutraceutici e funzionali come arma di prevenzione delle più comuni patologie, che ancora oggi interessano i Paesi occidentali, ha portato all'ingresso sul mercato di una quantità sempre maggiore e variegata di alimenti arricchiti da molecole benefiche. Tuttavia manca allo stato attuale una guida per aiutare il consumatore ad orientare le sue scelte¹.

In tale contesto, questo studio vuole porre l'attenzione sul latte, alimento di origine animale di rilevante importanza nella dieta non solo dell'infanzia ma anche dell'età adulta e matura. Durante la fase della prima infanzia nell'uomo, in particolare, il latte ha la prerogativa di essere alimento essenziale in quanto il lattante non ha alcuna diversa possibilità di alimentarsi.

A tal proposito, nei casi di assenza di latte materno e/o allorquando gli infanti presentano forme di allergie alimentari alle proteine del latte vaccino (APLV), il trattamento alimentare prevede la somministrazione di formulati ipoallergenici, derivati dal latte bovino o dalla soia, che, dal punto di vista compositivo, presentano alcuni valori simili a quelli del latte di donna. Infatti le differenze qualitative esistenti in origine tra le caratteristiche del latte umano e di quello vaccino vengono eliminate nella produzione industriale di lattini per l'infanzia attraverso, per esempio, un sostanziale rimaneggiamento della quota lipidica mediante l'utilizzo di oli vegetali.

Tuttavia, le miscele di oli vegetali utilizzate nelle formule non consentono di replicare da un punto di vista qualitativo il contenuto lipidico del latte materno, soprattutto perché carenti in acidi grassi polinsaturi a lunga catena.

A tal proposito, da più di un decennio, la scienza medica in generale e il settore della pediatria in particolare hanno rivolto l'attenzione verso la possibilità di utilizzare il latte di asina nell'alimentazione degli infanti. Ciò ha portato ad un aumento delle sperimentazioni mirate a valutare la qualità nutrizionale di questo latte caratterizzato dalla presenza di fattori di natura proteica e lipidica molto simili a quelli ritrovati nel latte umano e da una digeribilità altissima grazie anche alla frazione dei triacilgliceroli che, nella tipologia e distribuzione stereospecifica degli acidi grassi, presentano l'acido palmitico esterificato in posizione 2 della molecola del glicerolo, come osservato nel latte di donna, invece che l'acido oleico come nel latte di vacca².

Inoltre, il latte d'asina, il cui utilizzo alimentare e la cui commercializzazione sono regolamentati a livello comunitario (Regg.CE 852 e 853/2004) viene apprezzato per le caratteristiche di naturalità, genuinità e novità legate alla filiera produttiva "corta"³.

Al fine di evidenziare differenze e somiglianze nel profilo degli acidi grassi, sono stati analizzati campioni di latte di donna, di latte in polvere per lattanti (età: 0-6 mesi) e di proseguimento (età: > 6 mesi), di latte di vacca e di latte di asina.

Sugli esteri metilici degli acidi grassi⁴ di ciascun campione di latte è stata determinata la composizione acidica mediante GC-FID/MS. L'identificazione di tutti i componenti è stata effettuata attraverso il confronto con miscele standard e i risultati espressi in g sul totale degli esteri metilici degli acidi grassi identificati (100 g). Sono stati calcolati gli indici Aterogenico (IA) e Trombogenico (IT) secondo le equazioni proposte da Ulbricht e Southgate⁵.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza⁶ con un modello monofattoriale che ha preso in considerazione la variabile tipologia di latte. I risultati confermano il basso tenore in acidi grassi saturi del latte di asina rispetto al latte bovino ($49,03 \pm 1,71$ vs $72,73 \pm 2,10$ g/100g) che, unitamente ad un elevato tenore in acidi grassi polinsaturi ($21,88 \pm 0,43$ vs $4,09 \pm 0,53$ g/100g) ed ai bassi IA ($1,07 \pm 0,23$ vs $3,39 \pm 0,29$) e IT ($0,64 \pm 0,20$ vs $3,14 \pm 0,25$), rendono il latte di asina un alimento di grande interesse nella prevenzione delle malattie cardiovascolari, autoimmuni e infiammatorie.

Da sottolineare l'alto tenore in acidi grassi polinsaturi della serie n3 ($8,77 \pm 0,21$ vs $1,67 \pm 0,26$ g/100 g), costituenti caratteristici degli oli di pesce, che attraverso la sintesi di mediatori lipidici, gli eicosanoidi, tutti dotati di attività antiinfiammatoria, antiaggregante e non immunosoppressoria,

svolgono un certo ruolo sull'esito dei trapianti, su alcune forme di neoplasie, sullo sviluppo fisico e neuropsichico⁷. In conclusione, appare evidente che il latte di asina, per le sue peculiarità composizionali ed organolettiche e per l'elevata digeribilità, può rappresentare un alimento alternativo nella dieta non solo nell'infanzia ma anche un valido nutraceutico in età geriatrica⁷.

Bibliografia

1. Borghi, C., Cicero, A. *Nutraceutici e alimenti funzionali in medicina preventiva*. **2011**, 6, Bononia University Press.
2. Chiofalo, B., et al. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, **2011**, 33, 633-644.
3. Salimei, E. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, **2011**. 2nd ed., 1, 365-373, Elsevier.
4. Christie, WW. *Advances in Lipid Methodology*. **1993**, The Oily Press Ltd.
5. Ulbricht T.L.V., Southgate D.A.T. *The Lancet*. **1991**, 338, 985-992.
6. SAS User's Guide: Statistics. **2001**, Version 8.2.
7. Chiofalo, B. *AgroFOOD industry hi-tech*, **2011**, 22, 18-20.

DETERMINAZIONE DI COMPOSTI NUTRACEUTICI IN SPEZIE AMARE E PICCANTI MEDIANTE ELETTROFORESI CAPILLARE

Roberto Mandrioli¹, Emanuele Morganti¹, Francesca Bugamelli¹, Anna Arnoldi², Maria Augusta Raggi¹

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

2. Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Milano, via Balzaretti 9, 20133 Milano, Italia.

Da recenti ricerche, sembra che le sostanze chimiche contenute in alcune spezie, responsabili del gusto amaro e della sensazione di piccante, siano caratterizzate da proprietà nutraceutiche di notevole interesse¹.

Ad esempio, i composti fenolici presenti nelle spezie (come le catechine, derivati poliossidrilati del flavan-3-olo, Figura 1) sono strettamente associati alla loro attività antiossidante, e sembrano svolgere un ruolo importante nello stabilizzare i lipidi contro la perossidazione e nell'inibizione di alcuni enzimi pro-ossidanti.

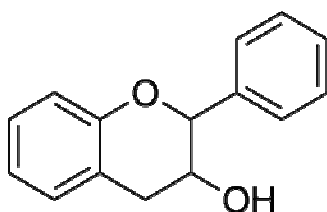


Figura 1 – Struttura del flavan-3-olo.

Altre molecole responsabili del gusto amaro, come le cumarine, sono in grado di ridurre lo stress ossidativo cellulare, mentre la piperina può avere un effetto favorevole sul controllo dell'appetito e della sazietà, sulla spesa energetica e sull'ossidazione dei lipidi.

Per questo motivo, si stanno studiando spezie amare e piccanti come pepe e noce moscata, largamente utilizzate nella cucina tradizionale mediterranea, ma anche spezie di largo consumo nella cucina di altre zone geografiche: ad esempio il pimento, che è diffuso soprattutto nell'area centro-americana.

A tal fine si sta mettendo a punto un metodo originale, basato sull'elettroforesi capillare, utilizzando un detector a serie di fotodiodi (DAD) per la determinazione di catechine, cumarine ed altre sostanze amare e piccanti in queste spezie.

L'estrazione dei principi attivi dai campioni viene effettuata mediante estrazione con solvente o distillazione, la soluzione così ottenuta può essere semplicemente diluita ed iniettata nel sistema.

I risultati preliminari sembrano essere promettenti in termini di selettività e di purificazione del campione; sono attualmente in corso prove per la convalida del metodo e la sua applicazione a diverse tipologie di spezie, con differenti provenienze e caratteristiche organolettiche.

Bibliografia

1. Viuda-Martos, M. et al., *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2011**, 51(1), 13-28.

CAFFÈ E CAMOMILLA: “SOLO” BEVANDE? VALUTAZIONE E CONFRONTO DEL LORO POTERE ANTIOSSIDANTE

Maria Addolorata Saracino¹, Emanuele Morganti¹, Rinaldo Cervellati², Emanuela Greco², Maria Augusta Raggi¹

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

²Dipartimento di Chimica “G. Ciamician”, Università di Bologna, Via Selmi 2, 40126 Bologna, Italia.

Caffè e camomilla, insieme al tè, rappresentano alcune delle bevande più comuni e consumate in tutto il mondo. Aldilà delle loro proprietà dissetanti, molte altre attività benefiche per la salute dell'uomo sono ad esse riconosciute, non solo dalla tradizione popolare ma recentemente anche dalla comunità scientifica. Infatti, alcuni studi sono a favore degli effetti benefici del caffè e del suo principale composto attivo, la caffeina, poiché possono concorrere all'azione preventiva di alcune importanti patologie (diabete di tipo 2, morbo di Alzheimer e morbo di Parkinson). Altre sostanze presenti nel caffè, oltre la caffeina, come il cafestolo ed il kahweolo sarebbero responsabili di effetti epatoprotettivi, antiossidanti e chemiopreventivi, anche se il meccanismo preciso così come il coinvolgimento di queste molecole nell'azione benefica sono ancora tutti da chiarire¹. Il contenuto di tali sostanze nel caffè varia in base ai metodi di preparazione e in base alla qualità della materia prima.

Per quanto riguarda la camomilla (*Matricaria recutita*) la proprietà più nota da sempre è quella calmante; considerare la camomilla solo un sedativo naturale è però riduttivo in quanto studi recenti hanno dimostrato numerose proprietà benefiche sull'organismo. Grazie al camazulene (sostanza da cui derivano l'odore caratteristico e il sapore amarognolo) e al bisabololo, la camomilla ha azione antinfiammatoria, mentre le apigenine sono responsabili dell'attività antispasmodica. Oltre ad alleviare i disturbi gastrointestinali, i capolini hanno azione sedativa sul sistema nervoso centrale, cicatrizzante, antimicotica e antimicrobica. Inoltre i ricercatori ritengono che la camomilla possa agire anche come antiossidante, ma gli studi clinici sull'uomo sono ancora scarsi².

Per questo motivo nel Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica si sta valutando in vitro il potere antiossidante di vari estratti acquosi di caffè e camomilla. I test che verranno utilizzati per misurare il potere antiossidante sono diversi e individuati sulla base del meccanismo della reazioni coinvolte:

- test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) basato sul trasferimento di un atomo di idrogeno;
- test TEAC (Trolox Equivalence Antioxidant Capacity) basato sia sul trasferimento di un singolo elettrone sia di un atomo di idrogeno;
- test della reazione oscillante di Briggs-Rauscher (metodo BR), basato sugli effetti inibitori del regime oscillatorio provocati dall'aggiunta di antiossidanti sottrattori di radicali liberi per trasferimento di un atomo di idrogeno.

Per ciascuna metodica i risultati ottenuti del potere antiossidante saranno confrontati e valutati anche in base al tipo di estrazione effettuata e al tipo di cultivar utilizzato sia per il caffè che per la camomilla.

Bibliografia

1. Heckman, M.A. et al. *J. Food Sci.* **2010**, *75*, 77–87.
2. Srivastava, J.K. et al. *Mol. Med. Report* **2010**, *3*, 895-901.

PLEIOTROPIC PROTECTIVE EFFECTS OF PHYTOCHEMICALS IN ALZHEIMER'S DISEASE

Giovanni Scapagnini¹, Davide Zella², Sergio Davinelli^{1,2}

1 Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology Laboratory, Department of Medicine and HealthSciences, University of Molise, 86100 Campobasso, Italy

2 Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Human Virology, University of Maryland-School of Medicine, Baltimore MD 21201, USA

Alzheimer's disease (AD) is a severe chronic neurodegenerative disorder of the brain characterised by progressive impairment in memory and cognition. In the past years an intense research has aimed at dissecting the molecular events of AD. However, there is not an exhaustive knowledge about AD pathogenesis and a limited number of therapeutic options are available to treat this neurodegenerative disease¹. Consequently, considering the heterogeneity of AD, therapeutic agents acting on multiple levels of the pathology are needed. In recent years, there has been a growing interest, supported by a large number of experimental and epidemiological studies, for the beneficial effects of some phenolic substances, contained in commonly used spices and herbs, in preventing various age-related pathologic conditions, ranging from cancer to neurodegenerative diseases. Although the exact mechanisms by which polyphenols promote these effects remain to be elucidated, several reports have shown their ability to stimulate a general xenobiotic response in the target cells, activating multiple defense genes. Recent findings suggest that phytochemicals compounds with neuroprotective features may be an important resources in the discovery of drug candidates against AD. Specifically, curcumin, catechins, and resveratrol beyond their antioxidant activity are also involved in antiamyloidogenic and anti-inflammatory mechanisms. Data from our and other laboratories have previously demonstrated that curcumin, the yellow pigment of curry, strongly induces heme-oxygenase-1 (HO-1) expression and activity in different brain cells via the activation of heterodimers of NF-E2-related factors 2 (Nrf2)/antioxidant responsive element (ARE) pathway². Many studies clearly demonstrate that activation of Nrf2 target genes, and particularly HO-1, in astrocytes and neurons is strongly protective against inflammation, oxidative damage, and cell death. In the central nervous system, the HO system has been reported to be very active, and its modulation seems to play a crucial role in the pathogenesis of neurodegenerative disorders. Recent data from our group revealed that low concentrations of epigallocatechin-3-gallate, the major green tea catechin, induces HO-1 by ARE/Nrf2 pathway in hippocampal neurons, and by this induction, it is able to protect neurons against different models of oxidative damages³. Furthermore, we have demonstrated that other phenolics, such as caffeic acid phenethyl ester and ethylferulate, are also able to protect neurons via HO-1 induction. These studies identify a novel class of compounds that could be used for therapeutic purposes as preventive agents against cognitive decline.

References

1. Di Bona D et al. *Curr Pharm Des* **2010**, 16, 684-691.
2. Scapagnini G et al. *Mol Neurobiol* **2011**, 44, 192-201.
3. Romeo L et al. *J Am Coll Nutr* **2009**, 28, 492-499.
4. Davinelli S et al. *Oxid Med Cell Longev* **2012** Epub 2012.

