



1° Congresso Nazionale

Nutrigenomica e Alimentazione

Approcci omici e metodologie di gestione integrata dei dati molecolari e clinici

Bari | 12-13 Ottobre 2018 | Palace Hotel Bari

Abstract

Book

Alimenti funzionali e nutraceutici: biomarcatori, medicina integrata e personalizzata

Marcella Renis¹

¹Dipartimento Scienze del Farmaco, Università di Catania

Il benessere individuale è legato allo stile di vita, inclusi dieta ed attività fisica, alla “cura” che si ha del proprio microbiota, in particolare quello intestinale, alle interazioni tra genetica, epigenetica e microbioma, alla conoscenza e gestione di alcuni bisogni metabolici, tra tanti la vit.D con il suo metaboloma, lo stato del “one carbon cycle”, da qualche anno oggetto di nostre ricerche.

I diversi componenti della dieta umana ed i loro metaboliti, utili e/o tossici, la carenza o l'eccesso di nutrienti, l'uso di integratori, possono interferire con l'espressione genica e le funzioni cellulari, modulando il normale metabolismo, prevenendo, migliorando patologie o contribuendo al loro sviluppo. Alcune tra queste, tipiche del nuovo millennio, sono correlabili alla transizione nutrizionale da diete tradizionali a quelle con alimenti altamente industrializzati, trasformati e a bassa diversità di nutrienti.

Pertanto ricercatori, clinici, nutrizionisti, diverse *company*, *media* e singoli cittadini, oggi si confrontano con:

- alimenti nutraceutici, i cui nutrienti hanno effetti benefici sulla salute, contengono composti bioattivi che, se estratti, vengono utilizzati per produrre integratori alimentari, spesso come fitocomplessi con: polifenoli, carnitina, sulforafano, resveratrolo, glucosamina, licopene, etc.; alcuni da noi testati *in vitro* ed *in vivo* (1-5). I nutraceutici includono anche prebiotici e probiotici;
- alimenti funzionali, ossia cibi veri e propri, anche fortificati, arricchiti e/o sostituiti, con effetti positivi su una o più funzioni specifiche dell'organismo;
- la medicina integrata, che, fortemente centrata sulla persona, utilizza con oculatazza opportuni alimenti e/o integratori, senza escludere nessun tipo di ulteriore intervento. Essa si muove nell'ottica sia del piano di sviluppo 2014-2023 dell'Assemblea Mondiale della Sanità (WHA62.13), che ha proposto, per tutti gli stati membri, politiche proattive che rafforzino, per il benessere dei cittadini, il ruolo svolto dalla medicina tradizionale; sia delle recenti Linee di indirizzo del Ministero della Salute sui percorsi nutrizionali per i pazienti oncologici.

La vera sfida con cui oggi i ricercatori, i medici ed i nutrizionisti devono confrontarsi è valutare fino a che punto la relazione cibo-benessere correli o meno, nel singolo, con altri fattori: ambientali, genetici, epigenetici e diversità del microbiota. Questo ha portato all'impiego della nutrigenetica e della nutrigenomica, ma anche alla necessità di un utilizzo sempre più responsabile e appropriato dei biomarcatori. In particolare di nuovi biomarcatori, predittivi, preventivi e di esposizione ai diversi nutrienti, ai fitocomplessi e ad eventuali xenobiotici ad essi correlabili, per definire la relazione causa effetto, dimostrare il potenziale benefico di un prodotto/ingrediente/composto bioattivo, migliorare diagnosi, prognosi e definire interventi personalizzati (6-7).

Infatti, alcuni metaboliti propri delle piante, bioaccessibili, non sono sintetizzati dall'uomo ma possono diventare parte del metaboloma ematico e/o urinario (e non solo) umano, quindi essere rilevati come biomarcatori di esposizione. Infatti, nel *Human Metaboloma database* (hmdb.ca) sono presenti oltre 40,000 composti endogeni, esogeni/xenobiotici, microbici, biotrasformati.

Nell'esaminare l'efficacia di fitocomplessi bisogna anche considerare che i singoli composti generano metaboliti finali circolanti differenti per concentrazione, composizione e attività, a seconda che siano assunti tal quali o in mescolanza e sono bioattivi in modo altamente variabile nei singoli individui. Gli attuali studi di nutridinamica, un approccio sistemico analogo alla farmacodinamica, possono fornire un contributo importante alla conoscenza di tali effetti.

Inoltre, quando si esaminano gli effetti di alimenti/nutrienti/composti bioattivi assunti in combinazione o meno, andrebbe considerato il metodo di cottura utilizzato, poiché esso può

influenzare il contenuto dei nutrienti, la biodisponibilità e quindi l'effetto fisiologico, dando, poi, degli errori di valutazione analitico- diagnostica-terapeutica.

Le tecnologie "omiche", come la genomica, la trascrittomica, la proteomica, la metabolomica, la foodomica, le tecniche NGS con l'analisi dell'esoma e la metagenomica del microbioma, opportunamente utilizzate e accoppiate a strumenti statistici e *tools* bioinformatica, hanno un grande potenziale per la comprensione del ruolo di biomarcatori selezionati in contesti clinici diversi, come da noi osservato in alcune patologie neurocomportamentali (8). Esse consentono di mappare i rapporti dei biomarcatori con l'assunzione di farmaci/integratori/nutrienti, di rilevare interazioni con esami biochimico-clinici di *routine* e dati di *imaging*, promuovendo l'applicazione della medicina personalizzata.

Referenze

- 1 Tomasello B, Di Mauro MD, Acquaviva R, Liuzzo M T, Liuzzo A, Sbisà E, Forte MG, Bonucci M and Renis M. Effects of sulforaphane and myrosinase blend on human astrocytoma cells. IX Congresso Internazionale di Oncologia Integrata ARTOI, Firenze, 23-25 Marzo 2018
- 2 Tomasello B, Grasso S, Malfa G, Stella S, Favetta M and Renis M. Double-face activity of resveratrol in voluntary runners: assessment of DNA damage by comet assay. *J Med Food*. 2012;15(5):441-447.
- 3 Di Giacomo C, Acquaviva R, Sorrenti V, Vanella A, Grasso S, Barcellona ML, Galvano F, Vanella L and Renis M. Oxidative and antioxidant status in plasma of runners: effect of oral supplementation with natural antioxidants. *J Med Food*. 2009;12(1):145-50.
- 4 Renis M, Calandra L, Scifo C, Tomasello B, Cardile V, Vanella L, Bei R, La Fauci L and Galvano F. Response of cell cycle/stress-related protein expression and DNA damage upon treatment of CaCo2 cells with anthocyanins. *Br J Nutr*. 2008; 100(1):27-35.
- 5 Scifo C, Milasi A, Guarnera A, Sinatra F and Renis M. Resveratrol and propolis extract: an insight into the morphological and molecular changes induced in DU145 cells. *Oncol Res*. 2006;15(9):409-21.
- 6 Dhurandhar NV, Schoeller D, Brown AW, Heymsfield SB, Thomas D, Sørensen TI, Speakman JR, Jeansonne M, Allison DB and Energy Balance Measurement Working Group. Energy balance measurement: when something is not better than nothing. *Int J Obes* 2015;39(7):1109-1113.
- 7 Taberner Urbietta M and Serrano JCE. Biomarkers for the evaluation of intake of phytochemicals and their bioactive effect. *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*. 2nd Edition (2018) Vol. 1- pg 595-608; Ed. Elhadi M. Yahia.
- 8 Marzio Pennisi et al. BIOESOnet: A Tool for the Generation of Personalized Human Metabolic Pathways from 23andMe Exome Data (&) Springer Intern. Publ. AG, part of *Springer Nature* 2018. D.-S. Huang et al. (Eds.): ICIC 2018, LNCS 10955, pp. 1–8, 2018.

L'alimentazione nella moderna gestione del paziente con malattie neuroinfiammatorie croniche

Paolo Riccio¹ e Rocco Rossano¹

¹Dipartimento di Scienze, Università della Basilicata, 85100 Potenza

Il ruolo dell'alimentazione nelle malattie infiammatorie croniche del Sistema Nervoso Centrale (SNC) è stato trascurato per molti anni ed è tuttora oggetto di opinioni contrastanti. Il prerequisito perché si abbia un danno a livello del SNC a causa di una errata alimentazione è che questa procuri la rottura della barriera emato-encefalica (BEE). È nostra opinione che la rottura della BEE possa essere conseguente alla precedente rottura di un'altra barriera, quella intestinale, a sua volta determinata dalle abitudini alimentari pro-infiammatorie. La dieta può avere infatti un'azione pro-infiammatoria o anti-infiammatoria. Semplificando, possiamo avere:

- 1) La dieta W ("Western"), ipercalorica, "carnivora" e pro-infiammatoria, basata sull'assunzione di acidi grassi saturi e trans, carni rosse e insaccati, zuccheri semplici e carboidrati raffinati (con poche fibre), bevande zuccherate, sale, e alimenti "lavorati" industrialmente;
- 2) La dieta V, vegetariana e anti-infiammatoria, basata sull'assunzione di verdure crude e cotte, frutta fresca e secca, cereali, ortaggi, legumi, pesce, acqua, tè, caffè, latte e yogurt scremati, molta fibra e poco glutine.

L'azione pro- o anti-infiammatoria di specifici alimenti può essere diretta, ed esercitarsi su enzimi o fattori di trascrizione del nostro metabolismo favorendo il catabolismo (anti-infiammatorio) o l'anabolismo (pro-infiammatorio), oppure indiretta, e modificare il nostro microbiota intestinale verso la disbiosi o l'eubiosi. La disbiosi è collegata a uno squilibrio del microbiota intestinale, a una minore biodiversità microbica e a una maggiore permeabilità della barriera intestinale. L'eubiosi corrisponde invece alla condizione in cui c'è equilibrio fra le diverse popolazioni microbiche, alta biodiversità e barriera intestinale integra. La disbiosi e la conseguente infiammazione intestinale sono le premesse fondamentali per la diffusione dell'infiammazione a livello neurologico. A causa della disbiosi e della rottura della barriera intestinale, si riversano in circolo molecole come l'LPS batterico, cellule e molecole immunocompetenti pro-infiammatorie, batteri del microbiota intestinale e anche molecole alimentari non completamente digerite. Ciò determina l'infiammazione sistemica e può portare alle malattie infiammatorie croniche del nostro tempo. La persistenza dell'infiammazione sistemica può portare alla rottura della barriera emato-encefalica (BEE), con conseguente attivazione degli astrociti e delle cellule microgliali e successiva compromissione della guaina mielinica e/o della funzionalità neuronale.

In conclusione, è la persistenza di abitudini alimentari pro-infiammatorie e non il singolo evento alimentare che determina l'infiammazione cronica. Nella gestione delle malattie neuroinfiammatorie croniche come la Sclerosi Multipla, l'Alzheimer, il Parkinson, la Sclerosi Laterale Amiotrofica, la dieta deve essere regolarmente anti-infiammatoria, ipocalorica ed essere associata all'attività fisica, anche se moderata.

Referenze

1. Riccio P, Rossano R and Liuzzi GM. May diet and dietary supplements improve the wellness of multiple sclerosis patients? A molecular approach. *Autoimmune Dis.* 2011; 2010:249842.
2. Riccio P. The molecular basis of nutritional intervention in multiple sclerosis: a narrative review. *Complement Ther Med.* 2011;19(4):228-237.
3. Riccio P and Rossano R. Nutrition facts in multiple sclerosis. *ASN Neuro.* 2015; 7(1). pii: 1759091414568185.
4. Riccio P and Rossano R. Diet, Gut Microbiota, and Vitamins D + A in Multiple Sclerosis. *Neurotherapeutics.* 2018;15:75-91.

La nutraceutica per la sindrome di Down: bersagli molecolari, effetto sul metabolismo energetico mitocondriale e implicazioni terapeutiche di polifenoli vegetali

Rosa Anna Vacca¹, Daniela Valenti¹

¹Istituto di Biomembrane, Bioenergetica e Biotecnologie Molecolari, CNR, Bari

Un'alterata espressione dei geni localizzati sul cromosoma 21 ed una conseguente disfunzionalità di specifiche vie di segnalazione cellulare portano nella sindrome di Down (sdD) ad uno sbilanciamento dell'equilibrio ossido-riduttivo, ad una ridotta funzionalità mitocondriale associata ad un deficit bioenergetico con una conseguente alterata neurogenesi e neuroplasticità [1,2]. Queste alterazioni svolgono un ruolo decisivo nelle problematiche di tipo cognitivo, comportamentale e neuropsicologico, caratteristiche di questa sindrome [1].