LINEA OENOBIOI: BELLEZZA ATTRAVERSO LA NUTRIZIONE

Diana Scatozza

Medico Chirurgo, Specialista in Scienza dell'Alimentazione – indirizzo Dietologico-Dietoterapico – e in Farmacologia Clinica, Milano

La linea Oenobiol, *brand* di prodotti nutraceutici per la bellezza leader in Francia, nasce dalla ricerca dei Laboratori Oenobiol, fondati in Francia nel 1980 da Marie Béjot, medico nutrizionista e medico estetico. Dal 2011, la linea è entrata nel portfolio di Sanofi-Aventis, azienda farmaceutica nota per specialità medicinali di profilo terapeutico elevato.

La linea Oenobiol è costituita da prodotti che offrono soluzioni nutrizionali specifiche per la bellezza, formulati coniugando l'utilizzo di ingredienti di origine naturale con *standard* di produzione e di sviluppo altamente scientifici.

Gli ingredienti utilizzati sono sostanze bioattive, tra le quali gli Oligomeri Procianidolici (OPC)^{1,2} e l'Epigallocatechina-3-gallato (EGCG)^{3,4}, estratte dagli alimenti o da prodotti naturali, con definita e chiara attività farmacologica dimostrata negli studi *in vivo* sia nell'animale sia nell'uomo⁵.

L'attività e la sicurezza dei prodotti Oenobiol sono documentate da studi clinici condotti secondo gli *standard* metodologici più rigorosi e sovrapponibili a quelli utilizzati per lo sviluppo clinico di molecole farmaceutiche. Esempi sono il prodotto a base di OPC che, studiato in 108 donne con insufficienza venosa cronica degli arti inferiori in uno studio randomizzato e in doppio cieco verso placebo, ha determinato una riduzione statisticamente significativa della sensazione di pesantezza e della sua gravità, del dolore e dei crampi notturni¹, e il prodotto a base di EGCG che, in uno studio randomizzato e in doppio cieco condotto in 132 soggetti in sovrappeso o obesi, ha riscontrato con la DEXA una riduzione dell'area adiposa addominale totale e sottocutanea, associata al riscontro clinico di riduzione del peso corporeo e dei livelli sierici di trigliceridi³.

La linea Oenobiol propone prodotti specifici per l'invecchiamento cutaneo, per la microcircolazione linfatica ed ematica, per le rotondità, per la protezione solare della pelle e degli occhi, per la salute degli annessi cutanei, e per i problemi vascolari e metabolici del climaterio.

Bibliografia

1. Djian B, et al. *Angéiologie* **2006**, 58, no.3, 53-59
2. Masquellier J, et al. *Acta Therapeutica* **1981**, 101-105
3. Maki K, et al. *The Journal of Nutrition* **2009**, 139, 264-270
4. Rains TM, et al. *Journal of Nutritional Biochemistry* **2011**, 22,1-7
5. Van Poppel H, Tombal B. *Cancer Management and Research* **2011**,3, 91–100

INTEGRATORI NUTRACEUTICI NEL RINGIOVANIMENTO CUTANEO

Riccarda Serri

Specialista in Dermatologia
Presidente SKINECO
Associazione Internazionale di Dermatologia Ecologica
www.skineco.org

Il ringiovanimento cutaneo, espressione della più ampia ricerca perenne di bellezza, è un tema assolutamente attuale ai nostri giorni: purtroppo troppo spesso ci si dimentica che in tale perenne aspirazione è necessario rispettare però il ritmo fisiologico dell'organismo, essendo la bellezza espressione di benessere e proprio da questo non può prescindere. Alla luce di questa considerazione è chiaro che il miglior approccio per ottenere risultati evidenti e duraturi sia sostenere l'organismo dall'esterno con cure cosmetiche adeguate e rispettose della fisiologia cutanea ma anche dall'interno, con nutrienti in grado di ottimizzarne i processi metabolici cellulari.

Si sta giustamente sempre più consolidando il consiglio da parte dei dermatologi¹ di utilizzare nutrienti antiossidanti. Lo stress ossidativo infatti a livello cutaneo determina l'insorgenza di stati infiammatori (espressione COX-2, sintesi prostaglandina E2), l'ossidazione proteine e lipidi sulla superficie cutanea, con conseguente alterazione della barriera cutanea, stimola la funzione delle ghiandole sebacee, aumentando la produzione di sebo, altera la melanogenesi e altera la struttura cutanea a causa della degradazione collagenica, conseguente a stimolo MMP, e diminuita sintesi².

Da tali considerazione proviene l'utilizzo sensato di nutrienti come coenzima Q10, resveratrolo, astaxantina, proantocianidine da Pino marittimo che coniugano proprietà antiossidanti a proprietà antiinfiammatorie e anti-invecchiamento, volte a rallentare l'azione di collagenasi ed elastasi, enzimi in grado di alterare l'impalcatura del nostro derma. Ormai affermato l'utilizzo di acido ialuronico, volto a sostenere l'idratazione e la compattezza cutanea e l'utilizzo di olii di derivazione vegetale, ricchi in acidi grassi polinsaturi, che si sono dimostrati di sostegno alla funzionalità della barriera idrolipidica, oltre che trattamenti ausiliari in molteplici disordini cutanei come dermatite atopica, psoriasi, acne vulgaris, lupus eritematoso sistemico, melanoma³.

Ma ringiovanimento dell'organismo non vuol dire solo ringiovanimento della pelle quanto anche sostegno agli annessi cutanei come unghie e capelli: in tal senso troviamo come ottimi coadiuvanti al benessere nutrienti come MSM, zolfo organico di sostegno alla creazione dei punti disolfuro della cheratine, amminoacidi come prolina e lisina, vitamina C e minerali come silicio e zinco e rame, nutrienti che sostengono la sintesi del collagene e dell'elastina e perciò coadiuvanti nel sostenere l'architettura della pelle e la qualità di capelli e unghie.

In un'ottica ancora più ampia essendo, come detto all'inizio, la bellezza un'espressione evidente di benessere, validi consigli nutrizionali possono inoltre coadiuvare la corretta funzionalità dell'organismo e sostenerlo nelle varie condizioni fisiologiche che esso deve affrontare nel corso della vita: sostenere l'organismo quotidianamente significa rinforzarne il benessere e la bellezza ne trarrà indubbio giovamento. Un esempio su tutti è la menopausa, condizione fisiologica inevitabile nella vita di una donna, la quale può però beneficiare di nutrienti come fitoestrogeni da diverse fonti per riequilibrare l'assetto ormonale, magnesio ad azione miorelassante, griffonia simplicifolia di supporto al buonumore e vitamina D, sostegno al tessuto osseo ma non solo, date le sue numerose proprietà che stanno appassionando i ricercatori nel campo dell'insulino resistenza, della depressione, dell'infiammazione e dell'adipogenesi.

Sono questi solo degli esempi di come solamente un approccio integrato che abbia come punto focale il benessere dell'organismo nella sua totalità possa essere la via per la ricerca della bellezza e per il ringiovanimento a cui quotidianamente si tende.

Bibliografia

1. Dickinson, A. et al. *Nutr J.* **2011** Mar 3;10:20.
2. Masaki, H. et al. *J Dermatol Sci.* **2010** May;58(2):85-90.
3. McCusker, MM. et al. *Clin Dermatol.* **2010** Jul-Aug;28(4):440-51.

BEAUTY FOODS: LA NUOVA FRONTIERA DELL'INTEGRAZIONE ALIMENTARE

Francesco Bonina

Dipartimento di Scienze del Farmaco – Università di Catania; Viale A. Doria 6, 95125 Catania

Il considerevole incremento, registrato nell'ultimo decennio, nel settore degli integratori alimentari e dei functional foods ha indotto molti ricercatori ad esplorare le potenzialità salutistiche di sostanze contenute nelle piante e negli alimenti. Tutto ciò ha determinato la produzione di una copiosa letteratura scientifica che ha contribuito ad evidenziare e supportare gli interessanti effetti che possono derivare al consumatore da un determinato alimento o dall'assunzione di integratori alimentari. Stimolati da questo interessante e promettente contesto scientifico, il gruppo di ricerca da me coordinato ha condotto, negli ultimi anni, ricerche scientifiche finalizzate a valutare il potenziale salutistico di sostanze attive contenute in piante ed alimenti di derivazione mediterranea¹⁻⁴. Da una attenta lettura della recente letteratura, riguardante il settore dei prodotti salutistici, emerge un crescente interesse, sia da parte dell'industria che dei consumatori, per una nuova classe di prodotti denominati "beauty foods". Oltre il fantasioso nome, partorito dalla fantasia del marketing, occorre sottolineare che questi prodotti si collocano in una interessante nicchia di mercato costituita da integratori e functional foods in grado di apportare benefici estetici sia alla pelle che ai capelli. Diversi integratori alimentari, attualmente in commercio, rivendicano infatti la capacità di "stimolare" il processo melanogenetico (abbronzatura) e di determinare una colorazione uniforme della pelle, diminuendo ad esempio il rischio di discromie cutanee (macchie cutanee). Altri prodotti promettono effetti protettivi della pelle rallentando il processo di invecchiamento mediante l'inibizione di alcuni enzimi (metalloproteasi), responsabili della degradazione del collagene e di alcuni componenti presenti nel tessuto dermico.

Alla stessa categoria (beauty foods) appartengono gli integratori alimentari che rivendicano effetti benefici nel ritardare la caduta dei capelli e/o nel migliorare la loro consistenza o altre caratteristiche meccaniche di questi. Alcuni integratori possono contribuire ad incrementare le difese della pelle aumentando la concentrazione di antiossidanti in questo tessuto in modo da determinare una diminuzione degli effetti nocivi esercitati sulla pelle da eccessive e prolungate esposizioni al sole (photoaging). La letteratura prodotta sulla caratterizzazione e valutazione di questi prodotti, in verità non molto copiosa, riguarda prevalentemente gli effetti della loro somministrazione sia sulla risposta melanogenetica che sulla loro capacità di contrastare alcuni inestetismi della pelle (rughe, perdita di elasticità etc.) ma anche sul miglioramento della struttura del capello e sulla modulazione della caduta. Uno dei punti critici nella progettazione e nella valutazione dell'efficacia dei "beauty foods" è costituito dalla scelta dei protocolli sperimentali e dai test strumentali da utilizzare per dimostrare un determinato effetto benefico di questi prodotti sulla pelle o sui capelli. I lavori scientifici riportati in letteratura per la valutazione di efficacia di questi prodotti, spesso utilizzano metodologie sperimentali già ampiamente impiegate nella valutazione dell'efficacia di prodotti cosmetici. In questa relazione verranno riportati alcuni protocolli sperimentali e tecniche strumentali utilizzati dal nostro gruppo di ricerca per la valutazione di prodotti in grado di influenzare sia il processo melanogenetico (inibizione della pigmentazione, "tanning accelerators") che la capacità della pelle nel contrastare il danno cutaneo indotto dall'esposizione alle radiazioni ultraviolette. Sicuramente l'ottimizzazione di idonei modelli sperimentali potrà contribuire alla crescita di questo settore della nutraceutica.

Bibliografia

1. Cimino F et al. *BioFactors* **2007**, 30(2), 129-138.
2. Bonina F. et al. *Nat.Prod.Res* **2008**, 22, 1544-1551.
3. Bonina F et al. *Int. Immunopharmacology* **2008**, 8(13-14),1781-1786.
4. Bonina F. et al. *Phytother. Res.* **2010**, 24 (3), 414-418.

ALIMENTAZIONE E SPORT: UN CONNUBIO IMPRESCINDIBILE PER LA PRESTAZIONE

Marcello Faina, Antonio Gianfelici

Dipartimento di Scienza dello Sport – Ist. Medicina e Scienza dello Sport “A. Venerando” CONI, Roma

Il connubio imprescindibile alimentazione/prestazione è oramai evidenziato da diversi lavori scientifici¹ anche se discusse sono ancora le migliori strategie, sia nella personalizzazione della dieta, sia nella sua stretta correlazione con il carico d'allenamento, la fase della stagione agonistica, la tipologia di attività praticata. Difatti, di tutti gli aspetti che caratterizzano una prestazione sportiva, come quello psicologico, emozionale, tattico e tecnico, l'alimentazione contribuisce in maniera importante sia nella fase del lavoro stesso (si pensi ai substrati energetici per la prestazione) sia nella fase di recupero.

Volendo individuare uno dei fattori predisponenti un certo tipo di fatica (periferica), i substrati energetici giocano sicuramente un ruolo determinante e variabile sulla base del tipo di sforzo (a breve, media e lunga durata).

Ruolo cruciale è anche quello che l'alimentazione riveste nel miglioramento della fase recupero, dove non va considerata soltanto la tipologia di alimento ma anche la tempistica con cui intervenire; a tal proposito la Preparazione Olimpica del CONI, per mezzo del Dipartimento di Scienza dello Sport dell'Istituto di Medicina e Scienza dello Sport “A. Venerando” ha sviluppato un pamphlet ad uso delle diverse Federazioni Sportive Nazionali dove sono riportate delle tabelle indicative del timing di assunzione degli alimenti in base alla tipologia della prestazione.

Se l'allenamento è quel processo complesso capace di stimolare una sindrome da adattamento, questo avviene sulla base del rispetto dei criteri dell'allenamento ed avviene in risposta ad uno stimolo capace di indurre una risposta sulla trascrizione genica². Tuttavia lo stimolo ha aspetti meccanici (rottura delle membrane, aumento Ca intracellulare, ecc) ma anche metabolici (aumento ROS, ecc) che sono proprio alla base dell'attivazione di sequenze di trascrizione genica e che possono portare verso un aumento della qualità aerobiche piuttosto che verso un aumento della sintesi proteica.

Diventa quindi ancor più importante il ruolo di una alimentazione specifica da mettere strettamente in relazione con la tipologia della attività sportiva praticata.

In sintesi potremmo dire che se la prestazione è sul campo di gara, il suo start è già sulla tavola del pranzo !