Non esistono attualmente terapie per migliorare il deficit intellettuale e contrastare il decadimento cognitivo ed invecchiamento precoce nella sindrome di Down.

I principi attivi naturali sono una fonte preziosa per l'individuazione di nuovi farmaci. In particolare i polifenoli di origine vegetale sono interessanti per la loro azione "multi-targets" che comprende vie metaboliche alterate in sindrome di Down, le vie di segnalazione che regolano le funzioni mitocondriali, il metabolismo dell'omocisteina/acido folico e la trasmissione GABAergica [3].

Il nostro gruppo di ricerca ha fornito numerose evidenze sperimentali, sia *in vitro* che *in vivo* dell'efficacia multifunzionale dell'epigallo catechina-3-gallato (EGCG), polifenolo del tè verde, incoraggiando il suo utilizzo terapeutico nella sindrome di Down. Abbiamo dimostrato l'efficacia dell'EGCG, nel contrastare stress ossidativo e disfunzioni mitocondriali in fibroblasti con trisomia 21 e nel ripristinare -senza effetti collaterali- alterazioni critiche della sindrome [4] anche quando somministrato ad un bambino di 10 anni [5]. L'EGCG è, inoltre, un inibitore specifico dell'attività di una proteina chinasi DYRK1A, codificata dal cromosoma 21 e deregolata in sdD, coinvolta nello sviluppo del cervello e nel controllo della plasticità neuronale [6].

In un altro studio abbiamo dimostrato l'efficacia di un altro polifenolo, il trans-resveratrolo, nel contrastare il grave deficit funzionale dei mitocondri e migliorare sensibilmente la neurogenesi adulta ippocampale in un modello murino di sindrome di Down, suggerendo che oltre all'EGCG, anche il resveratrolo potrebbe avere una potenziale azione benefica per il trattamento di alcune manifestazioni cliniche in sdD [7]. Il trans-resveratrolo (3,5,4' – triidrossistilbene) è un composto polifenolico naturale che si trova in una grande varietà di frutti rossi, prevalentemente nella buccia dell'uva rossa, induce l'espressione di geni coinvolti nella biogenesi mitocondriale, la fosforilazione ossidativa e agisce anche come modulatore dei sistemi antiossidanti cellulari attraverso il controllo di vie di segnalazione cellulare [3].

È in fase di organizzazione uno studio clinico di fase I che prevede di accertare l'innocuità dei due polifenoli in soggetti con sindrome di Down, somministrati in dosi già testate sull'uomo per integrazione alimentare, e stimarne l'efficacia su parametri di funzionalità mitocondriale, stress ossidativo, infiammazione e cognitivo-comportamentali, per un intervento farmacologico precoce e naturale in sindrome di Down.

Referenze

1. Valenti D, de Bari, L, De Filippis B, Henrion-Caude A and Vacca RA. Mitochondrial dysfunction as a central actor in intellectual disability-related diseases: an overview of Down syndrome, autism, Fragile X and Rett syndrome. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2014; 46:202-217.
2. Valenti D, Braidy N, De Rasmio D, Signorile A, Rossi L, Atanasov AG, Volpicella M, Henrion-Caude A, Nabavi SM and Vacca RA. Mitochondria as pharmacological targets in Down syndrome. *Free Radic Biol Med.* 2018; 114:69-83.

3. Vacca RA, Valenti D, Caccamese S, Daglia M, Braidi N and Nabavi SM. Plant polyphenols as natural drugs for the management of Down syndrome and related disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2016; 71:865-877.
4. Valenti D, De Rasmio D, Signorile A, Rossi L, de Bari L, Scala I, Granese B, Papa S and Vacca RA. Epigallocatechin-3-gallate prevents oxidative phosphorylation deficit and promotes mitochondrial biogenesis in human cells from subjects with Down's syndrome. *Biochim. Biophysic. Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2013; 1832: 542-552.
5. Vacca RA and Valenti D. Green tea EGCG plus fish oil omega-3 dietary supplements rescue mitochondrial dysfunctions and are safe in a Down's syndrome child. *Clin. Nutr.* 2015; 34: 783-784.
6. De la Torre R, De Sola S, Pons M, Duchon A, de Lagran MM, Farré M, Fitó M, Benejam B, Langohr K, Rodriguez J, Pujadas M, Bizot JC, Cuenca A, Janel N, Catuara S, Covas MI, Blehaut H, Herault Y, Delabar JM and Dierssen M. Epigallocatechin-3-gallate, a DYRK1A inhibitor, rescues cognitive deficits in Down syndrome mouse models and in humans. *Mol. Nutr. Food Res.* 2014; 58: 278-288.
7. Valenti D, de Bari L, de Rasmio D, Signorile A, Henrion-Caude A, Contestabile A and Vacca RA. The polyphenols resveratrol and epigallocatechin-3-gallate restore the severe impairment of mitochondria in hippocampal progenitor cells from a Down syndrome mouse model. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* 2016; 1862: 1093-1104.

Composti bioattivi della dieta nella prevenzione del cancro colon-rettale

Giulia Piazzì^{1,2}

¹Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Bologna, Bologna

²Centro Unificato di Ricerca Biomedica Applicata (CRBA), Università di Bologna, Bologna

Il cancro del colon-retto (CRC) è il terzo tumore più diffuso al mondo. In una minoranza di casi il CRC è dovuto a predisposizione genetica/ereditarietà oppure a malattie infiammatorie croniche intestinali. Nella maggior parte dei casi, invece, il CRC insorge sporadicamente.

La chemioprevenzione del CRC ha come scopo primario quello di prevenire o ritardare lo sviluppo del tumore inibendo lo sviluppo di lesioni precancerose. La dieta rappresenta uno dei principali fattori di rischio associati allo sviluppo del CRC. Numerose evidenze scientifiche hanno associato il modello dietetico occidentale ad un aumentato rischio di CRC, mentre la dieta Mediterranea (MD) e la dieta pesco-vegetariana sono state associate ad minor rischio di CRC. Specifici componenti dietetici ("bioattivi") presenti nella dieta, quali i polifenoli dell'olio extra vergine di oliva, della frutta, della verdura, le fibre, gli acidi grassi poli-insaturi omega-3, la curcumina, l'epigallocatechina gallato, sono stati proposti come agenti chemiopreventivi in grado di prevenire o ritardare lo sviluppo del CRC modulando meccanismi biologici che giocano un ruolo chiave nell'insorgenza del CRC.

Il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato gli effetti chemiopreventivi di una formulazione ultra pura di acido eicosapentaenoico, un acido grasso poli-insaturo omega-3, sullo sviluppo del CRC in modelli di CRC [1-4] e in pazienti affetti da colite ulcerosa di lunga durata [5]. Inoltre, abbiamo dimostrato che l'estratto di mela annurca [6,7], l'epigallocatechina gallato [2], l'estratto di semi d'uva [2] e l'olio extravergine di oliva [8] hanno attività chemiopreventiva in modelli di CRC.

Referenze

1. Fazio C*, Piazzì G*, Vitaglione P, Fogliano V, Munarini A, Prossomariti A, Milazzo M, D'Angelo L, Napolitano M, Chieco P, Belluzzi A, Bazzoli F and Ricciardiello L. *Inflammation increases NOTCH1 activity via MMP9 and is counteracted by Eicosapentaenoic Acid-free fatty acid in colon cancer cells. Sci Rep.* 2016; 6:20670. doi: 10.1038/srep20670. * These authors equally contributed to this work
2. D'Angelo L*, Piazzì G*, Pacilli A, Prossomariti A, Fazio C, Montanaro L, Graziani G, Fogliano V, Munarini A, Bianchi F, Belluzzi A, Bazzoli F and Ricciardiello L. *A combination of eicosapentaenoic acid-free fatty acid, epigallocatechin-3-gallate and proanthocyanidins has a strong effect on mTOR signaling in colorectal cancer cells. Carcinogenesis.* 2014;35(10):2314-20. doi: 10.1093/carcin/bgu173. Epub 2014 Aug 14. * These authors equally contributed to this work
3. Piazzì G, D'Argenio G, Prossomariti A, Lembo V, Mazzone G, Candela M, Biagi E, Brigidi P, Vitaglione P, Fogliano V, D'Angelo L, Fazio C, Munarini A, Belluzzi A, Ceccarelli C, Chieco P, Balbi T, Loadman PM, Hull MA, Romano M, Bazzoli F and Ricciardiello L. *Eicosapentaenoic acid free fatty acid prevents and suppresses colonic neoplasia in colitis-associated colorectal cancer acting on Notch signaling and gut microbiota. Int J Cancer.* 2014;135(9):2004-13. doi: 10.1002/ijc.28853. Epub 2014 Mar 28.
4. Fini L*, Piazzì G*, Ceccarelli C, Daoud Y, Belluzzi A, Munarini A, Graziani G, Fogliano V, Selgrad M, Garcia M, Gasbarrini A, Genta RM, Boland CR and Ricciardiello L. *Highly purified eicosapentaenoic acid as free fatty acids strongly suppresses polyps in Apc(Min/+) mice. Clin Cancer Res.* 2010;16(23):5703-11. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1990. Epub 2010 Oct 28. * These authors equally contributed to this work
5. Prossomariti A*, Scaioli E*, Piazzì G, Fazio C, Bellanova M, Biagi E, Candela M, Brigidi P, Consolandi C, Balbi T, Chieco P, Munarini A, Pariali M, Minguzzi M, Bazzoli F, Belluzzi A and Ricciardiello L. *Short-term treatment with eicosapentaenoic acid improves inflammation and affects colonic differentiation markers and microbiota in patients with ulcerative colitis. Sci Rep.* 2017;7(1):7458. doi: 10.1038/s41598-017-07992-1. * These authors equally contributed to this work

6. Fini L*, Piazzai G*, Daoud Y, Selgrad M, Maegawa S, Garcia M, Fogliano V, Romano M, Graziani G, Vitaglione P, Carmack SW, Gasbarrini A, Genta RM, Issa JP, Boland CR and Ricciardiello L. Chemoprevention of intestinal polyps in ApcMin/+ mice fed with western or balanced diets by drinking annurca apple polyphenol extract. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2011;4(6):907-15. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-10-0359. Epub 2011 Mar 7. * These authors equally contributed to this work
7. Fini L, Selgrad M, Fogliano V, Graziani G, Romano M, Hotchkiss E, Daoud YA, De Vol EB, Boland CR and Ricciardiello L. Annurca apple polyphenols have potent demethylating activity and can reactivate silenced tumor suppressor genes in colorectal cancer cells. *J Nutr*. 2007;137(12):2622-8. Erratum in: *J Nutr*. 2010 Jan;140(1):125.
8. Fini L, Hotchkiss E, Fogliano V, Graziani G, Romano M, De Vol EB, Qin H, Selgrad M, Boland CR and Ricciardiello L. Chemopreventive properties of pinoresinol-rich olive oil involve a selective activation of the ATM-p53 cascade in colon cancer cell lines. *Carcinogenesis*. 2008;29(1):139-46. Epub 2007 Nov 13.

Valutazione dell'attività biologica e potenziale utilizzo di estratti e composti di origine naturale come coadiuvanti in chemioterapia

Viola Calabrò¹, Felicia Sangermano¹

¹Dipartimento di Biologia Università degli Studi di Napoli Federico II Complesso di Monte S Angelo via Cinthia 80126 Napoli

Le nuove conoscenze sulle componenti fitoterapiche e nutraceutiche favoriscono un riavvicinamento tra la farmacologia tradizionale e le terapie naturali. Le piante sono una enorme risorsa di composti attivi con proprietà farmacologiche. Molteplici meccanismi sembrano essere coinvolti nel controllo della proliferazione, vitalità e differenziamento cellulare da parte delle sostanze di origine naturale. Estratti grezzi e molecole pure derivate da piante, funghi e microorganismi esplicano attività citostatica, citotossica, pro-rigenerativa o pro-differenziativa. Moderne tecniche di analisi ci hanno permesso di approfondire a livello cellulare e molecolare lo studio degli effetti di alcune sostanze naturali e di comprendere in dettaglio alcuni meccanismi molecolari della risposta cellulare a tali bioattivi. Descriveremo i dati ottenuti nel nostro laboratorio su linee cellulari trattate con estratti di *Aloe arborescens*, *Uncaria tomentosa* e *Hibiscus syriacus*. Abbiamo evidenze sperimentali che un estratto etanologico di *Hibiscus syriacus* aiuta la rigenerazione del tessuto epiteliale ed incrementa l'espressione di geni coinvolti nel determinare il grado di idratazione della pelle. Abbiamo inoltre dati che indicano che estratti grezzi di *Aloe arborescens* e della radice della pianta peruviana *Uncaria tomentosa* esercitano attività antiproliferativa su linee cellulari derivate da carcinoma squamoso della pelle. Discuteremo sul loro potenziale utilizzo come integratori di terapie farmacologiche classiche antitumorali.

Referenze

1. Ciani F, Tafuri S, Troiano A, Cimmino A, Fioretto BS, Guarino AM, Pollice A, Vivo M, Evidente A, Carotenuto D and Calabrò V. Anti-proliferative and pro-apoptotic effects of *Uncaria tomentosa* aqueous extract in squamous carcinoma cells. *J Ethnopharmacol.* 2018; 211:285-294 doi: 10:1016/j.jep.2017.09.031.
2. Di Martino O, Tito A, De Lucia A, Cimmino A, Cicotti F., Apone F, Colucci G and Calabrò V. Hibiscus syriacus Extract from an Established Cell Culture Stimulates Skin Wound Healing. *Biomed Res Int.* 2017; 7932019. doi: 10.1155/2017/7932019.

Le acquaporine come nuovi target molecolari dell'azione bioattiva di fitocomposti

Marianna Ranieri¹, Annarita Di Mise¹, Graziana Difonzo², Mariangela Centrone¹, Maria Venneri¹, Francesco Caponio², Giovanna Valenti¹, Grazia Tamma¹

¹Dipartimento di Bioscienze Biotecnologie e Biofarmaceutica, Università degli Studi di Bari Aldo Moro

²Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari Aldo Moro

Nel corso degli ultimi anni, studi scientifici hanno evidenziato il ruolo benefico esercitato da numerosi fitocomposti sulla salute dell'uomo. I benefici per la salute sono spesso associati alle loro proprietà antiossidanti e antinfiammatorie e, più in generale, alla loro capacità di modulare importanti vie di segnalazione cellulare. [1] Pertanto, diversi fitocomposti, con comprovata azione biologica, vengono impiegati per migliorare alcune condizioni patologiche croniche come l'ipercolesterolemia e l'ipertensione.

I canali per l'acqua, acquaporine (AQPs), sono tra i target molecolari di numerosi fitocomposti. [2] Le AQPs sono proteine integrali di membrana espresse in molti organi e tessuti e implicate nel trasporto di acqua e piccoli soluti. L'acquaporina-2 (AQP2) è espressa nel rene in cellule principali del dotto collettore renale. L'AQP2 interviene nel controllo del bilancio idrico dell'organismo in quanto è regolata dall'azione dell'ormone antidiuretico vasopressina che promuove, attraverso una via di segnalazione dipendente dall'AMPC, l'espressione e la traslocazione dell'AQP2 da un pool vescicolare verso la membrana apicale, dove l'acqua viene quindi riassorbita.

Nella medicina tradizionale, l'infuso ottenuto con foglie d'olivo veniva consigliato per la cura dell'ipertensione in quanto promuoveva una copiosa diuresi. Nel nostro team di ricerca ci occupiamo di studiare i meccanismi molecolari che regolano il riassorbimento di acqua mediato dall'AQP2. [3] Le cellule di topo MCD4, stabilmente trasfettate con il gene codificante l'AQP2 umana, sono state impiegate come modello sperimentale. Attraverso esperimenti di microscopia confocale è stato dimostrato che un estratto ottenuto da foglie d'olivo della cultivar *Coratina* (OLE), determinava una riduzione dell'espressione apicale dell'AQP2 dopo il cotrattamento con l'ormone antidiuretico. Studi funzionali hanno dimostrato che il cotrattamento con l'OLE e la vasopressina determinava una significativa riduzione della permeabilità all'acqua, rispetto alle cellule trattate con la sola vasopressina, in cui il riassorbimento era massimale. Attraverso esperimenti di FRET (**F**luorescence **R**esonance **E**nergy **T**ransfer) è stato evidenziato che l'OLE riduceva i livelli di AMPc indotti da vasopressina. Pertanto, questo studio dimostra che l'OLE esercita un'azione diuretica attraverso la modulazione dei livelli cellulari di AMPc, fondamentali per promuovere la via di segnalazione che comporta la traslocazione dell'AQP2 verso la membrana apicale dove l'acqua viene quindi riassorbita.

Referenze

1. Boss A, Bishop KS, Marlow G, Barnett MP and Ferguson LR. Evidence to Support the Anti-Cancer Effect of Olive Leaf Extract and Future Directions. *Nutrients*. 2016; 8(8): pii: E513.
2. Tamma G, Valenti G, Grossini E, Donnini S, Marino A, Marinelli RA and Calamita G. Aquaporin Membrane Channels in Oxidative Stress, Cell Signaling, and Aging: Recent Advances and Research Trends. *Oxid Med Cell Longev*. 2018; 2018:1501847.
3. Tamma G, Procino G, Svelto M and Valenti G. Cell culture models and animal models for studying the patho-physiological role of renal aquaporins. *Cell Mol Life Sci*. 2012; 69(12):1931-46.

A dieta di RNA: microRNA di piante regolano la proliferazione di cellule tumorali umane

Flaviana Marzano^{1,2}, Mariano Francesco Caratozzolo¹, Arianna Consiglio¹, Daniela Isabel Abbrescia¹, Sabino Liuni¹, Flavio Licciulli¹, Domenica D'Elia¹, Apollonia Tullo², Domenico Catalano¹, Elisabetta Sbisà¹

¹Istituto di Tecnologie Biomediche, CNR Bari

²Istituto di Biomembrane, Bioenergetica e Biotecnologie Molecolari, CNR Bari

Alla luce delle recenti scoperte scientifiche e studi epidemiologici, è ormai evidente che l'alimentazione influenza il nostro stato di salute. È stato dimostrato che una dieta sana ed equilibrata, caratterizzata da un'abbondanza di fibre, frutta, verdura, legumi, pesce e da una riduzione di carni rosse, grassi e zuccheri, aiuta a ridurre il rischio di numerose patologie croniche quali malattie cardiovascolari, neurodegenerative, diabete e cancro.

Lavori pubblicati di recente dimostrano che l'alimentazione è in grado di modulare l'espressione di microRNA (miRNA) umani [1]. I miRNA, piccole molecole di RNA di 20-22 nucleotidi (nt), agiscono come regolatori negativi dell'espressione genica, tramite l'appaiamento di una piccola sequenza conservata di 6 nt della loro regione 5' (seed) con una sequenza complementare localizzata nella regione 3'UTR degli RNA messaggeri (mRNA) (target) negli animali, e per tutta la loro lunghezza nelle piante.

Sebbene in letteratura siano riportati lavori discordanti sulla capacità di alcuni miRNA vegetali di accumularsi nei sieri e nei tessuti animali, numerose evidenze sperimentali dimostrano che miRNA derivanti da piante edibili, assimilati principalmente per via orale attraverso l'alimentazione, sono in grado di superare la barriera gastrointestinale e accumularsi nei tessuti e fluidi dell'uomo e di organismi modello [2-5; 6 per Review].

Sulla base di questi dati, abbiamo condotto uno studio pilota, utilizzando un approccio sia bioinformatico (vedi abstract Licciulli et al) che sperimentale, per indagare se i miRNA di piante edibili potessero regolare l'espressione di geni umani, mimando l'azione dei microRNA endogeni.

Pertanto il primo step è stato quello di verificare se i miRNA di piante edibili avessero la regione seed uguale a quella di miRNA umani. Sono stati analizzati 4.803 miRNA di piante di cui 2855 hanno mostrato nella regione al 5' una sequenza identica a quella di seed di miRNA umani, ma nessuno di essi con sequenza perfettamente identica a un miRNA umano per tutta la sua lunghezza.

La scelta dei miRNA di piante da utilizzare nella successiva fase sperimentale, è stata fatta in seguito ad un'analisi funzionale di potenziali geni target di miRNA umani correlati alla proliferazione cellulare, all'insorgenza e progressione del cancro e con seed identico a quelli vegetali analizzati. I geni target sono stati estratti dalla banca dati miRTarBase che contiene dati di validazione sperimentale dell'interazione dei miRNA con i geni umani [7, 8].

Sono stati così selezionati 7 miRNA vegetali con seed identico (e quindi potenziali omologhi funzionali) a 35 miRNA umani con dimostrata capacità di regolare geni coinvolti nel ciclo cellulare, nella progressione tumorale e nella formazione delle metastasi.

I miRNA vegetali selezionati sono stati trasfettati in mix in due linee cellulari umane di cancro al colon che si differenziano per la presenza o l'assenza dell'oncosoppressore p53 (HCT116-p53+/+ e HCT116-p53/-). A 24, 48 e 72h dalla trasfezione sono stati eseguiti esperimenti di proliferazione cellulare mediante saggio MTT. 72h ore dopo la trasfezione è stata osservata una riduzione della proliferazione cellulare pari al 30% nelle cellule HCT116 p53/- e del 20% nelle HCT116 p53+/+. Sulla base dei risultati positivi dell'MTT è stato estratto l'RNA totale, dalle stesse linee cellulari umane, per studiare l'effetto dei miRNA di piante sull'intero profilo trascrittomico (coding and non-coding RNAs) con tecnologia di Next Generation Sequencing, utilizzando la piattaforma Illumina MiSeq.

L'analisi del profilo di espressione ha mostrato che circa 300 geni codificanti proteine sono differenzialmente espressi nelle HCT116 p53+/+ e circa 90 geni nelle HCT116 p53-/-, suggerendo così un effetto di regolazione diretto o indiretto su geni umani da parte dei miRNA vegetali trasfettati.

Il profilo di espressione ha anche mostrato che, nelle cellule HCT116-p53+/+ e nelle HCT116 p53-/-, appaiono differenzialmente espressi rispettivamente 14 e 10 long non coding RNA (lncRNA) e tra questi MALAT1 (Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1) and NEAT1 (nuclear paraspeckle assembly transcript 1) risultavano maggiormente downregolati con una elevata significatività statistica. I lncRNA svolgono ruoli chiave nella regolazione dell'espressione genica in molteplici condizioni fisiologiche e la loro deregolazione è associata a diverse condizioni patologiche. In particolare, numerose evidenze sperimentali indicano che, in diversi tipi di tumore, l'overespressione di MALAT1 e NEAT1 è strettamente correlata alla progressione tumorale e i due lncRNA sono considerati biomarcatori dello sviluppo di metastasi e di prognosi infausta [9, 10].

Analizzando il seed dei miRNA vegetali trasfettati è stato trovato che due miRNA, il mtr-miR5754 ed il gma-miR4995, possiedono un seed complementare a regioni nella 3' UTR rispettivamente di MALAT1 e NEAT1. Queste regioni sono state clonate in un vettore reporter, a valle del gene della luciferasi, per verificare che ci fosse un'interazione diretta tra questi miRNA vegetali e MALAT1 e NEAT1. Saggi reporter ed esperimenti di RT-qPCR hanno confermato i dati di trascrittomici e che i miRNA vegetali agiscono su MALAT1 e NEAT1 riducendone la loro espressione.

I risultati di questo studio aprono nuovi importanti scenari sulla capacità di alcuni alimenti di migliorare lo stato di salute dell'uomo spiegando i possibili meccanismi molecolari che potrebbero essere alla base degli effetti benefici di una dieta ricca di vegetali su importanti processi cellulari. Questi risultati possono offrire la possibilità dell'uso di miRNA vegetali nella prevenzione dei tumori e di altre condizioni patologiche, come le malattie infiammatorie croniche, e di processi fisiologici come l'invecchiamento.