Bibliografia

1. Maughan RJ, Burke LM, Nestlè Nutr Inst Workshop 2011; 69, 131-49
2. Fluck M, J Exp Biol 2006; 209, 2239-2248

**RIASSUNTI
DEI
POSTER**

N° poster	Titolo	Pag.
1	Composti bioattivi da bulbi di <i>Muscari comosum</i> (Iampascioni) Angela Bassoli, <u>Gigliola Borgonovo</u> , Gabriella Morini, Filippo Caremoli, Donatella Resta, Anna Arnoldi, Giovanna Boschini	43
2	Glucomannan ameliorates plasma lipid profile of dyslipidemic children <u>Paola Cagliero</u> , Francesca Abello, Ornella Guardamagna	44
3	Effects of lycopene supplementation on oxidative stress in children affected by primary dyslipidemia <u>Paola Cagliero</u> , Francesca Abello, Clara Cena, Marta Giorgis, Ornella Guardamagna	45
4	Bioaccessibilit� delle soiasaponine α e β ed attivita' ipocolesterolemizzante: modello di digestione in vitro <u>Giovanni Caprioli</u> , Gianni Sagratini, Filippo Maggi, Guillermina Font, Jordi Ma�es, Giuseppe Meca, Massimo Ricciutielli, Veronica Sirocchi, Elisabetta Torregiani, Sauro Vittori	46
5	Blood cell response to a fatty meal in healthy subjects at different degree of cardiovascular risk: effect of orange juice (oj) intake Chiara Cerletti, Chiara Tamburrelli, Francesco Gianfagna, Marco D'Imperio, Amalia De Curtis, Roberto Lorenzet, Domenico Rotilio, Licia Iacoviello, Giovanni de Gaetano, <u>Maria Benedetta Donati</u>	47
6	Prevention of post-operative atrial fibrillation in cardiac surgery by pre-operative supplementation of n-3 polyunsaturated fatty acids. A meta-analysis Simona Costanzo, Veronica di Niro, Francesco Gianfagna, <u>Maria Benedetta Donati</u> , Giovanni de Gaetano, Licia Iacoviello	48
7	Total dietary antioxidant capacity and post-operative atrial fibrillation in patients undergoing cardiac surgery Simona Costanzo, Veronica di Niro, Marco Olivieri, Mariarosaria Morena, Nicola Testa, Francesco Alessandrini, Marco Rossi, Bruno Zappacosta, <u>Maria Benedetta Donati</u> , Giovanni de Gaetano, Licia Iacoviello	49
8	Composizione fitochimica di estratti convenzionali e in CO₂ supercritica di propoli di origine trentina e bellunese mediante HPLC-DAD, HPLC-ESI-MSⁿ Stefano Dall'Acqua, Viviana Bodi, Nicola Dezordi, Maria Clauser, Alessandro Portolan, Stefano Francescato, Giovanni Baratto, Gabriella Innocenti	50
9	Composizione fitochimica ed attivit� antiossidante di estratti di corteccia di <i>Abies excelsa</i> Stefano Dall'Acqua, Maria Clauser, Alessandro Portolan, Stefano Francescato, Mauro Rippa, Ernesto Riva, Gabriella Innocenti	51
10	Orange juice intake decreases the procoagulant activity of whole blood: a randomized crossover study in healthy volunteers <u>Maria Benedetta Donati</u> , Emanuela Napoleone, Antonella Cutrone, Filomena Zurlo, Augusto Di Castelnuovo, Marco D'Imperio, Lucia Giordano, Amalia De Curtis, Licia Iacoviello, Chiara Cerletti, Domenico Rotilio, Giovanni de Gaetano, Roberto Lorenzet	52

11	Effetto di lisati di cereali e legumi sulla risposta allo stress ipotonico ed ossidativo di eritrociti umani <u>Morena Gabriele</u> , Rossella Russo, Stefania Frassinetti, Luisa Pozzo, Francesca Sparvoli, Vincenzo Longo, Laura Pucci	53
12	La rieducazione alimentare: strumento per formare consumatori consapevoli <u>Chiara Lisi</u> , Ilaria Cevolani, Lisa Buzzoni, Viviana Avallone	54
13	Sostanze di origine vegetale e loro effetto sul sistema antiossidante endogeno: protezione dal danno ossidativo <u>Vincenzo Longo</u> , Margherita La Marca, Clara della Croce	55
14	Aromi e potenziale nutraceutico di uva e frutti rossi: analisi di amminoacidi e derivati <u>Laura Mercolini</u> , Roberto Mandrioli, Michele Protti, Maria Augusta Raggi	56
15	Valutazione del contenuto di melatonina in frutti rossi amari/aciduli mediante HPLC con rivelazione spettrofluorimetrica <u>Laura Mercolini</u> , Roberto Mandrioli, Vittorio Sorella, Anna Ferranti, Maria Augusta Raggi	57
16	Proprietà nutraceutiche del chinotto: analisi di cumarine e altri marker Laura Mercolini, Roberto Mandrioli, Michele Protti, Vittorio Sorella, Francesco Valle, <u>Maria Augusta Raggi</u>	58
17	Composti nutraceutici in oli essenziali di erbe aromatiche dal sapore amaro: caratterizzazione e quantificazione mediante hplc-dad <u>Emanuele Morganti</u> , Maria Addolorata Saracino, Anna Ferranti, Anna Arnoldi, Maria Augusta Raggi	59
18	Isolation of organic acids from <i>Cichorium intybus</i> with potential anti-caries and anti-gingivitis activity <u>Adele Papetti</u> , Dora Mascherpa, Chiara Carazzone, Monica Stauder, David A. Spratt, Michael Wilson, Jonathan Pratten, Peter Lingström, Egija Zaura, Itzak Ofek, Caterina Signoretto, Carla Pruzzo, Gabriella Gazzani	60
19	Effetto del lisato di grano su vitalità e stress ossidativo indotto da H₂O₂ in CACO.2.Cells <u>Laura Pucci</u> , Morena Gabriele, Rossella Russo, Valter Lubrano e Vincenzo Longo	61
20	Metodi analitici per la determinazione di composti nutraceutici in integratori ed alimenti a base di soia <u>Maria Addolorata Saracino</u> , Emanuele Morganti, Francesca Bugamelli, Nadia Ghedini, Maria Augusta Raggi	62
21	Glycemic index and blood pressure in type 2 diabetes <u>Korbua Srichaikul</u> , Amy Jenkins, Stephanie Nishi, Duncan Cushnie, Cyril Kendall, David Jenkins	63
22	Gradimento sensoriale dell'olio extravergine e sostanze funzionali: un percorso da costruire <u>Federica Tesini</u> , Enrico Valli, Sara Barbieri, Giuseppe Di Lecce, Alessandra Bendini, Tullia Gallina Toschi	64

23	In-Cell Western Assay: a new approach to study the hypocholesterolemic effects of food components at HEPG2 cell line <u>Carmen Lammi</u> , Chiara Zanoni, Anna Arnoldi	65
24	European project LUPICARP “Innovative functional foods based on sweet lupin protein for cardiovascular prevention” Anna Arnoldi	66
25	EU project LUPICARP “Innovative functional foods based on sweet lupin protein for cardiovascular prevention”: protein analysis of lupin based foods <u>Graziana Maria Scigliuolo</u> , Donatella Resta, Giovanna Boschin, Anna Arnoldi	67
26	EU project LUPICARP “Innovative functional foods based on sweet lupin protein for cardiovascular prevention”: evaluation of quinolizidine alkaloids content in lupin based foods <u>Donatella Resta</u> , Graziana Maria Scigliuolo, Anna Arnoldi, Giovanna Boschin	68
27		69

COMPOSTI BIOATTIVI DA BULBI DI *MUSCARI COMOSUM* (LAMPASCIONI)

Angela Bassoli¹, Gigliola Borgonovo¹, Gabriella Morini², Filippo Caremoli¹, Donatella Resta³, Anna Arnoldi⁴, Giovanna Boschini⁴

1. DeFENS, Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente-Sezione di Scienze Chimiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, via Celoria 2, 20133 Milano
2. Università di Scienze Gastronomiche, piazza Vittorio Emanuele II 13, Pollenzo, 12060 Bra (CN)
3. HPF Nutraceutics, via Balzaretti 9, 20133 Milano
4. DISFARM, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano, via Mangiagalli 25, 20133 Milano

Il sapore è uno dei criteri determinanti nella scelta del cibo e comprendere i meccanismi molecolari attraverso i quali si riconoscono i gusti è di fondamentale importanza, anche alla luce della stretta correlazione esistente tra alimentazione e salute.

Il gusto amaro è in genere associato ad un meccanismo di selezione negativa in quanto serve a riconoscere composti potenzialmente tossici. E' tuttavia assodato che il gusto amaro in molti casi può essere correlato a proprietà benefiche per la salute come l'attività antiossidante e antiinfiammatoria. Infatti proprio le "erbe amare" sono spesso usate tradizionalmente come "cibo-medicina" per le loro proprietà curative.

Le sostanze naturali amare sono caratterizzate da una grande eterogeneità strutturale a cui corrisponde un'elevata variabilità a livello di recettori gustativi per l'amaro¹ che sono un gruppo di circa 30 proteine appartenenti alla famiglia T2R delle GPCR.

Nel corso di questo lavoro sono stati isolati e identificati alcuni composti bioattivi contenuti nei bulbi di *Muscari comosum*, una pianta spontanea delle Liliaceae, comunemente conosciuta con il nome di lampascione e consumata in alcuni paesi del bacino mediterraneo.

La caratteristica sensoriale che caratterizza il lampascione è lo spiccato sapore amaro; ai bulbi sono state attribuite proprietà diuretiche, antiossidanti ed antinfiammatorie².

L'attività di ricerca si è concentrata sull'estratto etero³, particolarmente ricco di composti fenolici, con l'identificazione strutturale, mediante spettroscopia NMR e spettrometria di massa, dei metaboliti presenti. In tale estratto sono stati inoltre quantificati i fenoli totali mediante saggio di Folin-Ciocalteu ed è stata valutata la capacità antiossidante. Alcuni composti puri isolati sono risultati attivi *in vitro* su recettori specifici del sapore amaro; uno di essi ha anche mostrato caratteristiche di pungenza e attività *in vitro* sul canale ionico TRPA1.

Bibliografia

1. Meyerhof W. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* **2005**, 154, 37-72.
2. Pieroni A.; Quave C.; Nebel S.; Heinrich M. *Fitoterapia* **2002**, 73, 217.
3. Bassoli, A., Borgonovo, G., Caimi, S., Morini, G., Scaglioni, L.. *Chemistry & Biodiversity* **2008**, 5, 1184-1194.

GLUCOMANNAN AMELIORATES PLASMA LIPIDE PROFILE OF DYSLIPIDEMIC CHILDREN

Paola Cagliero, Francesca Abello, Ornella Guardamagna

Department of Pediatrics, University of Turin, Italy

Introduction: Primary dyslipidemias are major risk factors for cardiovascular disease¹ and should be addressed early in life. Several studies have focused on different soluble fibers, such as glucomannan, for its potential beneficial effects on CVD risk, in particular because of its favourable effects on lipid profiles². The aim of this study was to evaluate, in children affected by primary hypercholesterolemia, the efficacy and tolerability of a short-term treatment with a dietary supplement containing glucomannan.

Material and methods: A double-blind, randomized, placebo-controlled, cross-over trial was conducted in 36 children (aged 6-15 years) affected by Familial Combined Hyperlipidemia (n=19) or Autosomal Dominant Hypercholesterolemia (n=17). After a 4-week run-in period with dietary counseling, children received glucomannan or placebo twice-daily for 8 weeks, separated by a 4-week washout period. Lipid profile was assessed at baseline and after each treatment period.

Results: Glucomannan significantly reduced total cholesterol by 5.1% (p=0.008), low-density lipoprotein (LDL) cholesterol levels by 7.3% (p=0.008) and non-high-density lipoprotein cholesterol by 7.2% (p=0.002) as compared with placebo. No significant differences were observed in high-density lipoprotein cholesterol, triglyceride, Apolipoprotein B, and Apolipoprotein A-1 concentrations. No major adverse effects were recorded and only few patients experienced intestinal discomfort.

Conclusions: Treatment with glucomannan of children affected by primary dyslipidemia is well-tolerated and effectively lowers total, LDL cholesterol and non-high-density lipoprotein cholesterol, but not Apolipoprotein B in children.

References

1. Berenson, GS. et al. *N Engl J Med* **1998**, 338, 1650–1656.
2. Sood, N. et al. *Am J Clin Nutr* **2008**, 88, 1167–1175.

EFFECTS OF LYCOPENE SUPPLEMENTATION ON OXIDATIVE STRESS IN CHILDREN AFFECTED BY PRIMARY DYSLIPIDEMIA

Paola Cagliero¹, Francesca Abello¹, Clara Cena², Marta Giorgis², Ornella Guardamagna¹

1. Department of Pediatrics, University of Turin, Turin, Italy

2. Department of Drug Science and Technology, University of Turin, Turin, Italy

Introduction: Mediterranean dietary components, such as carotenoids, have a demonstrated protective role against cardiovascular diseases¹. Among these lycopene, mainly present in tomatoes and tomato products, has received attention for its beneficial effects against atherosclerosis² through its antioxidant properties that prevent LDL-oxidation and endothelial dysfunction³. Contrasting data have been reported about bioavailability and efficacy in humans. The aim of the study was to evaluate the effects of lycopene on lipid profile and oxidative stress in children affected by primary dyslipidemia.

Material and methods: 28 dyslipidemic children (7 Familial Hypercholesterolemia, 8 Familial Combined Hyperlipidemia, 13 Autosomal Dominant Hypercholesterolemia), aged 10.7 ± 2.4 ys, were enrolled in a double-blind, randomized, placebo-controlled, cross-over trial. Children received a dietary supplement containing lycopene (7 mg) or placebo for 4 weeks, separated by a 4-week washout period. Lipid profile (TC, HDL-C, TG, ApoB and ApoA-1) was assessed at baseline and after each treatment period by automatic analyzer (Olympus AU 2700, Japan). The concentration of OxLDL in plasma samples, stored at -80°C , were measured by an ELISA procedure using a commercial kit (Biomedica Gruppe). Urine samples were collected and stored at -80°C and assayed for quantification of the 8-iso-PGF_{2 α} -Isoprostane Enzyme Immunoassay (Cayman Chemical).

Results: Lycopene supplementation did not determine any variation of lipid profile compared to placebo. OxLDL levels resulted 633 (172-2524) ng/mL at baseline, 953 (506-3432) ng/mL and 938 (262-3260) ng/mL after lycopene and placebo treatment. Urinary 8-isoprostane levels resulted 29.7 (14.4-92.2) ng/mmol creatinine at baseline, 38.1 (18.7-95.9) ng/mmol creatinine and 40.5 (17.8-82.4) ng/mmol creatinine after lycopene and placebo treatment.

Conclusions: Lycopene supplementation did not show any significant effect on lipid profile, OxLDL and urinary 8-isoprostane in the present cohort of children affected by primary dyslipidemia.

References

1. Willett, WC. et al. *Am J Clin Nutr* **1995**, 61(6 suppl),1402–1406.
2. Rao, AV. et al. *Exp Biol Med* **2002**, 227, 908–913.
3. Basu, A. and Imrhan, V. *Eur J Clin Nutr* **2007**, 61, 295–303.