Referenze

1. García-Segura L, Pérez-Andrade M, Miranda-Ríos J. The emerging role of MicroRNAs in the regulation of gene expression by nutrients. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2013;6:16-31. doi: 10.1159/000345826.
2. Zhang L, Hou D, Chen X, Li D, Zhu L, Zhang Y et al. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Research*. 2012;22:107-126. doi:10.1038/cr.2011.158
3. Mlotshwa S, Pruss GJ, MacArthur JL, Endres MW, Davis C, Hofseth LJ, Peña MM, Vance V. A novel chemopreventive strategy based on therapeutic microRNAs produced in plants. *Cell Res*. 2015; 25:521-524.
4. Snow JW, Hale AE, Isaacs SK, Baggish AL, Chan SY. Ineffective delivery of diet-derived microRNAs to recipient animal organisms. *RNA Biol*. 2013;10:1107-1116.
5. Liang G, Zhu Y, Sun B, Shao Y, Jing A, Wang J, Xiao Z., Assessing the survival of exogenous plant microRNA in mice. *Food Sci Nutr*. 2014;2:380-388. doi: 10.1002/fsn3.113. Epub 2014 May 15.
6. Zhao Q, Liu Y1, Zhang N, Hu M, Zhang H, Joshi T, Xu D. Evidence for plant-derived xenomiRs based on a large-scale analysis of public small RNA sequencing data from human samples. *PLoS One*. 2018;13:e0187519. doi: 10.1371/journal.pone.0187519. eCollection 2018
7. Hsu SD, Tseng YT, Shrestha S, Lin YL, Khaleel A, Chou CH, et al. miRTarBase update 2014: an information resource for experimentally validated miRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res*. 2014;42:D78-85. doi: 10.1093/nar/gkt1266.
8. Chou CH, Shrestha S, Yang CD, Chang NW, Lin YL, Liao KW, et al. miRTarBase update 2018: a resource for experimentally validated microRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(D1):D296-D302. doi: 10.1093/nar/gkx1067.
9. Adriaens C, Marine JC. NEAT1-containing paraspeckles: Central hubs in stress response and tumor formation. *Cell Cycle*. 2017;16:137-138. doi: 10.1080/15384101.2016.1235847. Epub 2016 Oct 4.

10. Zhang X, Hamblin MH, Yin KJ. (2017) The long noncoding RNA Malat1: Its physiological and pathophysiological functions. *RNA Biol.* Dec 2;14(12):1705-1714. doi:10.1080/15476286.2017.1358347

La terapia nutrizionale nel paziente nefropatico

Carmela Cosola¹, Loreto Gesualdo¹

¹Dipartimento dell’Emergenza e dei Trapianti di Organi - Università degli Studi di Bari Aldo Moro

La terapia dietetico-nutrizionale (TDN) è di fondamentale importanza nella gestione conservativa del paziente nefropatico, ed è finalizzata al mantenimento di un buono stato nutrizionale, alla prevenzione e correzione di segni, sintomi e complicanze della malattia renale cronica (MRC), e al posticipo temporale dell’ingresso in dialisi. La classica gestione nutrizionale nella MRC comprende la restrizione proteica e di sodio, un adeguato intake calorico, e un controllo dell’introduzione di fosforo e potassio. Negli anni recenti, grazie alle scoperte sul ruolo del microbiota intestinale nella progressione e nell’insorgenza delle comorbidità della MRC, la nefrologia sta guardando con interesse al ruolo benefico di regimi nutrizionali di stile mediterraneo, dalle comprovate proprietà protettive nei confronti del rischio cardiovascolare (CV) e dall’azione modulatrice del benessere intestinale. Nella MRC si assiste infatti, in una complessa relazione causa-effetto, ad una disbiosi del microbiota intestinale in senso putrefattivo, con una riduzione delle specie saccarolitiche ed un’espansione di quelle proteolitiche. Tale disbiosi si manifesta complessivamente con la riduzione della produzione microbica di metaboliti protettivi ed antinfiammatori (come gli acidi grassi a corta catena, derivanti dalla fermentazione delle fibre solubili) ed un aumento di metaboliti tossici (principalmente cresoli ed indoli, derivanti dalla degradazione microbica di amminoacidi aromatici). La produzione di questi ultimi, unita alla ridotta escrezione renale nella MRC, fa sì che questi pazienti presentino un’aumentata concentrazione di tali tossine uremiche (TU) in circolo, che è co-responsabile di un aumentato rischio CV, infiammazione, stress ossidativo, insulino-resistenza, declino cognitivo. È stato parimenti dimostrato che la produzione delle TU è modulabile con l’alimentazione e l’integrazione, in particolare con regimi prebiotici, di tipo mediterraneo. In conclusione, la TDN nella MRC dovrebbe essere ricalibrata sulla base delle più recenti evidenze scientifiche, che considerano il microbiota un fattore di rischio non tradizionale modificabile. È necessario integrare il classico approccio di restrizione proteica e di sodio con l’inclusione di matrici alimentari vegetali, in grado di modificare la composizione e l’attività del microbiota in senso saccarolitico, con ricadute benefiche anche su equilibrio acido-base, metabolismo del fosforo, ipertensione e rischio CV.

Referenze

1. Cosola C, Rocchetti MT, Cupisti A, Gesualdo L. Microbiota metabolites: pivotal players of cardiovascular damage in chronic kidney disease. *Pharmacol Res.* 2018;130:132-142. doi: 10.1016/j.phrs.2018.03.003
2. Cupisti A, D’Alessandro C, Gesualdo L, Cosola C, Gallieni M, Egidi MF, Fusaro M. Non-traditional aspects of renal diets: focus on fiber, alkali and vitamin K1 intake. *Nutrients.* 2017;29:9. pii: E444. doi: 10.3390/nu905 0444
3. Cupisti A, Brunori G, Di Iorio BR, D’Alessandro C, Pasticci F, Cosola C et al. Nutritional treatment of advanced CKD: twenty consensus statements. *J Nephrol.* 2018; 31:457-473. doi: 10.1007/s4062 0-018-0497-z
4. Fouque D, Laville M. Low protein diets for chronic kidney disease in non diabetic adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;3:CD001892. doi: 10.1002/14651 858.CD001 892.pub3

5. Montemurno E, Cosola C, Dalfino G, Daidone G, De Angelis M, Gobbetti M, Gesualdo L. What would you like to eat, Mr CKD microbiota? A Mediterranean diet. *Kidney Blood Press Res.* 2014;39:114–123. doi: 10.1159/00035 5785
6. Vanholder R, Schepers E, Pletinck A, Nagler EV, Glorieux G. The uremic toxicity of indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate: a systematic review. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25:1897–1907. doi: 10.1681/ASN.20131 01062
7. Vaziri ND, Wong J, Pahl M, Piceno YM, Yuan J, DeSantis TZ, Ni Z, Nguyen TH, Andersen GL. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int.* 2013;83:308–315. doi: 10.1038/ki.2012.345

I percorsi nutrizionali del paziente oncologico

Maria Grazia Forte¹

¹Servizio Igiene degli Alimenti e Nutrizione, Dipartimento di Prevenzione, ASL BARI

La nutrizione in ambito oncologico riveste un ruolo fondamentale nella gestione complessiva della patologia; la valutazione nutrizionale è necessaria già dall'esordio della malattia. La corretta e specifica nutrizione, concorre al riconoscimento dello stato di malnutrizione del paziente, alla riduzione delle complicanze mediche e facilita il recupero dello stato di salute; tappe essenziali nel processo di guarigione. I bisogni nutrizionali sono specifici per ciascun paziente e sono variabili nelle differenti fasi della malattia: nell'esordio, nei trattamenti terapeutici e nel follow-up per la prevenzione terziaria.

All'esordio della patologia la valutazione nutrizionale deve accompagnare la visita oncologica e instaurare precocemente le eventuali variazioni alimentari al fine di ridurre o prevenire la malnutrizione in difetto o in eccesso.

Durante i trattamenti terapeutici (chemio e radioterapia o terapia chirurgica), la nutrizione deve adeguarsi allo stato clinico-fisico del paziente e deve mirare a ottimizzare e consolidare gli effetti della terapia, riducendo o eliminando al tempo stesso, gli effetti collaterali della terapia oncologica.

Dopo i trattamenti terapeutici, il supporto nutrizionale può limitare o prevenire gli effetti collaterali: malnutrizione, sovrappeso, obesità e sindrome metabolica.

Il supporto nutrizionale oltre a correggere e/o prevenire carenze nutrizionali, ha lo scopo di migliorare complessivamente la qualità di vita del paziente.

La valutazione dello stato nutrizionale del paziente, rappresenta la prima e importante fase del percorso e deve essere eseguita da personale medico altamente specializzato.

Il percorso nutrizionale deve considerare alcuni aspetti generali: il controllo degli effetti collaterali, la riduzione dello stato infiammatorio, i valori della glicemia, dell'insulinemia e dei fattori di crescita; deve inoltre privilegiare l'utilizzo di alcuni alimenti in grado di mantenere ottimali tali parametri, ed eliminare altri che al contrario, possono indurre aumento della glicemia, di fattori di crescita ed elevata produzione di acido arachidonico, necessario per la sintesi di prostaglandine infiammatorie.

Accanto a questi aspetti generali, il percorso nutrizionale deve essere specificatamente "personalizzato" per il singolo paziente, in base alla sua patologia, alla terapia da eseguire o già in atto e ai potenziali effetti collaterali.

Numerosi gli studi sugli aspetti benefici e preventivi della dieta mediterranea. Questo modello viene pertanto suggerito, adottato e specificatamente modificato durante le varie fasi della patologia, in base alle esigenze cliniche del paziente e al suo stato nutrizionale.

Recente (dicembre 2017) il documento realizzato dal Ministero della Salute, che affronta gli aspetti relativi agli screening e alla valutazione nutrizionale del malato oncologico, durante tutto il percorso terapeutico, attivo e palliativo, nonché alla presa in carico nutrizionale del paziente. Per la stesura di questo decreto, si è tenuto conto della "Carta dei Diritti del Paziente Oncologico all'appropriato e tempestivo supporto nutrizionale", sottoscritta nel 2017 da AIOM (Associazione Italiana di Oncologia Medica), FAVO (Federazione Italiana delle Associazioni di Volontariato in Oncologia) e SINPE (Società Italiana di Nutrizione Artificiale e Metabolismo), e del contributo delle Società Scientifiche ADI (Assistenza Domiciliare Integrata), SINUC (Società Italiana di Nutrizione Clinica e Metabolismo) e di associazioni di pazienti.

Referenze

1. G. Adolfo Sbisà, Maria Grazia Forte, Elisabetta Sbisà. "Cucina Mediterranea Integrata e Terapie Oncologiche". Edizione Latitudine 41 Bari, 2016.
2. Ministero della Salute "Linee di indirizzo sui percorsi nutrizionali nei pazienti oncologici" - DGR del 14/12/2017.
3. Fondazione AIOM. "I numeri del cancro in Italia 2017 - Versione per pazienti e cittadini". Settembre 2017
4. Aggarwal BB, Van Kuiken ME, Iyer LH, Harikumar KB, Sung B. Molecular targets of nutraceuticals derived from dietary spices: potential role in suppression of inflammation and tumorigenesis. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2009;234:825-849.
5. Maru GB, Hudlikar RR, Kumar G, Gandhi K, Mahimkar MB. Understanding the molecular mechanisms of cancer prevention by dietary phytochemicals: From experimental models to clinical trials. *World J Biol Chem*. 2016;7:88-99.
6. Mut-Salud N, Álvarez PJ, Garrido JM, Carrasco E, Aránega A, Rodríguez-Serrano F. Antioxidant Intake and Antitumor Therapy: Toward Nutritional Recommendations for Optimal Results. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:6719534.
7. Potentas E, Witkowska AM, Zujko ME. Mediterranean diet for breast cancer prevention and treatment in postmenopausal women. *Prz Menopauzalny*. 2015;14:247-253.

Link

International Agency for Research on Cancer

<http://www.iarc.fr/>

<http://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/it/>

World Cancer Research Fund International

www.wcrf.org

Cucina Mediterranea integrata e terapie oncologiche

Giovanni Adolfo Sbisà¹

¹Apulian Natural Cookery School, Corte Bracco dei Germani Corato (Ba)

La cattiva alimentazione è responsabile dell'insorgenza del 30 per cento dei tumori nel mondo. Ciò che mangiamo crea delle condizioni biochimiche e metaboliche all'interno del nostro corpo che possono favorire o contrastare la proliferazione cellulare. Basterebbe considerare questo semplice e incontrovertibile dato, per comprendere quanto una corretta alimentazione possa essere importante per il benessere del paziente oncologico e quanto questa possa svolgere un ruolo fondamentale durante i trattamenti di chemio e radioterapia in cui si manifestano una serie di effetti collaterali, che una corretta e sana alimentazione mirata può contribuire a contrastare, ad attenuare e spesso a risolvere.

Scegliere i cibi più corretti e saperli abbinare nelle diverse fasi del trattamento, può aiutare a prevenire o a controllare meglio gli effetti collaterali indotti dai farmaci e dalle terapie. Un aspetto, questo, ancora poco considerato nella cura del cancro, sebbene negli ultimi decenni l'evoluzione nel campo delle terapie antitumorali, ha spostato l'attenzione dal tumore al paziente. In questo cambio di priorità, riveste un ruolo importantissimo una alimentazione adeguata, che oggi è divenuta parte integrante tanto della prevenzione, quanto della stessa cura oncologica.

Spesso il dilemma non è sapere solo quali sono gli alimenti più idonei e quelli sconsigliati, cosa di per sé assolutamente importante. La sfida è come proporre e far seguire in maniera semplice una corretta alimentazione. Il Libro "Cucina Mediterranea Integrata e Terapie Oncologiche", affronta questa sfida e costituisce uno strumento complementare di conoscenza di una dieta mediterranea modificata ed integrata per il benessere psicofisico del paziente, per attenuare e ridurre gli effetti collaterali delle terapie nello specifico e un utile mezzo per diffondere la cultura di una sana e corretta alimentazione.

Il libro nasce dall'esperienza dei tre autori: un medico nutrizionista, un biologo molecolare e dal fondatore della scuola di cucina, Apulian Natural Cookery School, che ha dato vita ad una sezione pratica nella quale si studiano ricette e abbinamenti di alimenti funzionali per il loro impiego durante le terapie oncologiche.

E' bene ricordare che i pazienti sottoposti a chemioterapia devono affrontare molte problematiche legate all'alimentazione, che includono sintomi gastrointestinali e difficoltà funzionali nella preparazione e consumazione dei pasti, che causano grande disagio. La domanda: "Dottore, che cosa devo mangiare?", è una delle domande più difficili e impegnative per gli operatori sanitari che hanno in cura i pazienti in chemioterapia.

Alterazione del gusto e dell'odore, mucositi e gengiviti, perdita di appetito, aumento della stanchezza, neutropenia, nausea, vomito, disturbi dell'intestino quali stitichezza e diarrea, perdita o aumento di peso, sono i problemi da affrontare perchè possono portare a una bassa qualità della vita quotidiana.

A tal proposito I laboratori di cucina proposti ai pazienti, oltre a risolvere le problematiche su citate, con netto miglioramento della qualità di vita, sono uno strumento di formazione, perchè forniscono ai partecipanti una conoscenza più specifica per un cambiamento nel loro approccio verso la nutrizione. Queste esperienze si traducono nel cambiamento della dieta quotidiana, adattamento al nuovo stile alimentare e nel miglioramento dello stato fisico.

Il paziente oncologico, in fase pre, durante e post terapia chirurgica, farmacologica e radiante dovrebbe seguire una alimentazione appropriata. La nutrizione corretta ha più finalità: riequilibrare lo stato fisico-nutrizionale del paziente, ridurre la tossicità delle terapie e controllarne gli effetti collaterali, ottimizzare e consolidare gli effetti della terapia antitumorale, sostenere il

sistema immunitario, migliorare la qualità della vita, prevenire complicanze come malnutrizione, sovrappeso, obesità e sindrome metabolica.

Il Libro è basato su presupposti scientifici: dalle linee guida e raccomandazioni internazionali per la prevenzione delle malattie neoplastiche e da un attento studio delle più recenti pubblicazioni scientifiche che riguardano gli effetti degli stili di vita e degli alimenti, sulla stimolazione o inibizione della proliferazione delle cellule tumorali, del sistema immunitario e dello stato infiammatorio.

Numerosi gli studi sugli aspetti benefici e preventivi della dieta mediterranea. Questo modello viene pertanto suggerito e specificatamente modificato durante le varie fasi della patologia. Inoltre, recenti studi hanno inoltre dimostrato l'estrema utilità di alimenti e spezie che, pur non facendo strettamente parte della nostra dieta mediterranea, sono validi aiuti nella sana alimentazione e nella prevenzione. Tra questi ricordiamo i funghi, le alghe, il miso, le radici di curcuma e zenzero, molte spezie quali la cannella e il chiodo di garofano, l'anice stellato, il coriandolo, il cumino, il sesamo, l'acidulato di umeboshi che vanno ad arricchire la nostra dieta mediterranea e la completano.

Il volume vuole essere una guida pratica per pazienti e familiari, ma anche per tutti coloro che vogliono assumere sane abitudini alimentari, un supporto sui cibi da evitare e su quelli da prediligere.

Il libro non solo fornisce lo schema alimentare settimanale, ma anche i mezzi per poterlo attuare senza rinunciare al piacere della buona tavola. Un paragrafo inoltre è dedicato alla dieta di preparazione alle terapie; uno alla dieta del giorno che precede la somministrazione della chemioterapia, un altro a quella del giorno di infusione e un altro ancora a quella per i giorni seguenti. Inoltre un capitolo è dedicato alle ricette consigli e rimedi per i giorni no.

Referenze

1. G. Adolfo Sbisà, Maria Grazia Forte, Elisabetta Sbisà. "Cucina Mediterranea Integrata e Terapie Oncologiche". Edizione Latitudine 41 Bari, 2016.
2. Ministero della Salute "Linee di indirizzo sui percorsi nutrizionali nei pazienti oncologici" - DGR del 14/12/2017.
3. Aggarwal BB, Van Kuiken ME, Iyer LH, Harikumar KB, Sung B. Molecular targets of nutraceuticals derived from dietary spices: potential role in suppression of inflammation and tumorigenesis. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2009;234:825-849.
4. Aragón F, Perdigón G, de Moreno de LeBlanc. Modification in the diet can induce beneficial effects against breast cancer. *World J Clin Oncol*. 2014;10:455-464.
5. Atwell LL, Beaver LM, Shannon J, Williams DE, Dashwood RH, Ho E. Epigenetic Regulation by Sulforaphane: Opportunities for Breast and Prostate Cancer Chemoprevention. *Curr Pharmacol Rep*. 2015;1:102-111.
6. Ben-Arye E, Keshet Y, Shahbar IM, Aharonson ML, Preis L, Agour O, Schiff E, Samuels N. The kitchen as therapy: qualitative assessment of an integrative cuisine workshop for patients undergoing chemotherapy. *Support Care Cancer*. 2016;24:1487-1495.
7. Kunnumakkara AB, Bordoloi D, Padmavathi G, Monisha J, Roy NK, Prasad S, Aggarwal BB. Curcumin, the golden nutraceutical: multitargeting for multiple chronic diseases. *Br J Pharmacol*. 2017;174:1325-1348. doi: 10.1111/bph.13621.
8. Maru GB, Hudlikar RR, Kumar G, Gandhi K, Mahimkar MB. Understanding the molecular mechanisms of cancer prevention by dietary phytochemicals: From experimental models to clinical trials. *World J Biol Chem*. 2016;7:88-99.
9. Palermo M, Pellegrini N, Fogliano V. The effect of cooking on the phytochemical content of vegetables. *J Sci Food Agric*. 2014;94:1057-1070.
10. Piroddi M, Albini A, Fabiani R, Giovannelli L, Luceri C, Natella F, Rosignoli P, Rossi T, Taticchi A, Servili M, Galli F. Nutrigenomics of extra-virgin olive oil: A review. *Biofactors*. 2016;43:17-41.

11. Potentas E, Witkowska AM, Zujko ME. Mediterranean diet for breast cancer prevention and treatment in postmenopausal women. *Prz Menopauzalny*. 2015;14:247-253.
12. Riscuta G. Nutrigenomics at the Interface of Aging, Lifespan, and Cancer Prevention. *J Nutr*. 2016;146:1931-1939.
13. Sinha D, Sarkar N, Biswas J, Bishayee A. Resveratrol for breast cancer prevention and therapy: Preclinical evidence and molecular mechanisms. *Semin Cancer Biol*. 2016;40-41:209-232.

Link

International Agency for Research on cancer

<http://www.iarc.fr/>

<http://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/it/>

World Cancer Research Fund International

www.wcrf.org

La dieta Mediterranea non è una dieta

Roberto Capone¹

¹Amministratore Principale, Centre International Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes (CIHEAM-Bari)

Nonostante la sua crescente popolarità in tutto il mondo, la Dieta Mediterranea è oggi a rischio di “erosione” nei paesi del Mediterraneo a causa dei processi di globalizzazione ed urbanizzazione che stanno condizionando e modificando gli stili di vita delle popolazioni Mediterranee che mostrano dei consumi alimentari sempre più insostenibili e meno salubri.

Per contrastare questa crescente “transizione nutrizionale” nel Mediterraneo, il CIHEAM-Bari ha da tempo avviato una serie di attività per valutare la DM come modello di dieta sostenibile. Basata prevalentemente sul consumo di alimenti di origine vegetale, la DM mostra un più basso impatto ambientale rispetto a diete con maggiore consumo di proteine animali, concorrendo al mantenimento della biodiversità attraverso la coltivazione di varietà locali ed il consumo di prodotti locali e stagionali, con positivi ritorni economici ed ambientali sul territorio (Capone *et al.* 2016).

Iscritta nel 2010 dall’UNESCO nella lista del patrimonio culturale immateriale dell’Umanità (UNESCO 21010), grazie anche al contributo del CIHEAM di Bari, la DM è espressione di una antica storia fatta di acquisizioni, scambi e adattamenti, che si riconosce nella diversità delle culture alimentari e degli stili di vita.

La necessità di valutare le dimensioni della sostenibilità della DM, interdipendenti tra di loro (salute/nutrizione, ambiente/biodiversità, economia, fattori socioculturali), ha richiesto al CIHEAM-Bari lo sviluppo di un approccio olistico sistemico nello studio della DM come una Dieta Sostenibile nel contesto dei Sistemi Alimentari Sostenibili (HLPE-CFS 2014). Ha quindi spostato la sua attenzione sulla DM, non più intesa solo come una dieta salubre, ma anche come un modello di dieta sostenibile che riduce l’impatto sull’ecosistema complessivo. Questo approccio olistico è stato sperimentato dal CIHEAM-Bari per caratterizzare e valorizzare la DM come modello di dieta sostenibile da promuovere ed adottare.

Tale approccio è basato su quattro fondamentali aspetti della sostenibilità: 1) ridotto impatto ambientale e ricchezza in biodiversità; 2) accertati benefici alla salute e nutrizione; 3) alti valori socio-culturali; 4) positivi ritorni economici sul territorio.

Una maggiore aderenza al modello sostenibile della DM consentirebbe quindi di ridurre la pressione sulle risorse naturali e mitigare i cambiamenti climatici, contribuire allo sviluppo locale delle aree rurali mediterranee in termini di crescita economica e creazione di opportunità di lavoro in agricoltura e in altri settori non agricoli (ad es. turismo), rafforzare i capitali e le risorse sociali e culturali delle comunità mediterranee, compresa la valorizzazione dei prodotti agro-alimentari tipici e tradizionali (Capone *et al.*, 2016a), migliorare lo stato nutrizionale e ridurre l’incidenza delle malattie cronico degenerative legate all’alimentazione.

Referenze

1. CIHEAM & FAO (2015), Mediterranean food consumption patterns: diet, environment, society, economy and health. A White Paper of Priority 5 of Feeding Knowledge Program, Expo Milan 2015. Bari: CIHEAM-IAMB, Rome: FAO.