BIOACCESSIBILITA' DELLE SOIASAPONINE I e β g ED ATTIVITA' IPOCOLESTEROLEMIZZANTE: MODELLO DI DIGESTIONE IN VITRO

Giovanni Caprioli¹, Gianni Sagratini¹, Filippo Maggi¹, Guillermina Font², Jordi Mañes², Giuseppe Meca², Massimo Ricciutelli¹, Veronica Sirocchi¹, Elisabetta Torregiani¹, Sauro Vittori¹

¹School of Pharmacy, University of Camerino, via S. Agostino 1, 62032 Camerino, Italy

²Faculty of Pharmacy, University of Valencia, Avenue Vicent Andres Estelles s/n, 46100 Burjassot, Valencia, Spain

giovanni.caprioli@unicam.it

Le soiasaponine sono un gruppo di glicosidi triterpenici, appartenenti alla famiglia delle saponine, che hanno dimostrato possedere proprietà altamente salutari. Sono presenti nella soia, nei piselli verdi, nelle lenticchie, nei ceci ed in altri legumi. Sono molecole anfifiliche, composte cioè da unità zuccherine polari, idrofile, attaccate ad un'unità non polare, l'aglicone, non solubile in acqua. Le lenticchie, una delle fonti alimentari più ricche di proteine di origine vegetale, contengono principalmente la soiasaponina I e la β g¹ che, in base alla loro struttura chimica, secondo la direttiva 2008/100/CE sono definite componenti della fibra alimentare. La soiasaponina β g è facilmente idrolizzabile nella soiasaponina I a temperature maggiori di 25°C. Le soiasaponine hanno dimostrato di possedere importanti proprietà salutistiche: abbassamento del livello di colesterolo, attività anticarcinogenica e antiepatotossica ed azione anti-replicativa nei confronti del virus dell'HIV². Particolarmente interessante è l'azione ipocolesterolemizzante, che si pensa sia mediata da tre meccanismi d'azione. Una prima azione è diretta, in quanto le soiasaponine possono legarsi col colesterolo esogeno tramite deboli forze di attrazione di Van der Waals formando complessi insolubili, espulsi poi tramite le vie fecali. Una seconda azione è indiretta, in quanto queste formano micelle di grandi dimensioni con gli acidi biliari; queste sono troppo grandi per essere assorbite attraverso la parete dell'intestino tenue e quindi vengono escrete con le feci. Di conseguenza, il colesterolo endogeno prodotto nel fegato viene utilizzato per la sintesi di nuovi acidi biliari. Una terza azione è simile a quella dei fitosteroli: le soiasaponine per la loro analogia strutturale col colesterolo competono con i meccanismi di assorbimento dello stesso³.

Vista l'importanza farmacologica di queste molecole abbiamo cercato di valutare la bioaccessibilità delle soiasaponine I e β g attraverso un modello di digestione in vitro che simula le varie zone dell'apparato gastrointestinale. 50 g di lenticchie vengono cotte in 1 L di acqua. Per simulare la digestione a livello della cavità orale, 10 g di campione cotto vengono addizionati di 6 ml di liquido salivare simulato e 20 ml acqua e posti in agitazione in uno stomacher per 30 secondi. Per simulare l'ambiente gastrico, si porta la soluzione a pH 2 con HCl 6N, si aggiungono 0,5 g di pepsina e 80 ml d'acqua, lasciando sotto agitazione in un bagno a 37°C per 2 ore. Infine, per valutare la bioaccessibilità a livello del duodeno, si porta a pH 6,5 con NaHCO₃, si aggiungono 1,25 g di sali biliari e si lascia sotto agitazione per 2 ore a 37°C. Per simulare invece l'ambiente del colon, si porta a pH 7,2 con NaOH, si coltivano 16 ceppi batterici caratterizzanti la flora intestinale che vengono aggiunti ai campioni di lenticchie digeriti e successivamente i campioni vengono incubati per 48h a 37°C.

Le analisi dei liquidi ottenuti dopo digestione simulata nel duodeno e nel colon, vengono effettuate mediante HPLC-MS (l'analizzatore è un ibrido quadrupolo/trappola ionica) in modalità full scan. I risultati mostrano che la soiasaponina β g non è stata rinvenuta nei liquidi del duodeno e del colon. Nel duodeno abbiamo una bioaccessibilità di circa il 9,5% per la soiasaponina I, mentre nel colon la stessa è di circa lo 0,2%. La quantità di colesterolo esogeno presente negli alimenti è abbastanza bassa in valore assoluto mentre la concentrazione delle soiasaponine nei legumi è elevata, quindi i valori di bioaccessibilità trovati potrebbero essere determinanti nello svolgere un'azione di tipo ipocolesterolemizzante nei confronti del colesterolo esogeno.

Bibliografia

1. Ruiz, R.G. et al. *J. Agric. Food Chem.*, **1996**, 44, 1526-1530.
2. Gu, L. et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50, 6951-6959.
3. Oakenfull D. and Sidhu, G.S. *Eur. J. of Clin. Nutr.*, **1990**, 44, 79-80.

BLOOD CELL RESPONSE TO A FATTY MEAL IN HEALTHY SUBJECTS AT DIFFERENT DEGREE OF CARDIOVASCULAR RISK: EFFECT OF ORANGE JUICE (OJ) INTAKE

Chiara Cerletti, Chiara Tamburrelli, Francesco Gianfagna, Marco D'Imperio, Amalia De Curtis, Roberto Lorenzet, Domenico Rotilio, Licia Iacoviello, Giovanni de Gaetano, Maria Benedetta Donati

Research Laboratories, Fondazione di Ricerca e Cura "Giovanni Paolo II", Università Cattolica, Campobasso, Italy

Background

A fatty meal has been proposed as a model of acute oxidative stress (1). Its effect on blood cells needs to be characterized and its possible modulation by polyphenols evaluated.

Methods

The acute effect of a standardized fatty meal on platelets and leukocytes and their interactions was evaluated on 61 apparently healthy subjects (48.6±13.1 years old) at different degree of cardiovascular risk. Subsequently, 18 subjects were randomized, by a cross-over design, to drink during the meal, one liter of either blood or blond OJ (rich or poor, respectively, in anthocyanins), or water (control). Before and 2h after fatty meal, blood cells were counted and markers of activation measured by flow-cytometry (intra-PMN myeloperoxidase-MPO; leukocyte Mac-1; platelet P-selectin; platelet-leukocyte conjugates).

Results

After the fatty meal, plasma triglycerides-TG (134.6±68.8 vs 181.5±84.6 mg/dl, before vs after, $p<0.0001$ by paired t; mean±SD, n=61) and both leukocyte and platelet counts significantly increased, more markedly in subjects with lower cardiovascular risk. Mac-1 expression too increased (32.2±27.2% vs 45.6±29.0%, $p=0.0016$), and MPO decreased (83.1±16.3% vs 64.5±23.1%, $p<0.0001$); platelet activation and interaction with leukocytes increase was not significant. Women were more susceptible to the fatty meal changes than men; age did not affect any cell response. BMI influenced platelet count increase, while waist-to-hip ratio affected PMN degranulation; the latter was smaller in subjects at higher risk (all $p<0.01$). The meal-induced TG increase was reduced by blood OJ ($p<0.05$); total cholesterol decreased after blood OJ ($p<0.05$); glucose levels decreased after both OJ ($p<0.01$). Leukocyte count increase and MPO decrease were significantly attenuated by both OJ. No OJ effect on platelet counts and activation.

Conclusions

Demographic variables and cardiovascular risk degree appear associated with cell response to fatty meal. OJ intake attenuated some of these responses, probably by anthocyanin-dependent and independent mechanisms.

References

Tamburrelli C et al. *Thromb Haemost.* **2012** 107, 530-537.

Supported by EC 6FP Food-CT-2005-007130.

PREVENTION OF POST-OPERATIVE ATRIAL FIBRILLATION IN CARDIAC SURGERY BY PRE-OPERATIVE SUPPLEMENTATION OF N-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS. A META-ANALYSIS

Simona Costanzo, Veronica di Niro, Francesco Gianfagna, Maria Benedetta Donati, Giovanni de Gaetano, Licia Iacoviello

Laboratorio di Epidemiologia Genetica ed Ambientale, Laboratori di Ricerca, Fondazione di Ricerca e Cura "Giovanni Paolo II", Campobasso, Italy.

BACKGROUND. Several clinical trials have evaluated whether pre-operative supplementation of omega-3 (N-3) polyunsaturated fatty acids (PUFA) protects against post-operative atrial fibrillation (POAF) in patients undergoing cardiac surgery. Despite the anti-inflammatory and anti-arrhythmic properties of N-3 PUFA, there are still doubts about their real efficacy in POAF reduction. A meta-analysis of randomized trials was performed to investigate if pre-operative N-3 PUFA supplementation would prevent POAF after cardiac surgery.

METHODS. Articles were searched through April 2012, screening electronic databases and cross references. Six randomized controlled clinical trials were retrieved. For each study, the incidence of POAF in both the intervention and placebo groups were extracted to calculate risk ratios (RRs) and 95% CIs, if not reported. Study-specific estimates were combined using inverse variance-weighted methods in both fixed- and random-effects models. When statistically significant heterogeneity was identified, the random-effect estimate was preferentially used as summary measure.

RESULTS. This meta-analysis includes a total of 928 patients (459 in the intervention group) undergoing cardiac surgery (coronary artery bypass graft (CABG) and/or valvular surgery). Pooled analysis showed a not-significant reduction in POAF with N-3 PUFA preoperative supplementation using random-effects models (RR 0.77, CI 95% 0.56-1.05; P = 0.1). However, despite a significant heterogeneity (P= 0.01), a significant reduction of 21% in POAF (RR 0.79, 95% CI 0.67-0.94; P = 0.01) was found using fixed-effects model. Moreover, considering CABG patients only (N 813), a significant protection was observed in fixed (RR 0.79, CI 95% 0.64-0.96; P = 0.02) but not in random-effects model (RR 0.77, CI 95% 0.55-1.08; P = 0.1).

CONCLUSIONS. When using fixed-effects models a weak significant, protective effect of N-3 PUFA supplementation in POAF after cardiac surgery and in CABG procedures was observed. Further studies are necessary to finally evaluate the efficacy of N-3 PUFA supplementation in POAF.

TOTAL DIETARY ANTIOXIDANT CAPACITY AND POST-OPERATIVE ATRIAL FIBRILLATION IN PATIENTS UNDERGOING CARDIAC SURGERY.

Simona Costanzo¹, Veronica di Niro¹, Marco Olivieri¹, Mariarosaria Morena², Nicola Testa², Francesco Alessandrini², Marco Rossi³, Bruno Zappacosta⁴, Maria Benedetta Donati¹, Giovanni de Gaetano¹, Licia Iacoviello¹

¹Laboratorio di Epidemiologia Genetica ed Ambientale, Laboratori di Ricerca

²Department of Cardiovascular Disease

³Department of Anaesthesia, Intensive Care, and Pain Medicine

⁴U.O.C. Laboratorio Analisi, Fondazione di Ricerca e Cura "Giovanni Paolo II", Università Cattolica del S. Cuore, Campobasso, Italy.

BACKGROUND: Post-operative atrial fibrillation (POAF) is an important cause of morbidity and mortality after cardiac surgery. Systemic inflammation and oxidative stress play a role in the initiation of POAF after cardiac surgery and could be prevented by antioxidant-rich foods. Total antioxidant capacity (TAC) takes into account all antioxidants in food and their synergistic effects. We examined the association between dietary TAC and POAF incidence in patients undergoing cardiac surgery.

MATERIALS AND METHODS: 169 consecutive patients (75% men, mean age(±SD): 66.8(±9.7) years) undergoing a cardiac surgery, were recruited from January 2010 to February 2012 at the Department of Cardiovascular Disease of the Fondazione di Ricerca e Cura "Giovanni Paolo II", Campobasso. TAC was measured in foods by three different assays: the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), the radical-trapping antioxidant parameter (TRAP) and the ferric reducing-antioxidant power (FRAP). The European Investigation into Cancer and Nutrition Food Frequency Questionnaire was used and specifically validated for dietary TAC assessment. The association among tertiles of dietary TAC and POAF incidence was assessed using multivariable logistic analysis.

RESULTS: In the whole sample, the incidence of total arrhythmias and POAF are of 45% and 36%, respectively. In multivariable analysis, after adjustment for age, sex, diabetes therapy and total energy intake, patients in the highest tertile of all the three indicators of dietary TAC (N=56) had a lower risk of POAF than patients in the two lower tertiles (N=113) (Table).

CONCLUSIONS: High antioxidant-rich foods intake reduces the incidence of POAF in patients undergoing cardiac surgery.

Table

Tertile (N)	TEAC		TRAP		FRAP	
	I – II (113)	III (56)	I – II (113)	III (56)	I – II (113)	III (56)
POAF % (N)	41.6%(47)	23.2%(13)	42.5%(48)	21.4%(12)	42.5%(48)	21.4%(12)
Crude OR		0.43		0.37		0.37
(95%CI)		(0.21-0.88)		(0.18-0.77)		(0.18-0.77)
Multivariable		0.41		0.33		0.34
OR (95%CI)		(0.18-0.94)		(0.14-0.75)		(0.15-0.78)

COMPOSIZIONE FITOCHIMICA DI ESTRATTI CONVENZIONALI E IN CO₂ SUPERCRITICA DI PROPOLI DI ORIGINE TRENTINA E BELLUNESE MEDIANTE HPLC-DAD, HPLC-ESI-MS^N

Stefano Dall'Acqua¹, Viviana Bodi¹, Nicola Dezordi^{2,3}, Maria Clauser¹, Alessandro Portolan³, Stefano Francescato³, Giovanni Baratto³, Gabriella Innocenti¹

1. Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Scienze del Farmaco, Via Marzolo 5, 35100 Padova

2. Università degli Studi di Trieste, Dipartimento di Ingegneria e Architettura, V. Valerio 10, 34127 Trieste

3. Unifarco spa, Via Cal Longa, Belluno

La propoli è un materiale elaborato dalle api ampiamente utilizzato nel settore farmaceutico e degli integratori, conosciuto per i suoi effetti antimicrobici ed antinfiammatori ed utilizzato per la realizzazione di prodotti nutraceutici per l'igiene e la salute del cavo orale e delle vie aeree superiori¹. La composizione della propoli è influenzata dalla zona di raccolta, dalle specie botaniche presenti e da fattori ambientali.