2. Capone R, El Bilali H, Debs Ph and Bottalico F. Relations between food and nutrition security, diets and food systems. *Agriculture and Forestry*. 2016; 1: 49-58. Available at: http://www.agricultforest.ac.me/paper.php?journal_id=193&id=2515
3. Capone R, El Bilali H and Bottalico F. Assessing the Sustainability of Typical Agro-Food-Products: Insight from Apulia Region, Italy. *New Medit*. 2016a; 15(1): 28-35.
4. Dernini S, Berry EM, Serra-Majem L, La Vecchia C, Capone R, Medina FX, Aranceta-Bartrina J, Belahsen R, Burlingame B, Calabrese G, Corella D, Donini LM, Lairon D, Meybeck A, Pekcan AG, Piscopo S, Yngve A and Trichopoulou A. Med Diet 4.0: the Mediterranean diet with four sustainable benefits. *Public Health Nutrition*. 2017; 20(7), 1322-1330.
5. FAO (2010). Sustainable diets and biodiversity. Directions and solutions for policy, research and action. Proceedings of the International Scientific Symposium “Biodiversity and sustainable diets united against hunger”, 3-5 November 2010, FAO Headquarters, Rome. Available at: <http://www.fao.org/docrep/016/i3004e/i3004e.pdf>
6. Hachem F, Capone R, Yannakoulia M, Dernini S, Hwalla N and Kalaitzidis C. The Mediterranean diet: a sustainable consumption pattern. In: International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies (CIHEAM) and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2016. *Mediterra 2016. Zero Waste in the Mediterranean*. Natural Resources, Food and Knowledge. Paris, Presses de Sciences Po. Available at: http://www.ciheam.org/uploads/attachments/333/Mediterra2016_EN_BAT__1_.pdf
7. HLPE--CFS Food Losses and Waste in the Context of Sustainable Food Systems. HLPE, Rome. (2014). Available at: <http://www.fao.org/3/a-i3901e.pdf>
8. UNESCO. Representative list of the intangible cultural heritage of humanity. Paris. (2010).

Effetti dei cambiamenti climatici sulla produttività e sul valore nutrizionale delle piante

Laura De Gara¹

¹Università campus Bio-Medico di Roma, Facoltà Dipartimentale di Medicina e Chirurgia, Unità di Scienze degli Alimenti e della Nutrizione. Via Alvaro del Portillo, 21 – 00128 Roma. L.degara@unicampus.it

I cambiamenti climatici stanno fortemente condizionando la produttività agricola in diverse regioni del pianeta, in termini di quantità di bio-massa ottenuta ma anche e di specie coltivabili [1, 2]. Recentemente sono state inoltre riportate diverse evidenze scientifiche che indicano come i cambiamenti climatici, in particolare l'aumento di CO₂ atmosferico, stiano modificando i rapporti tra carbonio e azoto (carboidrati e proteine) nonché tra contenuto energetico e micronutrienti presenti negli alimenti, in particolare in quelli di origine vegetale [3, 4]. Queste variazioni possono ridurre in modo sostanziale il valore nutrizionale dei prodotti agricoli, in misura più importante per quelle popolazioni la cui bio-diversità alimentare è particolarmente povera, determinando un aumento della cosiddetta fame nascosta soprattutto nei paesi in via di sviluppo.

Nella relazione verranno illustrati alcuni casi studio, che presentano la possibile evoluzione delle variazioni quali-quantitative della produttività agricola in vaste aree del nostro pianeta e che sottolineano le sfide che la ricerca scientifica si trova ad affrontare per assicurare, a livello locale e globale, una produttività primaria adeguata, quantitativamente ma anche qualitativamente, alle esigenze di una popolazione mondiale in continua crescita.

Referenze

1. Hannah L, Ikegami M, Hole DG, Seo C, Butchart SHM et al. Global Climate Change Adaptation Priorities for Biodiversity and Food Security. *PLOS ONE*. 2013;8:e72590. doi:10.1371/journal.pone.0072590
2. De Pinto MC, Locato V, Paradiso A, De Gara L. Role of redox homeostasis in thermo-tolerance under a climate change scenario. *Annals of Botany*. 2015;116:487-496. doi:10.1093/aob/mcv071
3. De Gara L. Effetti dei cambiamenti climatici sulla sicurezza alimentare. in *La Cultura ambientale per la salvaguardia della persona e delle società umane* a cura di Manes F. e Puppi G. Libreria Editrice Vaticana, Città del Vaticano 2015, pp.135-154
4. Loladze I. Hidden shift of the ionome of plants exposed to elevated CO₂ depletes minerals at the base of human nutrition. *eLIFE*. 2014;3: e02245

Nutrienti, ormoni e geni nella dieta mediterranea: focus su olio extravergine d'oliva

Antonio Moschetta¹

¹Dipartimento Interdisciplinare di Medicina, Università degli studi "Aldo Moro" di Bari

Il legame tra cibo e geni ha influenzato molti aspetti della salute e della società moderna, determinando la nascita della nutrigenomica per identificare degli interventi nutrizionali che consentano al medico di creare delle vere e proprie diete personalizzate allo scopo di prevenire la comparsa delle malattie e mantenere uno stato di salute ottimale. Numerosi studi epidemiologici indicano che l'aumento dell'obesità, la sedentarietà e il consumo prolungato e serale di cibi ad alto indice glicemico promuovono lo sviluppo di tumori e la loro proliferazione [1]. Vari nutrienti e ormoni contribuiscono a modificare la capacità di proliferazione delle cellule. L'aderenza alla Dieta Mediterranea protegge dal rischio di sviluppare tumori e malattie cardiovascolari [2]. Uno dei principali componenti della Dieta Mediterranea è l'olio extravergine di oliva che grazie ai livelli di grassi monoinsaturi, polifenoli e vitamine è considerato un alimento funzionale [3]. Il consumo di olio extravergine d'oliva (EVO) è stato associato ad un ridotto rischio cardiovascolare [4] ma i meccanismi molecolari alla base di questo processo non sono del tutto noti. Mediante tecnologie microarray e RTqPCR, sono stati analizzati i cambiamenti indotti, in termini di espressione genica e di miRNA, dalla somministrazione di olio EVO ad alto e basso contenuto di polifenoli nei mononucleati del sangue periferico (PBMC) di 12 soggetti sani e 12 pazienti affetti da sindrome metabolica (SM) [5]. Nei soggetti sani, l'assunzione di olio EVO ad alto contenuto di polifenoli è in grado di migliorare i livelli di glicemia, l'insulino-sensibilità e di indurre la trascrizione di geni e miRNA coinvolti in processi metabolici, infiammatori e tumorali. La modulazione delle pathway indotte dall'olio EVO si riduce nei pazienti MS sottolineando che un ottimale stato di salute è di fondamentale importanza per massimizzare gli effetti benefici di questo alimento.

Referenze

1. Lohmann AE, Goodwin PJ, Chlebowski RT, Pan K, Stambolic V and Dowling RJ. Association of Obesity-Related Metabolic Disruptions With Cancer Risk and Outcome. *J Clin Oncol* 2016; 10: 4249-4255
2. Garcia-Fernandez E, Rico-Cabanas L, Rosgaard N, Estruch R and Bach-Faig A. Mediterranean diet and cardiometabolic health: a review, *Nutrients*. 2014; 6:3474–3500.
3. Fortes C. Mediterranean diet health benefits may be due to a synergistic combination of phytochemicals and fatty-acids. *BMJ*. 2005; 331:E366.
4. Violi F, Loffredo L, Pignatelli P, Angelico F, Bartimoccia S, Nocella C, Cangemi R, Petruccioli A, Monticolo R, Pastori D and Carnevale R. Extra virgin olive oil use is associated with improved post-prandial blood glucose and LDL cholesterol in healthy subjects, *Nutr. Diabetes*. 2015; 5:e172.
5. D'Amore S, Vacca M, Cariello M, Graziano G, D'Orazio A, Salvia R, Sasso RC, Sabbà C, Palasciano G, and Moschetta A. Genes and miRNA expression signatures in peripheral blood mononuclear cells in healthy subjects and patients with metabolic syndrome after acute intake of extra virgin olive oil. *BBA*. 2016; 1861:1671-1680.

Regolazione dell'espressione di geni lipogenici da parte di nutrienti.

Fabrizio Damiano¹, Mariangela Testini¹, Gabriele V. Gnoni¹, Luisa Siculella¹.

¹Lab. di Biochimica e Biologia Molecolare, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, Università del Salento, Lecce

L'obesità rappresenta una delle principali criticità per la salute nel mondo, ed è correlata a una serie di disturbi metabolici e cardiovascolari, quali ipertensione, insulino-resistenza, iperlipidemia. Oltre alla predisposizione ereditaria, l'inattività fisica e l'alimentazione ipercalorica e/o squilibrata sono le cause predominanti di un eccessivo accumulo di grasso non solo nel tessuto adiposo, ma anche in sedi ectopiche, causando diverse patologie a carico degli organi interessati. Manifestazione associata all'obesità è la steatosi epatica non alcolica (NAFLD) caratterizzata da un eccessivo accumulo di trigliceridi nell'epatocita sotto forma di goccioline lipidiche. Simili situazioni possono interessare anche altri tipi cellulari, come cellule muscolari, cardiache, renali e neuronali. Nella NAFLD, i grassi accumulati sono prevalentemente di origine alimentare oppure derivano dalla lipolisi a livello del tessuto adiposo. Tuttavia, una frazione consistente di acidi grassi, fino al 30%, viene sintetizzata negli epatociti attraverso la lipogenesi *de novo* (DNL). Studi condotti nel nostro laboratorio [1,2] hanno evidenziato che la DNL non viene inibita a seguito dell'accumulo intracellulare di lipidi; al contrario, la DNL, valutata sia attraverso dosaggi enzimatici che per mezzo di studi sull'espressione dei principali geni lipogenici, come *acetil-CoA carbossilasi 1 (ACC1)*, *acido grasso sintasi*, *carrier* mitocondriale del *citrato*, e *sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1)*, risulta stimolata nelle cellule steatotiche.

Esperimenti condotti in un modello cellulare di steatosi epatica hanno dimostrato un meccanismo di regolazione di geni lipogenici a livello traduzionale. Un aspetto interessante emerso da questi studi è che la traduzione dei messaggeri per i geni lipogenici, in particolare *SREBP-1* e *ACC1*, risulta essere incrementata nelle cellule steatotiche, nonostante si verifichi in esse un'attenuazione della sintesi proteica globale.

Studi condotti sia *in vivo* che *in vitro* hanno dimostrato che diversamente dagli acidi grassi saturi, gli acidi grassi poliinsaturi e alcuni polifenoli presenti nell'olio extravergine di oliva inibiscono la DNL [3] e migliorano la steatosi, riducendo sia l'espressione di geni lipogenici che la traduzione dei messaggeri per *SREBP-1* e per *ACC1* indotta dallo stato steatotico.

Referenze

1. Damiano F, Testini M, Tocci R, Gnoni GV and Siculella L. Translational control of human acetyl-CoA carboxylase 1 mRNA is mediated by an internal ribosome entry site in response to ER stress, serum deprivation or hypoxia mimetic CoCl₂. *Biochim Biophys Acta*. 2018;1863:388-398.
2. Siculella L, Tocci R, Rochira A, Testini M, Gnoni A and Damiano F. Lipid accumulation stimulates the cap-independent translation of SREBP-1a mRNA by promoting hnRNP A1 binding to its 5'-UTR in a cellular model of hepatic steatosis. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1861:471-81.
3. Priore P, Cavallo A, Gnoni A, Damiano F, Gnoni GV and Siculella L. Modulation of hepatic lipid metabolism by olive oil and its phenols in nonalcoholic fatty liver disease. *IUBMB Life*. 2015; 67:9-17.

Studio nutrigenomico sugli effetti del consumo di uva da tavola in soggetti sani

Rosa Anna Milella¹, Marica Gasparro¹, Fiammetta Alagna¹, Maria Francesca Cardone¹, Silvia Rotunno¹, Domenico Catalano³, Mario Colucci², Concetta T. Ammollo², Donato Antonacci¹, Domenica D'Elia³

¹CREA, Centro di ricerca Viticoltura ed Enologia, Turi (BA)

²Dipartimento di Scienze Biomediche ed Oncologia Umana - Sezione di Patologia Generale e Sperimentale - Università "Aldo Moro" – Bari

³Istituto di Tecnologie Biomediche CNR Bari

L'uva è un frutto tipico della tradizione mediterranea molto ricco in composti polifenolici. Al contrario del vino, del succo e dei singoli composti in essa contenuti, gli effetti del consumo di uva da tavola non sono mai stati studiati nell'uomo. Partendo dai nostri dati *in vitro* sull'attività antitrombotica e profibrinolitica di estratti di bucce di uva da tavola in cellule mononucleate di sangue periferico (PBMC) umano (1, 2), abbiamo condotto uno studio in vivo (3), su soggetti sani, e valutato gli effetti dell'assunzione dell'uva attraverso l'analisi del profilo di espressione genica dei PBMC isolati dagli stessi soggetti.

I PBMC offrono notevoli vantaggi per gli approfondimenti di nutrigenomica perché, oltre ad essere facilmente prelevabili, il loro profilo di espressione genica fornisce informazioni utili sullo stato di salute dell'intero organismo.