In questo lavoro si riportano i risultati di una indagine fitochimica su campioni di propoli di origine trentina e bellunese. Sono stati sviluppati metodi HPLC-DAD ed HPLC-ESI-MSⁿ che hanno permesso di identificare circa 40 composti fenolici appartenenti alle classi dei flavonoidi e dei derivati caffeici. Estratti alcolici ottenuti da differenti campioni sono stati confrontati per il loro contenuto quali-quantitativo. I risultati hanno evidenziato una composizione molto simile per quello che riguarda il pattern in flavonoidi e alcune differenze relativamente agli acidi caffeici. Il contenuto medio di flavonoidi e acidi caffeici nei campioni analizzati era di 16 e 20% espressi rispettivamente come galangina ed acido clorogenico. Prove di estrazione in CO₂ supercritica hanno portato all'ottenimento di un estratto in cui sono concentrati alcuni flavoni (pinobanskina butirrato e pinobanskina pentanoato, crisina etc) ed derivati caffeici (CAPE, etc) lipofili, ma in cui non è rilevabile galangina. Il residuo ottenuto dopo estrazione in CO₂ può essere estratto con solventi alcolici per ottenere estratti di propoli ricchi in flavonoidi (con concentrazioni attorno al 20%) ma privi di cere e componenti più lipofili.

Bibliografia

1. Hendler, S.S., Rorvik, D. PDR Integratori Nutrizionali **2003**, 446-448.
2. Medana, C., et al., *Phytochemical Analysis* **2008**, 19, 32-39.
3. Pellati F., et al., *J. Pharm. Biom: Anal.* 2011, 55, 934-948.

COMPOSIZIONE FITOCHIMICA ED ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE DI ESTRATTI DI CORTECCIA DI *ABIES EXCELSA*

Stefano Dall'Acqua¹, Clauser Maria¹, Alessandro Portolan², Francescato Stefano², Rippa Mauro¹
Riva Ernesto² Innocenti Gabriella¹

1. Università degli Studi di Padova Dipartimento di Scienze del Farmaco Via Marzolo 5, 35100 Padova

2. Unifarco SpA, via Cal Longa 62, 32035 Belluno

Le cortecce delle conifere sono uno scarto dell'industria del legname che viene parzialmente riutilizzato come materiale di riempimento per aiuole e giardini. Le cortecce sono però ricche di composti antiossidanti e possono essere utilizzate per l'estrazione di miscele di tannini e fenoli¹⁻². Un esempio è il ben noto Pycnogenolo[®] ottenuto dalle cortecce del pino marittimo³.

In questo lavoro è stato considerato come possibile fonte naturale di antiossidanti l'abete rosso (*Abies excelsa* L.) una specie diffusa nel territorio bellunese.

La corteccia ottenuta dalla lavorazione del legname, quindi un materiale di basso valore commerciale, è stata estratta con etanolo a differente grado alcolico (20, 30, 50 e 100%). Gli estratti ottenuti sono stati analizzati per le proprietà antiossidanti con il test del DPPH e valutato il contenuto in polifenoli totali con il saggio Folin-Ciocalteu. L'estrazione più efficace dei polifenoli si ha con etanolo al 70%. L'attività antiossidante osservata per gli estratti risulta elevata, con una IC₅₀ 13 µg/mL. La composizione fitochimica è stata analizzata mediante analisi HPLC-ESI-MSn HPLC-DAD ed HPLC-Fluorescenza permettendo di identificare luteolina, taxifolina, taxifolina-glucoside, quercetina-glucoside, piceasidi e metossi derivati dei piceasidi. Altri composti identificati sono stati idrossimatairesinolo e proantocianidine oligomeriche. Gli estratti ottenuti sono stati infine sottoposti a lavorazioni in spray-drying per ottenere polveri utilizzabili anche nel settore dei nutraceutici. Come eccipienti sono state utilizzate miscele di mannitolo, fruttosio e lattosio. Le polveri ottenute sono state analizzate per verificare la stabilità dei composti identificati al trattamento termico e sono state poi nuovamente sottoposte ai test di attività antiossidante. I risultati hanno evidenziato un mantenimento dell'attività antiossidante con valori di IC₅₀ misurati fra 15-19 µg/mL leggermente inferiori all'estratto di partenza dovuti all'aggiunta dell'eccipiente, ma ancora elevati.

Le cortecce di *A. excelsa* appaiono quindi promettenti fonti di composti ad elevato potere antiossidante.

Bibliografia

1. Dall'Acqua S., et al. *Molecules* 2012, 17(2), 1686-1697.
2. Diouf, P.N., et al. *Food Chemistry* 2009, 113(4), 897-902.
3. D'Andrea, G., et al. *Fitoterapia*. 2010, 81(7), 724-736.

ORANGE JUICE INTAKE DECREASES THE PROCOAGULANT ACTIVITY OF WHOLE BLOOD: A RANDOMIZED CROSSOVER STUDY IN HEALTHY VOLUNTEERS

Maria Benedetta Donati, Emanuela Napoleone, Antonella Cutrone, Filomena Zurlo, Augusto Di Castelnuovo, Marco D'Imperio, Lucia Giordano, Amalia De Curtis, Licia Iacoviello, Chiara Cerletti, Domenico Rotilio, Giovanni de Gaetano, Roberto Lorenzet

Laboratori di Ricerca, Fondazione di Ricerca e Cura "Giovanni Paolo II", Università Cattolica, Campobasso

Background

Numerous epidemiological studies suggest that exposure to flavonoid-rich fruits has beneficial influences on risk factors for cardiovascular disease. Flavonoids contribute to this protection by counteracting oxidative stress, inflammation and reducing the expression of genes associated with ischemic disorders.

Objective

We investigated whether intake of orange juice could affect whole blood (WB) procoagulant activity, a possible marker of thrombotic tendency.

Methods

The study was carried out in 17 healthy subjects (aged 31 ± 6.5 SD), 10 males and 7 females randomized to receive, according to a cross over design, either blood or blond orange juice (OJ), i.e. containing or not anthocyanins, respectively. After a 2 week run-in period on a controlled diet, the subjects were randomly allocated to receive either type of OJ for 4 weeks. Blood samples were collected after overnight fasting before and at the end of each treatment period and subjected to an inflammatory stimulus by incubation with or without bacterial endotoxin or tumor necrosis factor- α at 37°C for 2 h. Procoagulant activity was evaluated by a one-stage clotting assay. Tissue factor (TF) and TF pathway inhibitor (TFPI), two main determinants of whole blood procoagulant activity were measured in plasma by ELISA.

Results

Intake of both types of OJ caused a prolongation of resting and stimulated whole blood clotting time. No differences between the two treatments were observed. Intake of OJ did not modify TF plasma levels. On the contrary, an increase in circulating TFPI antigen was detected regardless of the treatment.

Conclusions

Our results suggest that orange juice intake, by decreasing WB procoagulant activity, could exert a beneficial effect on risk factors associated with cardiovascular disease; for this effect, mechanisms other than anthocyanin levels may play a role.

Supports: EC 6FP Food-CT-2005-007130

EFFETTO DI LISATI DI CEREALI E LEGUMI SULLA RISPOSTA ALLO STRESS IPOTONICO ED OSSIDATIVO DI ERITROCITI UMANI

Morena Gabriele¹, Rossella Russo¹, Stefania Frassinetti¹, Luisa Pozzo¹, Francesca Sparvoli², Vincenzo Longo¹, Laura Pucci¹

1. Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria U.O.S., CNR Pisa

2. Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, CNR Milano

Cereali e legumi rappresentano alimenti con ottime proprietà nutrizionali, fonte di fibra, minerali ed antiossidanti.

Il Lisosan G, un lisato di grano, registrato presso il Ministero della Salute come integratore alimentare, nasce da una particolare lavorazione di cruschetto e germe di grano biologico. Tra le principali componenti del Lisosan G c'è una consistente presenza di antiossidanti quali ed oligoelementi. Significativa la presenza di acidi grassi polinsaturi che migliorano il tono vascolare e la fluidità del sangue. Il lisato presenta acido linoleico noto per abbassare i livelli del colesterolo, regolare i livelli di glucosio ematico e la pressione sanguigna. Infine, Lisosan G ha mostrato un'azione protettiva nella tossicità indotta da un agente chemioterapico quale il cisplatino¹.

Un recente lavoro² ha dimostrato che i fagioli, oltre ad essere alimenti ad elevato contenuto di fibre e di proteine, rappresentano una ricca fonte di antiossidanti e possono fornire benefici alla salute simili a quelli della frutta quale uva, mele e mirtilli. I fagioli presentano alte concentrazioni di flavonoidi, in particolare antociani responsabili del loro effetto benefico.

Sebbene nei nostri laboratori sia stato effettuato il test ORAC che ha attribuito valori discreti a tali lisati, la misura antiossidante degli alimenti *in vitro* mostra spesso deboli correlazioni con la situazione *in vivo*.

Di recente, Blasa e coll.³ hanno sviluppato un modello che utilizza eritrociti umani per la determinazione della capacità antiossidante cellulare denominato CAA-RBC, *cellular antioxidant activity-red blood cell*. Gli eritrociti, cellule anucleate e prive di mitocondri, sono trattati con AAPH (3mM), un generatore di radicali i quali, ossidando la diclorofluoresceina, generano un composto altamente fluorescente; la riduzione di fluorescenza che si osserva nei campioni pre-trattati con i lisati è indice del loro effetto antiossidante. Inoltre, i radicali indotti da alte concentrazioni di AAPH (50mM) ossidano i fosfolipidi di membrana degli eritrociti con conseguente emolisi cellulare, evidenziabile con un test spettrofotometrico. L'azione benefica di sostanze naturali può evidenziarsi con la inibizione dell'emolisi eritrocitaria dovuta ad un'aumentata resistenza all'insulto ossidativo da parte delle membrane cellulari.

Scopo del nostro lavoro è stato analizzare e confrontare l'attività antiossidante ed antiemolitica in eritrociti umani del Lisosan G (LG) e di quattro diversi lisati di fagiolo: 1. *wild type* (Ph); 2. privo di lectina (PhL-); 3. a basso contenuto di acido fitico (LPA); 4. privo di fitoemoagglutinina ed arricchito in faseolamina, inibitore dell' α -amilasi (LJ).

I risultati hanno mostrato che tutte le sostanze testate alla concentrazione ottimale, riducono significativamente sia l'effetto ossidante ($p < 0.001$) che l'emolisi ($p < 0.05$) indotta da AAPH in un sistema cellulare rappresentato da eritrociti umani. I lisati PhL- e LJ hanno mostrato il miglior effetto antiossidante, osservabile anche a basse concentrazioni. LG protegge in maniera più efficace la cellula dall'emolisi ossidativa; tale azione è risultata dose-dipendente.

Bibliografia

1. Longo, V. et al. *Food Chem Toxicol* **2011**, 49(1): 233-237.

2. Oomah, BD. et al. *J Agric Food Chem* **2010**, 58(14):8225-8233.

3. Blasa, M. et al. *Food Chem* **2011**, 125, 685-691.

LA RIEDUCAZIONE ALIMENTARE: STRUMENTO PER FORMARE CONSUMATORI CONSAPEVOLI

Chiara Lisi, Ilaria Cevolani, Lisa Buzzoni, Viviana Avallone

NATURHOUSE Srl, via Fellini 6, 44122 Ferrara, Italia

L'educazione alimentare è, in questo momento, un argomento molto importante e di elevato interesse pubblico. Molte sono le tesi che sostengono quest'affermazione, infatti, molteplici programmi educativi sono stati diffusi e utilizzati come oggetto di studio in tutto il mondo, nell'intento di insegnare la corretta alimentazione e prevenzione di sovrappeso, obesità, diabete e malattie cardiovascolari. Fin dalle scuole elementari sono partiti i primi programmi di educazione alimentare, semplici e intuitivi come "Colorare la mia piramide"¹, oppure piani interdisciplinari che prevedevano la presenza di esperti del settore²; anche gli adolescenti sono stati coinvolti in sessioni di educazione alimentare, in particolare nella scelta del cibo ai fast-food, prima e dopo la lezione³. Per gli adulti, invece, sono previsti piani educativi più complessi e protratti nel tempo ma altrettanto d'impatto, quali la creazione di programmi Via-internet⁴ o newsletter mensili⁵ a cui le persone possono fare riferimento, oppure vere e proprie sedute di educazione assistite da esperti che non solo insegnano la corretta alimentazione e promuovono la Dieta Mediterranea⁶ come riferimento per mantenere il giusto peso ma monitorano, valutano e offrono consulenza per assicurare un invecchiamento migliore⁷.

Alla luce di quanto sopra riportato, è stato impostato uno studio atto a dimostrare come l'educazione alimentare, che prevede la presenza di un esperto nel settore della nutrizione e con appuntamenti a cadenza settimanale, sia utile nell'apprendere le regole migliori per un'alimentazione sana e corretta.

Lo studio prevede l'analisi di questionari a risposta multipla, sottoposti a 700 clienti di centri di rieducazione alimentare dislocati sull'intero territorio italiano, di cui 330 alla prima consulenza e 370 alla terza consulenza settimanale. È stato dimostrato che la consapevolezza dei clienti che si presentano dopo alcune consulenze aumenta di percentuali significative rispetto diverse argomentazioni, come ad esempio: l'importanza di affrontare cinque pasti al giorno oppure la necessità di bere il giusto quantitativo di acqua giornaliero, fino ad arrivare a una più approfondita conoscenza del cliente riguardo il diverso contenuto in carboidrati di svariati alimenti piuttosto che il contenuto alcolico di alcune bevande di uso quotidiano.

Questo studio ha fornito un quadro piuttosto chiaro sulle conoscenze dei clienti prima e dopo l'educazione alimentare ricevuta presso i centri specializzati, possiamo affermare inoltre, che avendo avuto notevoli aumenti di percentuali riguardo svariate argomentazioni, l'educazione alimentare al giorno d'oggi è utile per sfatare miti e leggende tramandati di generazione in generazione che molto spesso non rispecchiano la realtà. La ricerca proseguirà in futuro per verificare se le conoscenze dei clienti miglioreranno ulteriormente dopo un numero più elevato di consulenze e sarà ampliata riguardo le nozioni educative impartite alla clientela andando a coinvolgere anche aspetti riguardanti l'etichettatura degli alimenti e la loro interpretazione.

Bibliografia

1. Moore, JB. et al. *J SchNurs.* **2009** Jun; 25(3), 230-239.
2. Briggs, M. et al. *J NutrEducBehav.* **2010** Nov-Dec; 42(6), 360-371.
3. Allen, KN. et al. *J SchNurs.* **2007** Dec; 23(6), 337-341.
4. Moore, TJ. et al. *J Med Internet Res.* **2008** Dec 12; 10(4), e52.
5. Harmon, AH. et al. *Health PromotPract.* **2007** Oct; 8(4), 394-402.
6. a) Panunzio, MF. et al. *Annlg.* **2011** Jan-Feb; 23(1), 13-25.
b) Piscopo, S. et al. *Public Health Nutr.* **2009** Sep; 12(9A), 1648-1655.
7. Kamp, BJ. et al. *J Am Diet Assoc.* **2010** Mar; 110(3), 463-472.