Per il nostro studio è stata utilizzata una varietà di uva da tavola nera, l'Autumn Royal, prodotta e studiata presso il Centro di ricerca Viticoltura ed Enologia di Turi (BA), e caratterizzata da una moderata concentrazione di zuccheri ed un elevato contenuto in polifenoli.

30 volontari sani sono stati trattati come segue: 20 hanno seguito una dieta arricchita d'uva (5g/kg die) per tre settimane, mentre 10 hanno seguito la loro abituale dieta, ma priva d'uva (gruppo di controllo). I campioni di sangue sono stati prelevati all'inizio dello studio (T0), alla fine del periodo di assunzione di uva (T1) e dopo un mese dalla fine dell'assunzione (T2). L'RNA, estratto dai PBMC è stato marcato e ibridato su SurePrint G3 Human Gene Expression Microarrays, 8x60K v2 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). I dati ottenuti dopo la scansione degli arrays sono stati elaborati con il software GeneSpring version 13.1.1 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). L'analisi statistica per la selezione dei geni differenzialmente espressi (DE) è stata condotta tramite ANOVA seguito dal post hoc Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test ($p < 0.05$) corretto per il false discovery rate (FDR) dal Benjamini-Hochberg multiple testing. I risultati mostrano che più di 500 geni sono DE al T1 e quasi il doppio al T2. Per l'analisi funzionale dei geni la cui espressione appare evidentemente influenzata dall'assunzione continuativa di uva, sono stati utilizzati diversi strumenti che ci hanno offerto la possibilità di valutare sia la clusterizzazione funzionale dei geni nei diversi processi biologici che il loro arricchimento statistico in diversi pathways.

I dati ottenuti si sono rivelati interessanti sotto diversi aspetti. Primo, i risultati mostrano chiaramente che l'assunzione prolungata di uva ha un effetto marcato sull'espressione di un gran numero di geni. Come atteso, molti sono coinvolti nell'infiammazione, nella risposta immunitaria, nell'apoptosi, nell'autofagia e nella riparazione del DNA; numerosi altri, però, sono implicati nelle modificazioni epigenetiche del DNA e in diversi tipi di tumori e malattie neurodegenerative. Secondo, le modifiche del profilo di espressione genica dei PBMC si protraggono ben oltre il periodo di assunzione dell'uva, essendo il numero di geni DE quasi raddoppiato dopo 30 giorni dalla sospensione della dieta. Infine, considerando il ruolo chiave dei non-coding RNAs (ncRNAs) nella regolazione genica pre- e post-trascrizionale, va sottolineato il numero apprezzabile di ncRNAs ritrovati differenzialmente espressi. Tutti questi dati, oltre a gettare nuova luce sui meccanismi molecolari alla base degli effetti benefici sulla salute umana correlati all'assunzione di

uva, aprono un'incredibile ventaglio di possibilità di indagine che potrebbero essere essenziali per la messa a punto di nuove strategie sia di prevenzione che di cura per diverse patologie.

Referenze

- 1 Carrieri C., Milella R.A., Incampo F., Crupi P., Antonacci D., Semeraro N., Colucci M. Antithrombotic activity of 12 table grape varieties. Relationship with polyphenolic profile. *Food Chem.* 2013; 140: 647-653.
- 2 Milella R.A., Antonacci D., Crupi P., Incampo F., Carrieri C., Semeraro N., Colucci M. Skin extracts from two italian table grapes (Italia and Palieri) inhibit tissue factor expression by human blood mononuclear cells. *J Food Sci.* 2012;77(8):H154-9.
- 3 Ammollo C. T., Semeraro F., Milella R.A., Antonacci D., Semeraro N., Colucci M. Grape intake reduces thrombin generation and enhances plasma fibrinolysis. Potential role of circulating procoagulant microparticles. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2017; 50: 66-73.

La qualità del suolo come requisito preliminare per la sostenibilità delle produzioni agricole

De Luca Francesca, Pousis Valentino, D'Addabbo Trifone, Fanelli Elena, Troccoli Alberto.¹

¹Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, CNR, Bari

La relazione tra la qualità del suolo e quella delle produzioni agricole che su di esso vengono realizzate viene spesso trascurata, nonostante gli immediati e pesanti riflessi sulla salute umana. Un continuo ed accurato monitoraggio della qualità dei suoli agricoli sembra dunque essere un requisito fondamentale per la qualità degli alimenti. La nematofauna del suolo costituisce un ottimo bioindicatore della qualità del suolo stesso, in quanto risponde prontamente ai cambiamenti ambientali (stress e inquinamento) e la distribuzione e attività dei differenti gruppi trofici può essere usata per stabilire lo stato di conservazione di un suolo. Tali proprietà sono state confermate da un nostro studio basato sul campionamento di diversi siti della regione Puglia, localizzati in una riserva naturale, in un parco, in prossimità di una centrale elettrica a carbone, in prossimità di industrie metallurgiche e in prossimità di una discarica. Per ciascuno di tali siti è stata condotta l'analisi della nematofauna presente utilizzando sia approcci morfologici che molecolari (NGS sequencing). Gli indici ecologici hanno permesso di evidenziare i siti più o meno disturbati, confermando che i nematodi sono ottimi bioindicatori (Pousis et al., 2013). Peraltro, la componente fitoparassita della nematofauna di un suolo può essa stessa contribuire ad una alterazione della qualità del suolo, a seguito dell'accumulo di residui tossici (nel terreno, nelle acque, nelle parti eduli delle piante) di trattamenti con nematocidi di sintesi. I nostri studi su sostanze nematocide di origine vegetale hanno come obiettivo il miglioramento della qualità del suolo mediante una riduzione dei trattamenti con prodotti di sintesi e dei relativi residui.

Referenze

1. Pousis V, Troccoli A, Park BY, Fanelli E, D'Addabbo T, Veronico P, Radicci V and De Luca F. "Metagenomic approach for the analysis of nematode and their use as biological indicators" 10th International Nematology Symposium RSN. Golitsyno-Bolshie Vyazemy, Russia. 01-05 July 2013. ISBN 978-5-905956-03-4.
2. D'Addabbo T, Argentieri MP, Radicci V, Grassi F and Avato P. Artemisia annua compounds have potential to manage root-knot and potato cyst nematodes. *Industrial Crops and Products*, 2017; 108:195-200.

Contaminanti fitosanitari di prodotti agroalimentari: Controlli Ufficiali e food security come prima tutela del consumatore.

Francesco Vino¹

¹Dirigente Medico, Servizio Igiene degli Alimenti e Nutrizione Dipartimento di Prevenzione ASL BARI

I prodotti fitosanitari, per le loro proprietà intrinseche, possono risultare nocivi per gli organismi non bersaglio ed avere effetti indesiderati sulla salute umana e sull'ambiente.

Il loro utilizzo consapevole e sostenibile risulta una tematica di grandissimo impatto sociale ed economico e pertanto oggetto di trattazione dei vari organi legislativi Europei, Nazionali e Regionali.

Il Piano Nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, approvato con il decreto interministeriale del 22/01/2014, in attuazione dell'art. 6 del decreto legislativo 150/2012, recepisce nell'ordinamento italiano la direttiva 2009/128/CE, quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi. Obiettivo del PAN è ridurre i rischi e gli impatti, conseguenti all'uso dei prodotti fitosanitari, sulla salute umana, sull'ambiente e sulla biodiversità e per raggiungerlo sono state individuate molte azioni di medio e lungo periodo che riguardano diversi ambiti: dalla formazione obbligatoria degli utilizzatori e dei distributori dei prodotti fitosanitari nonché dei consulenti delle aziende agricole, all'informazione ed alla sensibilizzazione sui rischi connessi all'utilizzo di tali prodotti, dalle misure specifiche per la tutela dell'ambiente acquatico e dell'acqua potabile, alla difesa delle piante.

Di pari importanza risulta senza ombra di dubbio, l'attività di Controllo Ufficiale ai sensi del REG.CE 882/04 ed il rispetto dei Regolamenti europei e delle normative nazionali relativi ai livelli massimi di residui di fitosanitari in alimenti sia di origine vegetale che animale.

Il REG.CE n.396/2005 stabilisce che vengano, attraverso programmi nazionali, effettuati campionamenti rappresentativi del mercato, tenendo in considerazione gli esiti del controllo dei precedenti anni. In Italia chi coordina e definisce i piani in materia di residui di prodotti fitosanitari negli alimenti è il Ministero della Salute - Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione (DGISAN), chi pianifica a livello territoriale le attività dei controlli sono gli Assessorati alla Sanità delle Regioni e chi esegue i controlli sono gli ispettori delle ASL. Il quadro normativo è quindi complesso e variegato: l'approvazione del PAN ha consentito di dare maggiore omogeneità a tutta la normativa già esistente sul tema.

Ma i controlli che hanno evidenziato nel corso di questi anni?

Sono sufficienti a garantire la salute del consumatore?

Quali sono i punti oscuri e le aree di poca applicabilità della normativa nell'ambito del controllo della presenza dei fitofarmaci nei prodotti agroalimentare?

Cosa ci aspetta in un prossimo futuro?

Referenze

1. REG.CE n. 882/04
2. REG .CE n. 396/2005
3. Direttiva 2009/128/CE
4. Decreto legislativo 150/2012
5. Decreto interministeriale del 22/01/2014

Nutraceutici e alimenti funzionali per una *Dieta Funzionale*.

Paola Lavermicocca¹

¹Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR-ISPA).

Il ruolo riconosciuto degli alimenti funzionali e prodotti nutraceutici nel fornire benefici per la salute umana offre nuove opportunità per l'industria agroalimentare. Lo sviluppo degli alimenti funzionali richiede l'applicazione di un rigoroso approccio tecnico-scientifico per la loro realizzazione e per dimostrarne l'efficacia. Pertanto, uno degli obiettivi dei gruppi di ricerca è fornire supporto per la valorizzazione nutrizionale e funzionale degli alimenti, favorendone la percezione di utilità per il benessere e sostenendo l'impegno delle aziende nello sviluppo di alimenti efficaci ma anche di elevata qualità organolettica. Con una panoramica di studi svolti anche da ricercatori della rete NUTRHEFF (<http://www.nutrheff.cnr.it/>) - il network del Consiglio Nazionale delle Ricerche coinvolto in azioni di ricerca e sviluppo tecnologico nel campo degli alimenti funzionali e nutraceutici - si intende presentare ricerche e risultati che possano contribuire a comprendere se gli alimenti funzionali, probiotici e i componenti bioattivi possano contribuire ad una "*dieta funzionale*". Saranno affrontati gli aspetti di bioaccessibilità/biodisponibilità delle componenti bioattive in relazione al processo, agli altri componenti della dieta, al microbiota intestinale, e riportati alcuni esempi di trial nutrizionali che dimostrano l'efficacia dell'introduzione nella dieta di alimenti funzionali.

Referenze

1. Garbetta A., D'Antuono I., Sisto A., Minervini F., Cardinali A. and Lavermicocca P. Effect of artichoke fermentation by probiotic strain *Lactobacillus paracasei* LMG P-22043 and of digestion process on polyphenols and antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*. 2018; 45: 523-529.
2. Angelo Sisto, Diomira Luongo, Lucia Treppiccione, Palmira De Bellis, Donato Di Venere, Paola Lavermicocca, Mauro Rossi. Effect of *Lactobacillus paracasei* culture filtrates and artichoke polyphenols on cytokine production by dendritic cells. *Nutrients*. 2016; 8:635.
3. Lavermicocca P, Dekker M, Russo F, Valerio F, Di Venere D and Sisto A. *Lactobacillus paracasei*-enriched vegetables containing health promoting molecules. In: Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Bioactive Foods in Health Promotion. (2016) Eds Ronald Ross Watson & Victor R. Preedy, Elsevier San Diego CA, ISBN: 978-0-12-802189-7
4. Valerio F, Lonigro SL, Giribaldi M, Di Biase M, De Bellis P, Cavallarin L and Lavermicocca P. Probiotic *Lactobacillus paracasei* IMPC 2.1 strain delivered by ready-to-eat swordfish fillets colonizes the human gut after alternate-day supplementation. *Journal of Functional Foods*. 2015; 17:468–475.
5. Riezzo G, Orlando A, D'Attoma B, Guerra V, Valerio F, Lavermicocca P, De Candia S and Russo F. Randomised clinical trial: efficacy of the *Lactobacillus paracasei* enriched artichokes in the treatment of patients with functional constipation – a double-blind, controlled, crossover study. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2012; 35:441-450.