SOSTANZE DI ORIGINE VEGETALE E LORO EFFETTO SUL SISTEMA ANTIOSSIDANTE ENDOGENO: PROTEZIONE DAL DANNO OSSIDATIVO

Vincenzo Longo, Margherita La Marca, Clara della Croce

Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria U.O.S. Pisa, CNR

Nel corso degli ultimi anni è stato dimostrato che numerose sostanze chimiche di origine vegetale, possiedono varie attività farmacologiche ed è stato inoltre riportato che parecchie piante esibiscono attività antiossidanti e potrebbero essere utili nella prevenzione contro il danno ossidativo indotto principalmente da xenobiotici. Recentemente è stato dimostrato che un lisato di grano, denominato commercialmente Lisosan G, ha proprietà antiossidanti. E' un prodotto probiotico, completamente naturale e biologico ottenuto da una particolare lavorazione di cruschetto e germe di grano, utilizzato come integratore alimentare. Dati ottenuti da esperimenti sui ratti hanno mostrato che il Lisosan G protegge dal danno epatico indotto dal tetracloruro di carbonio, un composto molto tossico per l'organismo¹. Inoltre il Lisosan G ha mostrato un'azione protettiva nella tossicità indotta da un agente chemioterapico quale il cisplatino². Dati recenti ottenuti nel nostro laboratorio, utilizzando colture primarie di epatociti di ratto, hanno evidenziato che il Lisosan G è in grado di indurre gli enzimi antiossidanti come catalasi, DT-diaforasi, superossido dismutasi, eme ossigenasi attraverso la modulazione del sistema trascrizionale ARE/NRF2. Un altro studio che abbiamo eseguito è quello dell'effetto dei glucosinolati presenti nelle brassicacee, sempre sul sistema antiossidante.

Negli ultimi anni è stato dimostrato che una dieta ricca di vegetali è in grado di ridurre l'insorgenza di malattie croniche-degenerative. Vegetali come frutta e verdura contengono molte vitamine e sostanze fitochimiche, composti metabolicamente attivi sia come antiossidanti sia come chemiopreventivi. Tra questi ultimi si è posta particolare attenzione ai glucosinolati (GLS), presenti nelle brassicacee, precursori degli isotiocianati (ITCs). Numerosi studi epidemiologici hanno evidenziato che il consumo di vegetali del genere *Brassica* diminuisce il rischio di sviluppare il cancro. Esperimenti effettuati su modelli animali hanno dimostrato che l'effetto anticancerogeno di tali piante è attribuibile all'alto contenuto di GLS e ai loro prodotti di metabolismo, gli ITCs. Gli ITCs esplicano la loro azione di antiossidanti indiretti e chemiopreventivi sia attraverso meccanismi molecolari che inducono l'aumentata espressione di enzimi detossificanti coinvolti nella Fase 2 del metabolismo degli xenobiotici, sia attraverso l'inibizione di numerose isoforme di citocromo P450 coinvolte nel processamento di numerosi composti endogeni ed esogeni e nell'attivazione di alcuni cancerogeni. Colture di epatociti primari sono state utilizzate per valutare se e con quale meccanismo molecolare alcuni ITCs, derivati da glucosinolati in seguito ad idrolisi, fossero in grado di modulare il sistema citocromo P450, gli enzimi antiossidanti, detossificanti ed il sistema di detossificazione NRF2. I risultati ottenuti hanno mostrato la capacità degli ITCs di indurre i geni degli enzimi antiossidanti e detossificanti attraverso il sistema regolatorio ARE/NRF2 e di inibire la bioattivazione di cancerogeni catalizzati dal citocromo P4503A2³.

Bibliografia

1. Longo, V. et al.. *Biotechnology Letters* **2007**, 29, 1155-1159.
2. Longo, V *Food Chemical Toxicology* **2011**, 49(1), 233-237.
3. La Marca, M. *Food Chemical Toxicology* **2012**, in press.

AROMI E POTENZIALE NUTRACEUTICO DI UVA E FRUTTI ROSSI: ANALISI DI AMMINOACIDI E DERIVATI

Laura Mercolini, Roberto Mandrioli, Michele Protti, Maria Augusta Raggi

Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Via Belmeloro 6, 40126 Bologna, Italia.

Tra le diverse classi di composti potenzialmente benefici per la salute dell'uomo presenti nell'uva e in diversi frutti rossi (ciliegie, ribes rosso, ribes nero), rivestono particolare importanza gli amminoacidi poiché, essendo i precursori di molecole ad attività biologica e antiossidante, contribuiscono al valore nutraceutico di tali frutti¹. Il triptofano è il precursore di melatonina, serotonina e niacina, mentre da fenilalanina e tirosina derivano le catecolamine, l'ormone tiroxina e la melanina.

Inoltre c'è un crescente interesse per l'analisi dei singoli amminoacidi nell'uva e nei frutti rossi, poiché sembrano svolgere un ruolo fondamentale come precursori degli aromi nel corso della maturazione. Durante questo periodo, i processi catabolici prevalgono su quelli metabolici e vengono a formarsi composti volatili a partire dai principali componenti delle piante: il loro rilascio segnala non solo il grado di maturazione del frutto, ma anche la disponibilità di nutrienti. Per comprendere i sapori e gli aromi di uva e frutti rossi, è quindi necessario conoscere le caratteristiche e le concentrazioni dei principali amminoacidi e dei loro derivati durante le fasi di sviluppo del frutto. Di conseguenza, la composizione amminoacidica in diverse varietà di uva influisce in modo sostanziale sul bouquet di aromi che si verrà a formare nell'ambito della vinificazione, in particolare durante la fermentazione e l'invecchiamento².

Scopo di questo studio è la valutazione del potenziale nutraceutico di uva e frutti rossi (ciliegie, ribes rosso, ribes nero) mediante l'analisi quali-quantitativa di amminoacidi e derivati, a diversi gradi di maturazione dei frutti, per poi correlarli allo sviluppo di aromi e sapori.

Il metodo analitico che si sta mettendo a punto si avvale di un sistema LC con rivelazione spettrofluorimetrica; la separazione avviene grazie all'impiego di una colonna a fase inversa C8 come fase stazionaria e di una fase mobile costituita da una miscela di tampone citrato e metanolo. Il pretrattamento dei campioni è effettuato mediante SPE (Solid Phase Extraction) che permette di ottenere una buona purificazione della matrice in tempi rapidi.

I risultati raggiunti fino ad ora sono soddisfacenti in termini di sensibilità e selettività e il metodo sembra perciò promettente per l'analisi di amminoacidi e composti derivati nell'uva e in frutti rossi, per comprendere la correlazione tra aromi e proprietà nutraceutiche.

Bibliografia

1. Mercolini, L. et al. *Journal of Pineal Research*, **2012**, in press.
2. Mandrioli, R. et al. *Electrophoresis* **2011**, 32, 2809-2815.

VALUTAZIONE DEL CONTENUTO DI MELATONINA IN FRUTTI ROSSI AMARI/ACIDULI MEDIANTE HPLC CON RIVELAZIONE SPETTROFLUORIMETRICA

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

Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, Via Belmeloro 6, 40126 Bologna, Italia

I frutti rossi rappresentano una preziosa fonte di composti dalle elevate proprietà nutraceutiche. Le ciliegie di sapore amaro, in particolare, sembrano avere importanti implicazioni benefiche nella prevenzione e nella cura di patologie cardiovascolari e infiammatorie; anche per altri tipi di frutti rossi amari/aciduli, come il ribes, vengono ipotizzate interessanti proprietà antiinfiammatorie e anticoagulanti. I molteplici effetti benefici associati all'assunzione di questi frutti sono in parte riconducibili alla presenza di composti biologicamente attivi quali vitamine (A e C), carotenoidi e polifenoli (flavonoidi), questi ultimi intensamente studiati per la loro potenziale attività antiossidante e di *radical scavenger*¹. Negli ultimi anni, la melatonina (*N*-[2-(5-metossi-1*H*-indol-3-il)etil]acetammide, Figura 1) sta riscuotendo un notevole interesse in questo campo, in quanto è stata rinvenuta in numerose specie vegetali e ha dimostrato possedere peculiari attività modulatorie sull'attività e l'espressione di enzimi ossidanti e pro-ossidanti. Per questo, la melatonina potrebbe avere un importante effetto sinergico con altri antiossidanti a livello di *radical scavenging* nella prevenzione dello stress ossidativo.

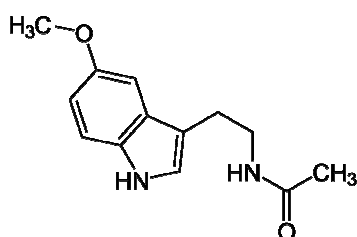


Figura 1

Scopo dello studio è la ricerca della melatonina in alcuni frutti rossi amari/aciduli di provenienza italiana, come le ciliegie amare del genere *Prunus cerasus* (amarene, marasche e visciole), il ribes rosso (*Ribes alpinum*) e il ribes nero (*Ribes nigrum*). Si prenderanno in considerazione anche alcuni prodotti commerciali da essi derivati come confetture, sciroppi, il liquore maraschino, il vino di visciola e il kir.

Il metodo analitico sviluppato si basa sull'utilizzo di HPLC con rivelazione spettrofluorimetrica, sfruttando la fluorescenza nativa dell'analita per ottenere sensibilità e selettività elevate. Il pretrattamento di frutti e prodotti correlati consiste in una procedura originale di microestrazione su fase stazionaria impaccata (MEPS), che consente di utilizzare minimi volumi di campione, garantendo buoni risultati in termini di resa d'estrazione e di purificazione della matrice.

Sono attualmente in corso prove per completare la convalida del metodo, che sembra essere promettente per la determinazione di melatonina nei frutti rossi amari/aciduli e nei prodotti commerciali da essi derivati.

Bibliografia

1. Luy, Y. et al. *Journal of Food Science* **2011**, 76, 636-638.

PROPRIETÀ NUTRACEUTICHE DEL CHINOTTO: ANALISI DI CUMARINE E ALTRI MARKER

Laura Mercolini¹, Roberto Mandrioli¹, Michele Protti¹, Vittorio Sorella¹, Francesco Valle², Maria Augusta Raggi¹

1. Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Via Belmeloro 6, 40126 Bologna, Italia
2. Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati, ISMN - CNR Bologna, Via P. Gobetti 101, 40129 Bologna, Italia

Il Chinotto (*Citrus x myrtifolia*) è un agrume del genere *Citrus* (famiglia *Rutaceae*) coltivato in Italia, principalmente in Liguria, Toscana, Lazio e Sicilia, ma le cui origini non sono ancora state accertate. La pianta produce piccoli frutti amari, tradizionalmente usati per preparare bevande, sciroppi, confetture, canditi oppure come frutti interi conservati sotto spirito. L'impiego prevalente riguarda la produzione dell'omonima bevanda, commercializzata infatti con il nome di "Chinotto".

Lo scopo dello studio è la valutazione delle proprietà nutraceutiche del chinotto mediante l'analisi di importanti composti ad azione benefica sulla salute dell'uomo, tra cui le cumarine. Particolare attenzione sta suscitando recentemente l'auraptene (7-((*E*)-3,7-dimetilotta-2,6-dienilossi)-2*H*-cromen-2-one) che ha dimostrato potenziali azioni preventive nell'insorgenza di alcuni tipi di tumori, come melanoma, carcinoma epatico, mammario e colon-rettale¹.

L'auraptene sembra inoltre possedere proprietà antinfiammatorie e antiossidanti che potrebbero svolgere un ruolo determinante nell'azione chemiopreventiva.

Altre cumarine, come l'umbelliferone (7-idrossicromen-2-one), sembrano possedere interessanti attività biologiche, tra cui quella antinfiammatoria e chemiopreventiva².

A tale scopo si stanno mettendo a punto metodi HPLC per l'identificazione e la determinazione quantitativa di auraptene, umbelliferone e altri marker del potere nutraceutico sia dei frutti di *Citrus x myrtifolia* sia di diverse bevande e prodotti commerciali da essi preparati. L'analisi delle cumarine può inoltre essere utilizzata per individuare possibili frodi commerciali, permettendo di verificare l'effettivo utilizzo del frutto o dei suoi estratti, piuttosto che di semplici aromi, nelle bevande commercializzate con il nome di "Chinotto".

Il procedimento d'analisi si basa sull'impiego dell'HPLC con rivelazione spettrofotometrica (UV), spettrofluorimetrica (F) e accoppiata a spettrometria di massa (MS/MS), utilizzando come fase stazionaria una colonna C18 a fase inversa e come fase mobile una miscela composta da tampone fosfato e acetonitrile. Il metodo è rapido e di semplice esecuzione, come pure il pretrattamento dei campioni, e i risultati ottenuti finora sono soddisfacenti, pertanto la metodica sembra essere promettente per la valutazione delle proprietà nutraceutiche dei frutti di chinotto e per il controllo di qualità di bevande e prodotti commerciali.

Bibliografia

1. Tanaka, T. et al. *International Journal of Cancer* **2010**, 15, 830-840.
2. Toyama, D.O. et al. *Toxicol* **2009**, 53, 417-446.

COMPOSTI NUTRACEUTICI IN OLI ESSENZIALI DI ERBE AROMATICHE DAL SAPORE AMARO: CARATTERIZZAZIONE E QUANTIFICAZIONE MEDIANTE HPLC-DAD

Emanuele Morganti¹, Maria Addolorata Saracino¹, Anna Ferranti¹, Anna Arnoldi², Maria Augusta Raggi¹

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

²Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti 9, 20133 Milano, Italia

Attualmente, vi è una crescente evidenza scientifica che diverse molecole dallo spiccato valore nutraceutico siano responsabili di sensazioni gustative tra cui il gusto amaro¹.

In questo ambito le erbe aromatiche dal sapore amaro sono estremamente interessanti dal punto di vista chimico, essendo caratterizzate da un alto contenuto di oli volatili dalle particolari proprietà olfattive. Questi ultimi sono prodotti odoranti volatili che vengono estratti dalle piante secondo varie modalità (distillazione in corrente di vapore, pressione a freddo, estrazione con solventi organici, ecc.).

Molte piante aromatiche in virtù delle loro proprietà curative vengono utilizzate per l'estrazione degli oli che, puri o diluiti, sono destinati alle industrie alimentari, cosmetiche e farmaceutiche. Gli oli essenziali derivati dalle erbe aromatiche mostrano interessanti caratteristiche nutraceutiche. Infatti questi possono avere azione antisettica²; detossificante e antiossidante.

Lo studio prenderà in considerazione gli oli essenziali di maggiorana, salvia, basilico e rosmarino, erbe aromatiche dal gusto amaro, a cui sono state attribuite importanti proprietà nutraceutiche (antisettica, antiossidante, antiinfiammatoria ed immunostimolante) allo scopo di caratterizzare i principali composti bioattivi.

A questo scopo si sta ottimizzando un metodo semplice e veloce per l'analisi di sostanze terpeniche ed aromatiche che utilizza un HPLC con detector Diode Array che permette oltre alla quantificazione anche l'identificazione degli analiti attraverso gli spettri di assorbimento UV. Le essenze oleose vengono estratte dalle rispettive erbe aromatiche essiccate utilizzando la distillazione in corrente di vapore: l'olio condensato viene poi filtrato e diluito in maniera opportuna prima dell'iniezione in HPLC.

I risultati preliminari ottenuti sono promettenti.

Bibliografia

1. Goff, S. A. and Klee, H.J. *Science* **2006**, 311, 815-819.
2. Solórzano-Santos, F. et al. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2012**, 23,136-141.

ISOLATION OF ORGANIC ACIDS FROM *CICHORIUM INTYBUS* WITH POTENTIAL ANTI-CARIES AND ANTI-GINGIVITIS ACTIVITY

Adele Papetti¹, Dora Mascherpa¹, Chiara Carazzone¹, Monica Stauder², David A. Spratt³, Michael Wilson³, Jonathan Pratten³, Peter Lingström⁴, Egija Zaura⁵, Itzak Ofek⁶, Caterina Signoretto⁷, Carla Pruzzo², Gabriella Gazzani¹

¹ Department of Drug Sciences, University of Pavia, Viale Taramelli 12, 27100 Pavia, Italy

² DIPTERIS, University of Genoa, Corso Europa 26, 16132 Genoa, Italy

³ Department of Microbial Diseases, UCL Eastman Dental Institute, 256 Gray's Inn Road, London, WC1X 8LD, UK

⁴ Department of Cariology, Institute of Odontology at Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Göteborg, Sweden

⁵ Department of Cariology, Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA), University of Amsterdam and Free University Amsterdam, Gustav Mahlerlaan 3004, 1081 LA Amsterdam, the Netherlands.

⁶ Department of Prosthodontics, Faculty of Dental Medicine, Hebrew University-Hadassah, 91120 Jerusalem, Israel

⁷ Dipartimento di Patologia e Diagnostica-Sezione di Microbiologia, Università di Verona, Strada Le Grazie 8 37134 Verona, Italy

In this study we investigated the compounds occurring in *Cichorium intybus* var. *silvestre* (red chicory) in order to verify their potential contribution to the capability of the low molecular mass (LMM) extract components¹ to inhibit virulence-linked properties of oral pathogens, such as *Streptococcus mutans*, *Actinomyces naeslundii* and *Prevotella intermedia*²⁻⁷. The obtained results showed that in *C. intybus* a number of LMM active components occur able to interfere with growth and virulence traits of oral pathogens responsible for gingivitis and tooth decay. Among these we focused our attention on oxalic, succinic, shikimic and quinic acids identified using HPLC-DAD-ESI-MS/MS. Overall, succinic acid and quinic acid seem to possess the highest potential as regards anti-caries and anti-gingivitis activity. Since their activity *in vitro* is mainly directed towards biofilm formation and disruption, it is likely that, *in vivo*, they might interfere with plaque formation that is a prerequisite for both caries and gingivitis development.

The research leading to these results has received funding from the European Union's Sixth Framework Programme (FP6) under the contract FOOD-CT-2006-036210 (Project NUTRIDENT).

References

1. Spratt, D.A. et al. *J. Biomed. Biotechnol.* **2012**, in press.
2. Shmueli, H. et al. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2012**, 23, 148-152.
3. Signoretto, C. et al. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2012**, 23, 160-167.
4. Loesche, W.J. et al. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, 14, 727-752.
5. Tanner, A. et al. *J. Clin. Periodontol.* **1998**, 25, 85-98.
6. Deng, D.M et al. *Caries Res.* **2004**, 38, 54-61.
7. Deng, D.M. et al. *Caries Res.* **2005**, 39, 216-223.
8. Pratten, J. *Curr. Prot. Microbiol.* **2007**, 6, Unit 1B.5.1-1B.

EFFETTO DEL LISATO DI GRANO SU VITALITA' E STRESS OSSIDATIVO INDOTTO DA H₂O₂ IN CACO.2.CELLS

Laura Pucci¹, Morena Gabriele¹, Rossella Russo¹, Valter Lubrano², Vincenzo Longo¹

1. Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, CNR Pisa
2. Fondazione G. Monasterio, CNR Pisa

Il ruolo salutistico dei nutraceutici è attribuibile alle loro peculiari proprietà: esercitano un'attività antiossidante, anticancerogena, migliorano il sistema immunitario e contribuiscono, quindi, ad incrementare la protezione nei confronti di diverse patologie cronico-degenerative. La ricerca biomedica, nel settore della nutrizione è oggi interessata a definire i composti più attivi della dieta ed a comprenderne i meccanismi d'azione a livello molecolare e cellulare.

Il lisato di grano, Lisosan G, integratore alimentare ricco di antiossidanti¹ è stato testato in un modello sperimentale di cellule Caco-2 nelle quali è stato indotto un processo ossidativo dal trattamento con H₂O₂.

Si tratta di una linea cellulare isolata da un'adenocarcinoma di colon umano in grado di differenziare spontaneamente, *in vitro*, esprimendo le caratteristiche morfologiche e funzionali dell'enterocita umano.

Importanti sostanze anticancerogene, quali le catechine, hanno mostrato un ruolo chiave nell'inibire la produzione di ROS nelle cellule Caco.2². Pertanto, in questo lavoro sono state studiate le proprietà *radical scavenging* del lisato di grano in un modello di cellule intestinali, Caco.2, valutando la riduzione di ROS indotti dal trattamento con H₂O₂.

L'esposizione di cellule Caco.2 ad H₂O₂ ha mostrato induzione di ROS, valutata con test fluorimetrico dopo marcatura con la sonda DCFH-DA (diclorodididrofluoresceina-diacetato) e confermata con microscopia a fluorescenza. Tale induzione è risultata dose-dipendente e correlava alla vitalità, determinata con il saggio MTT. Alla più alta concentrazione di H₂O₂ si osservava una drastica riduzione di vitalità (p<0.001).

Per valutare l'effetto antiossidante del lisato su cellule Caco.2 sono stati eseguiti esperimenti preliminari: le cellule sono state pretrattate con la concentrazione ottimale di lisato (pari a 1.4 mg/ml) per 3 ore, quindi esposte ad H₂O₂.

Alla più alta concentrazione di H₂O₂ si è osservata una riduzione di vitalità cellulare anche in presenza di pretrattamento con lisato. Alle concentrazioni intermedie il pretrattamento con il lisato ha consentito una significativa riduzione di ROS cellulari (p<0.05) e, parallelamente, un aumento di vitalità rispetto alle colture trattate con la sola H₂O₂.

Il modello sperimentale da noi proposto ha permesso di valutare l'azione protettiva del lisato di grano sul danno ossidativo indotto dal H₂O₂ in cellule intestinali Caco.2.

Studi di espressione genica, volti a dimostrare l'effetto sulla modulazione degli enzimi antiossidanti, in particolare catalasi, superossidodismutasi e glutationeperossidasi, sono attualmente in corso.

Se i risultati confermassero un ruolo significativo del lisato nel proteggere le cellule della linea intestinale umana Caco-2 dagli effetti tossici dei radicali liberi, si può ipotizzare che la supplementazione della dieta con il lisato potrebbe esercitare un effetto benefico nella prevenzione delle patologie intestinali associate allo stress ossidativo.

Bibliografia

1. Longo, V. et al. *Biotechnol. Lett.* **2007**, 29, 1155-1159.
2. Ramos, S. et al. *Toxicol in vitro* **2011**, 25, 1771-1781.

METODI ANALITICI PER LA DETERMINAZIONE DI COMPOSTI NUTRACEUTICI IN INTEGRATORI ED ALIMENTI A BASE DI SOIA

Maria Addolorata Saracino, Emanuele Morganti, Francesca Bugamelli, Nadia Ghedini, Maria Augusta Raggi

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

La soia (*Glicine maxima*) è una pianta annuale della famiglia delle leguminose, i cui semi oleaginosi, oltre ad essere particolarmente ricchi in proteine e lipidi dal valore altamente nutrizionale, possiedono numerose altre proprietà benefiche per l'uomo per la presenza di micronutrienti dall'elevato potere nutraceutico. In Asia la soia è impiegata da millenni nell'alimentazione sotto forma di prodotti tradizionali (es. germogli, latte, tofu e miso); la coltivazione della soia e il suo utilizzo come alimento si sono però sviluppati anche in America ed in epoca più recente in Europa grazie al fenomeno della globalizzazione.

L'interesse della ricerca scientifica nei confronti dei derivati della soia si basa sulle osservazioni epidemiologiche che hanno evidenziato una minore incidenza di disturbi climaterici e di tumori mammari, uterini e intestinali nelle popolazioni orientali, la cui dieta giornaliera è molto ricca in alimenti a base di soia¹. Tali studi hanno dimostrato che responsabili di questi effetti benefici sono alcuni fitoestrogeni, ovvero gli isoflavoni della soia, in particolare daidzeina, genisteina e gliciteina. Pertanto, gli estratti di soia rientrano nella composizione di molti integratori alimentari che sono utilizzati allo scopo di eliminare o ridurre i sintomi spiacevoli della menopausa tra cui vampate di calore, insonnia, affaticabilità, nervosismo e aumento di peso. In aggiunta agli effetti positivi sulla menopausa, gli isoflavoni della soia sembrano ridurre il rischio di malattie cardiovascolari, avere potenti proprietà antiossidanti (soprattutto genisteina e daidzeina), paragonabili alla vitamina E, ed essere utili a combattere l'osteoporosi².

L'abbondanza sul mercato di prodotti a base di soia (integratori e prodotti alimentari) determina la necessità di procedere ad un loro accurato controllo di qualità al fine di evidenziare possibili adulterazioni.

A tal fine nel Laboratorio di Analisi Farmaco-Tossicologica si sono sviluppati alcuni metodi HPLC e CE per l'analisi dei principali isoflavoni della soia (genisteina, daidzeina e gliciteina) che permettono di identificare e quantificare i composti di interesse in maniera accurata e precisa. Tali metodi si stanno ora applicando all'analisi degli isoflavoni (glicosidi e agliconi) in integratori, alimenti e derivati a base di soia (fagioli, germogli, yogurt, latte, salsa). Inoltre, sarà valutato in vitro il potere antiossidante sia dei singoli componenti che degli alimenti in toto.

Bibliografia

1. McCue, P. et al. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2004**, 44, 361–367.
2. Wei, P. et al. *Asian Pac J Trop Med.* **2012**, 5, 243-248.

GLYCEMIC INDEX AND BLOOD PRESSURE IN TYPE 2 DIABETES

Korbua Srichaikul^{1,2,3}, Amy Jenkins^{1,2,4}, Stephanie Nishi^{1,2}, Duncan Cushnie^{1,2}, Cyril Kendall^{1,2,5}, David Jenkins^{1,2,6}

¹Department of Nutritional Sciences, Faculty of Medicine, University of Toronto FitzGerald Building, 150 College Street, Toronto, ON, Canada M5S3E2

² Clinical Nutrition & Risk Factor Modification Center; Division of Endocrinology and Metabolism, St. Michael's Hospital, 61, Queen St. East, Toronto, ON, M5C3E2, Canada

³Undergraduate Medical Education, University of Ottawa, Faculty of Medicine, 451 Smyth Rd, Ottawa, Ontario Canada, K1H 8M5

⁴Department of Psychology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada, N1G2W1

⁵College of Pharmacy and Nutrition, University of Saskatchewan, 110 Science Place, Saskatoon, Saskatchewan, S7N5C9, Canada

⁶Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Toronto, 1 King's College Circle, Toronto, Ontario, M5S 1A8

Background: Strategies to reduce the glycemic index of the diet including pharmacological interventions such as acarbose have been associated with lower blood pressure. The effects of dietary glycemic index change have not been well documented. We therefore assessed the influence of dietary glycemic index on the blood pressure response.

Methods: In this secondary analysis, 155 type 2 diabetes patients were randomized and completed high fibre (n= 75) or low glycemic index diets (n= 80) of 6 month duration. Blood pressure measurements (n=155) were made throughout the study. 24h urine collections (n=150) were made at the start and the end of the study.

Results: Both low glycemic index and high fibre diets significantly lowered systolic (SBP) ($p < 0.001$ for both) and diastolic blood pressure (DBP) ($p < 0.001$ for both) when the average blood pressure values throughout the study were compared to the pre-study value (i.e. screening and baseline values). Low glycemic index diet significantly lowered DBP by -2 mmHg (95% CI: -4 to 0 mmHg) relative to the high fibre diet ($p = 0.043$). Only among participants with SBP > 130 mmHg, the low glycemic index diet (n=32) significantly lowered SBP and DBP compared to the high fibre (n=29) (-5 mmHg, $p = 0.049$ and -4 mmHg, $p = 0.021$). Urinary sodium loss as a marker of dietary sodium intake significantly related to SBP in the whole study population ($r = 0.17$, $n = 150$, $p = 0.038$) but only in the low glycemic index diet, did the association remain significant ($r = 0.25$, $n = 75$, $p = 0.031$).

Conclusion: Low glycemic index diet significantly lowered blood pressure in type 2 diabetes.

Funding: Funded by CIHR (Canada) and Barilla (Italy)

GRADIMENTO SENSORIALE DELL'OLIO EXTRAVERGINE E SOSTANZE FUNZIONALI: UN PERCORSO DA COSTRUIRE

Federica Tesini¹, Enrico Valli², Sara Barbieri², Giuseppe Di Lecce², Alessandra Bendini², Tullia Gallina Toschi²

¹ Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali; Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Via Selmi 3, 40126 Bologna

² Dipartimento di Scienze degli Alimenti; Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Piazza Goidanich 60, 47521 - Cesena (FC)

L'olio extravergine di oliva è un ingrediente fondamentale della dieta Mediterranea¹. E' stato dimostrato come abbia un effetto protettivo sulla salute, poiché in grado di limitare e prevenire l'incidenza di patologie cardiocircolatorie e neoplastiche e di modulare la risposta immunitaria ed infiammatoria. Studi recenti dimostrano come diete ricche in composti fenolici presenti dell'olio d'oliva, siano in grado di aumentare *in vivo* la resistenza all'ossidazione del colesterolo LDL².

Le sostanze fenoliche dell'olio, anche dette biofenoli, hanno caratteristiche sensoriali, l'amaro ed il piccante, che sono riportate nei regolamenti europei (Reg. CEE 2568/91 e successive modifiche Reg. CE 25640/08) come attributi positivi.

A tutt'oggi, la maggior parte dei consumatori non è a conoscenza del ruolo di tali attributi nell'extravergine d'oliva. E' stato infatti dimostrato come la loro intensità sia proporzionalmente correlata alle concentrazioni dei composti fenolici, principalmente derivati dell'oleuropeina, molecola, quest'ultima, che si forma naturalmente per esterificazione dell'idrossitirosole con acido elenolico.

L'oleuropeina è un potente antiossidante, in grado di agire da *scavenger*, nei confronti dei radicali liberi. Questa molecola, come altre congeneri, vanta inoltre attività di tipo antimicrobico (in particolare nei confronti di batteri responsabili di infezioni del tratto respiratorio ed intestinale) ed immunomodulatorio¹.

Secondo una ricerca svolta dal nostro gruppo in supermercati italiani, soltanto il 20-30% dei consumatori apprezza le caratteristiche di amaro e piccante degli oli extravergini, mentre la maggior parte predilige oli cosiddetti "dolci". Gran parte dei consumatori, pur dichiarando di conoscere il significato dell'attributo sensoriale primario dell'olio, ossia il "fruttato", non riconosce le caratteristiche organolettiche degli oli di qualità³.

Bibliografia

1. Bendini, A. et al. *Molecules* **2007**, Vol.12, 1679-1719.

2. Visioli, F. et al. *Food & science nutrition* **2011**, Vol. 51, 524-546.

3. Delgado, C. e Guinard, J-X. *Food Quality and Preference* **2011**, Vol. 22 (2), 213-225.

IN-CELL WESTERN ASSAY: A NEW APPROACH TO STUDY THE HYPOCHOLESTEROLEMIC EFFECTS OF FOOD COMPONENTS AT HEPG2 CELL LINE

Carmen Lammi, Chiara Zanoni, Anna Arnoldi

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano, Via Mangiagalli 25 - 20133 Milano

Cardiovascular disease, such as atherosclerosis and coronary heart disease, is a leading death cause in the developed world. Significant research efforts focusing on the prevention and treatment of this disease have identified elevated plasma cholesterol as primary risk factor for cardiovascular disease. In particular, the low density lipoprotein (LDL) receptor (LDLR) is a transmembrane glycoprotein that plays a pivotal role in the binding and endocytosis of circulating LDL increasing its plasma clearance. In literature, it is widely recognized that the LDLR pathway could be implicated in the hypocholesterolemic activity of several food components, such as plant proteins (soy^{1,2}, lupin^{3,4}) and polyphenols (resveratrol⁵) via the activation of transcription factors and the expression of lipogenic enzymes. In particular, the transcription factor Sterol Regulatory Element Binding Protein (SREBP) Pathway is directly involved in the expression regulation of some lipogenic enzymes, such as LDLR and 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase (HMG-CoA reductase). The aim of the present work is the development of the In-Cell Western (ICW), a novel quantitative colorimetric cell-based technique, in order to screen and to evaluate in a throughput way the effects of lupin bioactive peptides on the LDLR-SREBP2 pathway. In particular, the ICW has been optimized and validated at HepG2 cell line using lovastatin as known reference compound. The ICW optimization is a multi step process in which different parameters and conditions have been standardized at HepG2 cells. Experiments have been performed in 96-well plate format using fixed cells in order to establish the right conditions in which lovastatin is able to properly stimulate LDLR. This optimized method will be used for the studying the effects of food components. Results demonstrated that the ICW optimization and validation have provided a robust, reproducible, and easy to use assay that will permit to study the functionality of plant peptides, such as lupin bioactive peptides through the detection and quantification of LDLR protein level directly in the HepG2 cells.

“Funded by the European Union’s PF72007/2013 managed by REA under grant agreement n°[285819]”

References

1. Lovati MR. et al. *J Nutr.* **2000**, 130, 2543-2549.
2. Torres N. et al. *J Nutr Biochem.* **2006**, 17, 365-373.
3. Sirtori CR. et al. *J Nutr.* **2004**, 134, 18-23.
4. Bettzieche A. *Br J Nutr.* **2008**, 99, 952-962.
5. Takuya Y. et al. *Atherosclerosis* **2012**, 220, 369-384.

EUROPEAN PROJECT LUPICARP “INNOVATIVE FUNCTIONAL FOODS BASED ON SWEET LUPIN PROTEIN FOR CARDIOVASCULAR PREVENTION”

Anna Arnoldi

Department of Pharmaceutical Sciences, University of Milan

Seeds of *Lupinus albus* (white lupin) have been used as food by the Mediterranean populations for over 3,000 years. Other lupin species like the narrow leaf lupin (*L. angustifolius*) and the yellow lupin (*L. luteus*) are used for food as well. The high protein content (about 35-40 %) indicates that lupin has the potential to become a useful source of protein ingredients to be exploited in replacement for milk, egg, or soybean proteins. Lupin has some characteristics that may be positively considered by consumers and food industry: the content of antinutritional factors is lower than in other legumes, the level of phytoestrogens is negligible, the bean-like flavor is rather faint and no genetically modified varieties are commercially available. Other favorable features are related to their key technological functionalities, i.e. capability of stabilizing emulsions and foams, and the cost optimization.

The objective of the project LUPICARP is to assess the health benefits on dislipidemia prevention of innovative food products based on lupin proteins. The core research activity is the implementation of a multicenter randomized dietary intervention study with LDL-cholesterol as main end-point aimed to compare the hypolipidemic effect of lupin proteins vs. animal proteins. Other specific activities are dedicated to study the lupin protein profiles in the food products. Inflammatory and metabolic markers are analyzed and a specific investigation will assess the change in cholesterol metabolism. The project include also product development and optimization, with particular reference to the nutrition profiles, since this is a requirement of the health claim approval.

The composition of the LUPICARP consortium ensures that all necessary scientific, technical and managerial competences and roles required for the success of the project are adequately covered. The LUPICARP consortium is composed of 11 members: five lupin food manufacturers Dominae Trading SRL (SME), De Korte Weg BV (SME), Meatless BV (SME), Natural Crunch SL (SME) and Alimentos Funcionales y de Origen Traditional SL (SME); one lupin ingredient producer Terrena; and five RTD performers Universita' degli Studi di Milano, Azienda Ospedaliera Ospedale Niguarda Ca' Granda, Helsingin Yliopisto, Rijksuniversiteit Groningen and HPF-Nutraceuticals SRL. Web-site: www.lupicarp.eu.

EU PROJECT LUPICARP “INNOVATIVE FUNCTIONAL FOODS BASED ON SWEET LUPIN PROTEIN FOR CARDIOVASCULAR PREVENTION”: PROTEIN ANALYSIS OF LUPIN BASED FOODS

Graziana Maria Scigliuolo¹, Donatella Resta¹, Giovanna Boschin², Anna Arnoldi^{1,2}

1. HPF Nutraceutics s.r.l., Via Balzaretti 9, 20133 Milan, Italy
2. Laboratory of Food Chemistry and Mass Spectrometry, Department of Pharmaceutical Sciences, Via Mangiagalli 25, University of Milan, 20133 Milan, Italy

The use of ingredients from lupin seeds in food formulation is increasing due to its useful nutritional¹ and technological properties², and health benefits, e.g. hypocholesterolemic³ and antihypertensive⁴. Although four lupin species have been domesticated in Europe, the commercialized ingredients mostly derive from *L. albus* (white lupin) and *L. angustifolius* (narrow-leaf lupin).

Total protein extracts (TPEs) from lupin seeds of white lupin and narrow-leaf lupin were already analyzed in our laboratory by 2D electrophoresis coupled with mass spectrometry analysis of tryptic peptides⁵, and by HPLC. The analysis of TPEs showed the principle storage proteins, α conglutin, β conglutin, γ conglutin and δ conglutin, and revealed differences among the globulins of the two species.

Within the European project LUPICARP, specific activities have been dedicated to the study of lupin protein profiles in food products.

TPEs from foods produced by SMEs involved in the project (Dominae Trading s.r.l., Meatless BV, Alimentos Funcionales y de Origen Traditional SL) were analysed by SDS-PAGE and HPLC. In particular three imitation lupin meat products, two desserts and one lupin flakes product were analyzed.

Food protein profiles were compared with that of raw seeds of *L. albus* and *L. angustifolius*.

1-DE gels showed differences in conglutins between lupin based foods and seeds, and differences among foods. In each food product, part of lupin conglutins are preserved and part are totally or partially degraded.

TPEs from food products were analysed also by anion exchange liquid chromatography and the chromatographic profiles were compared with lupin seeds ones. The results obtained by this technique confirmed the partial degradation of the lupin conglutins in food products.

References

1. Sujak, A. et al. *Food Chem* **2006**, *98*, 711-719.
2. D'Agostina, A. et al. *J Agric Food Chem* **2006**, *54*, 92-98.
3. Sirtori, C.R. et al. *J Nutr* **2004**, *134*, 18-23.
4. Pilvi, T.K. et al. *J Physiol Pharmacol* **2006**, *57*, 167-176.
5. Wait, R. et al. *J Agric Food Chem* **2005**, *53*, 4599-4606.

EU PROJECT LUPICARP “INNOVATIVE FUNCTIONAL FOODS BASED ON SWEET LUPIN PROTEIN FOR CARDIOVASCULAR PREVENTION”: EVALUATION OF QUINOLIZIDINE ALKALOIDS CONTENT IN LUPIN BASED FOODS

Donatella Resta¹, Graziana Maria Scigliuolo¹, Anna Arnoldi^{1,2}, Giovanna Boschin²

1. HPF Nutraceutics s.r.l., Via Balzaretti 9, 20133 Milan, Italy
2. Laboratory of Food Chemistry and Mass Spectrometry, Department of Pharmaceutical Sciences, University of Milan, Via Mangiagalli 25, 20133 Milan, Italy

The objective of the EU project LUPICARP is to assess the health benefits on dislipidemia prevention of innovative food products based on lupin proteins; in this view it is important to assure the safety of ingredients and lupin foods.

In particular this work regards the evaluation of total quinolizidine alkaloids (QAs) content, the main anti-nutritional compounds of lupin seeds.

QAs are secondary metabolites synthesized in plants of the genus *Lupinus* as a defense against predators and represent the most important safety issue of lupin products^{1,2}. QAs are synthesized in vegetative parts of the plant and then transported via phloem to all plant parts, seeds included. They confer unpalatability and bitter taste to the seeds and, at high doses, are toxic, showing a moderate acute oral toxicity due to neurological effects leading to the loss of motor co-ordination and muscular control³.

QAs are typical of each lupin species, being generally lupanine the main one².

In order to estimate the current exposition to these components, the QAs were quantified in different model foods produced within the LUPICARP project by Dominae Trading s.r.l., Meatless BV, Alimentos Funcionales y de Origen Traditional SL. In particular three imitation lupin meat products, two desserts and one lupin flakes product were analyzed. The identification of single alkaloids and their quantitation was performed by GC-MS using a method optimized in our laboratory and reported elsewhere^{4,5}.

The results are in good agreement with literature data⁴ and all products respect the maximum limit of 200 mg/kg fixed by the Health Authorities of Australia, New Zealand, Great Britain and France for the human consumption^{3,6,7}.

References

1. Wink, M. Chemical ecology of alkaloid. In: Alkaloid: biochemistry, ecology, and medicinal application, Roberts M.F., Wink M. eds., **1998**, New York, 265-300.
2. Boschin, G., Resta, D. Alkaloids derived from lysine: quinolizidine, a focus on lupin alkaloids. In: Handbook of natural products: alkaloids, phenolics and terpenes, Ramawat K.G., Merillon J.M. eds., Springer, **2012**, in press.
3. Australia New Zealand Food Authority. Lupin alkaloids in food. A toxicological review and risk assessment, Techn. Rep. Series 3. **2001**, 1-21.
4. Resta, D. et al. *Mol Nutr Food Res* **2008**, *52*, 490-495.
5. Boschin, G. et al. *J Agric Food Chem* **2008**, *56*, 3657-3663.
6. Bulletin Officiel n°98/27 du Conseil superieur d'hygiene publique de France, **1998**.
7. ACNFP Report on seeds from narrow leafed lupin, Appendix IX, MAFF Publications, London, GB, **1996**, 107.

NUTRACEUTICS FROM CYANOBACTERIA AND MICROALGAE

Agnese Cicci, Marco Stoller and Marco Bravi

Dipartimento Ingegneria Chimica Materiali Ambiente (DICMA), Sapienza Un. di Roma
v. Eudossiana, 18; 00184 Roma

Arthrospira platensis (Spirulina) has been declared by WHO one among the greatest superfood being in itself a wealth of completeness and a treasure of desirable nutritional and health-providing properties. A recent review¹ concludes that *A. platensis* shows potent immune stimulating effects, anti-viral activity against a variety of harmful viruses, cancer preventative and therapeutic activity against a number of tumors, beneficial activity towards a range of cardiovascular issues, including the improvement of blood lipid profiles, the control of hypertension, and preventative activity against atherosclerosis.

Such nutraceutical potential could be further exploited by boosting productivity by exploiting *A. platensis* mixotrophic nature, by adopting specially conceived photobioreactors that deploy fast dark-light cycles², by reducing the circulatory hydrodynamic stress³ experienced by the cyanobacterial suspension and the biofouling⁴ on biomass separation membranes. Specific target fractions may be enhanced by appropriate culture and process management techniques.

At DICMA the research centred on *Arthrospira platensis* has several aims, among which:

- Experimental characterization of mixotrophic and phototrophic growth: molecular compounds screening (carbohydrates, proteins, carotenoids and antioxidant molecules) to study the correlation between experimental conditions and activation of metabolisms.
- Extraction and qualitative/quantitative analysis of key compounds: analysis and comparison between developed and commercial products.
- Photobioreactor development: enhancement of axenic biomass growth rate by using optimised hydrodynamic streams which create optimised light:dark microcycles. Our research deploys a specially devised model to provide optimised lighting conditions for the autotrophic growth of cyanobacteria.
- Downstream biomass separation: by optimised cross-flow membrane processing.

References

1. Capelli B et al., *Nutrafoods* **2010**, 9 (2) 19--26.
2. Torzillo G et al., *Chem Eng Trans* **2010**, 20, 265—270.
3. Scarsella M et al., *Proc Biochem* (**in press**).
4. Stoller M et al., *Desalination* **2010**, 250, 578--582.