La metagenomica per lo studio del microbioma umano: dati molecolari e approcci bioinformatici

Graziano Pesole^{1,2}

¹ Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica, Università degli Studi di Bari "A. Moro"

² Istituto di Biomembrane, Bioenergetica e Biotecnologie Molecolari, CNR, Bari, Italy.

Il recente spettacolare sviluppo delle piattaforme di sequenziamento di nuova generazione ha aperto una nuova era nell'esplorazione della biodiversità, vale a dire la ricchezza e la varietà delle forme di vita e degli ecosistemi del nostro pianeta. In particolare, lo studio della diversità microbica in una varietà di ambienti, incluso il corpo umano, precedentemente limitato a organismi coltivabili in laboratorio, può ora essere condotto a un livello di risoluzione senza precedenti sia a livello tassonomico che funzionale attraverso tecniche molecolari avanzate basate sul sequenziamento massivo del "metagenoma", ovvero il DNA totale presente in un certo campione. Poiché ogni organismo vivente ha un apparato genetico specifico sia della specie sia dell'individuo, ne consegue che l'approccio molecolare basato sulla caratterizzazione del materiale genetico (ad es. Metagenomica) è uno strumento potente e oggettivo per determinare la varietà e la abbondanza relativa di specie microbiche (e il loro potenziale genomico) che popolano un dato ambiente. Gli approcci molecolari per indagare la biodiversità usando approcci di sequenziamento ad alta processività comprendono: 1) DNA metabarcoding; 2) metagenomica shotgun; 3) metagenomica funzionale.

Il DNA metabarcoding consente la valutazione globale della composizione tassonomica di specifici raggruppamenti tassonomici (ad es. Batteri) in qualsiasi campione di interesse ed è basato sull'amplificazione selettiva di regioni ipervariabili ubiquitarie, denominate "DNA barcode" (ad esempio regioni variabili dell'rRNA 16S per i batteri). La metagenomica shotgun, che consiste nel sequenziamento totale e nella successiva annotazione delle sequenze degli acidi nucleici ottenute, può rivelare la diversità tassonomica e funzionale in un determinato campione / ambiente e rappresenta l'unico approccio percorribile per specie, come i virus, per cui non esiste alcun DNA barcode. Infine, la metagenomica funzionale consente di esplorare il potenziale funzionale e metabolico dei genomi microbici eseguendo screening funzionali su larga scala per una grande varietà di composti bioattivi di interesse biotecnologico o medico (es. enzimi, antibiotici, ecc.). Tuttavia, l'enorme quantità di dati di sequenziamento generati in tutti gli approcci sopra descritti richiede strumenti bioinformatici affidabili e computazionalmente efficaci e adeguate infrastrutture ICT.

Descriverò BioMaS (1), MetaShot (2) e A-Game (3), tre risorse bioinformatiche che abbiamo recentemente sviluppato per affrontare tutti gli approcci metagenomici sopra descritti per studiare e caratterizzare il microbioma sia a livello tassonomico che funzionale, con particolare riferimento allo studio dei possibili effetti modulatori della dieta sulla composizione microbica intestinale al fine di mettere a punto nuove strategie terapeutiche per la prevenzione e il trattamento di numerose patologie.

Referenze

1. Chiara M, Placido A, Picardi E, Ceci LR, Horner DS and Pesole G: A-GAME: improving the assembly of pooled functional metagenomics sequence data. *BMC genomics*. 2018; 19(1):44.
2. Fosso B, Santamaria M, D'Antonio M, Lovero D, Corrado G, Vizza E, Passaro N, Garbuglia AR, Capobianchi MR, Crescenzi M, Valiente G and Pesole G. MetaShot: an accurate workflow for taxon classification of host-associated microbiome from shotgun metagenomic data. *Bioinformatics*. 2017, 33(11):1730-1732.

3. Fosso B, Santamaria M, Marzano M, Alonso-Aleman D, Valiente G, Donvito G, Monaco A, Notarangelo P and Pesole G: BioMaS: a modular pipeline for Bioinformatic analysis of Metagenomic AmpliconS. *BMC bioinformatics*. 2015, 16:203.

Il ruolo della Bioinformatica nella scoperta delle relazioni funzionali tra microRNA di piante e geni umani: dall'ipotesi concettuale alla validazione sperimentale

Flavio Licciulli¹, Arianna Consiglio¹, Faouzi Serroukh², Domenica D'Elia¹, Giorgio Grillo¹, Sabino Liuni¹, Elisabetta Sbisà¹, Apollonia Tullo³, Flaviana Marzano^{1,3}, Mariano Francesco Caratozzolo¹, Domenico Catalano¹

¹Istituto di Tecnologie Biomediche CNR Bari

²Campus technique de la Haute Ecole en Hainaut, Mons, Belgio

³Istituto di Biomembrane, Bioenergetica e Biotecnologie Molecolari CNR Bari

La disponibilità di dati di sequenziamento di nuova generazione ha permesso negli ultimi decenni un progresso velocissimo della conoscenza sia in ambito biologico che clinico. Nulla di tutto questo sarebbe stato possibile se in parallelo non si fossero sviluppati strumenti altrettanto sofisticati e avanzati nel campo della Bioinformatica per la loro gestione, analisi e interpretazione.

Il lavoro che presentiamo illustra, attraverso un caso studio sviluppato nel nostro Istituto, l'importanza della Bioinformatica come strumento predittivo per l'elaborazione e la validazione di un'ipotesi funzionale che viene teorizzata *in silico* e validata in laboratorio, per poi essere di nuovo utilizzata per l'analisi dei dati di laboratori e quindi per orientare ulteriori sperimentazioni e produrre nuova conoscenza.

Il caso studio riguarda l'analisi della possibilità che micro RNA (miRNAs) vegetali assunti con la dieta possano regolare l'espressione di geni umani mimando i meccanismi e le funzioni di miRNAs endogeni. Questa ipotesi è stata elaborata sulla base di una serie di ricerche condotte negli ultimi anni che prendono spunto dal primo lavoro pubblicato in letteratura che riporta la dimostrazione di un targeting funzionale di un miRNA di pianta su di un gene umano (1).

Lo studio *in silico* è stato condotto sulla base di un workflow che ha previsto: 1) la selezione di miRNA di piante edibili, rispetto alle non edibili, collezionate nella banca dati miRBase (2), sulla base delle informazioni tassonomiche in essa contenute; 2) la verifica della possibilità che miRNA di piante e umani potessero avere sequenze "seed", cioè quelle deputate al targeting e localizzate nella regione al 5' del miRNA, identiche; 3) la selezione di un gruppo ristretto di miRNA di piante da usare per la validazione sperimentale sulla base della classificazione funzionale dei potenziali geni target in specifici processi biologici. Per l'estrazione dei dati dalle banche dati pubbliche e la loro integrazione con i risultati delle analisi condotte *in loco* è stata sviluppata una banca dati relazionale in MySQL. Per l'analisi comparativa al punto 2) è stata sviluppata una pipeline di analisi bioinformatica che ingloba in bash Needleall e Shuffleseq, due programmi inclusi nel pacchetto di analisi bioinformatica EMBOSS (3). Grazie a questa pipeline 2.588 sequenze mature di miRNA umani sono state allineate ciascuna con 4.803 sequenze mature di miRNA di piante edibili, per un totale di 12 milioni di allineamenti. Due script (Needle_parser_CD.pl e PI_hum.csh) sono stati impiegati per selezionare gli allineamenti in funzione dei valori di similarità osservata. La validità statistica dei risultati ottenuti è stata poi valutata usando il programma Shuffleseq, che permette di ottenere gruppi di sequenze randomizzate di uguale lunghezza e composizione su cui ripetere le stesse analisi. Il confronto dei risultati degli allineamenti delle sequenze randomizzate con quelli ottenuti dal precedente allineamento è stato fatto utilizzando il test del chi-quadro. I risultati di questo test hanno validato i risultati dell'allineamento come significativi. Dei 4.803 miRNA di piante analizzati, 2855 hanno nella regione al 5' una sequenza identica a quella del seed di miRNA umani, ma nessuno di essi è perfettamente identico a un miRNA umano per tutta la sua lunghezza.

Questo risultato supporta l'ipotesi che il meccanismo attraverso il quale i miRNA di piante potrebbero modulare o inibire l'espressione dei geni umani deve necessariamente essere molto simile a quello usato dai miRNA endogeni. Questi risultati hanno permesso di passare al punto 3) del workflow. La selezione dei miRNA di piante da utilizzare è stata orientata da un'analisi funzionale dei gruppi di potenziali geni target così come riportati in miRTarBase (4), una banca dati che contiene dati di validazione sperimentale di targeting di miRNA su geni umani. I dati contenuti in questa banca dati sono stati estratti e riversati nella nostra banca dati, il che ci ha permesso di mettere in correlazione diretta i miRNA di piante con seed identico ai miRNA umani con i geni target sperimentalmente validati di questi ultimi in miRTarBase. L'analisi funzionale dei geni umani, potenziali target dei miRNA di piante edibili con seed identico a quelli umani validati sperimentalmente, è stata condotta utilizzando diversi strumenti come g:Profiler (5) e DAVID (6, 7) che forniscono dati circa l'arricchimento statistico delle liste di geni analizzate, attraverso tipi diversi di test, in diversi processi biologici (Gene Ontology) e pathways (Reactome, KEGG) utilizzando oltre che specifiche banche dati anche tecnologie di text e data mining per il clustering dei geni in specifiche categorie funzionali. Gruppi funzionali specifici di geni sono stati anche analizzati con strumenti che consentono di rilevare network di interazione funzionale, come StringDb (8) e Cluego (9). Il risultato di questa analisi ha permesso la selezione 7 miRNA di piante, con seed identico (e quindi potenziali omologhi funzionali) di 35 miRNA umani, per la loro predetta capacità di regolare geni coinvolti nel ciclo cellulare e quindi nella progressione tumorale e nella formazione delle metastasi. Questi miRNA sono stati usati in singolo e in mix per trasfettare colture cellulari immortalizzate di cellule di cancro al colon. I risultati dei saggi di proliferazione cellulare effettuati in laboratorio a tempi e concentrazioni diverse dei miRNA selezionati (vedi abstract Marzano et al.), hanno evidenziato una significativa riduzione della proliferazione cellulare, supportando la validità dell'ipotesi di partenza e dell'analisi bioinformatica predittiva. L'analisi di trascrittomiche su campioni selezionati di cellule trasfettate a tempi diversi è stata condotta utilizzando procedure standardizzate di analisi di dati NGS e di nuovo, le liste di geni differenzialmente espressi ottenute dall'analisi statistica dei dati di trascrittomiche con i su citati strumenti di analisi funzionale, ci hanno permesso di individuare potenziali geni target che sono stati poi validati sperimentalmente attraverso saggi di Luciferasi.

I risultati di questo studio, oltre che essere estremamente incoraggianti per il valore scientifico che tali dati possono avere per ulteriori indagini sperimentali o lo sviluppo di interessanti applicazioni per la ricerca scientifica nel campo della nutrigenomica, rappresentano un valido modello di approccio multidisciplinare integrato tra la ricerca biologica e quella bioinformatica, un requisito oramai indispensabile per lo studio delle scienze omiche.

Referenze

1. Zhang L, Hou D, Chen X, Li D, Zhu L, Zhang Y, et al. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res.* 2012; 22:107-126. doi: 10.1038/cr.2011.158. Epub 2011 Sep 20.
2. Griffiths-Jones S. miRBase: microRNA sequences and annotation. *Curr Protoc Bioinformatics.* 2010 Mar;Chapter 12:Unit 12.9.1-10. doi: 10.1002/0471250953.bi1209s29.
3. Rice P, Longden I and Bleasby A. EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite. *Trends in Genetics.* 2000; 16:276—277.

4. Chou CH, Shrestha S, Yang CD, Chang NW, Lin YL, Liao KW et al. miRTarBase update 2018: a resource for experimentally validated microRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(D1):D296-D302. doi: 10.1093/nar/gkx1067.
5. Reimand J, Arak T, Adler P, Kolberg L, Reisberg S, Peterson H, Vilo J. g:Profiler -- a web server for functional interpretation of gene lists (2016 update) *Nucleic Acids Research.* 2016; doi: 10.1093/nar/gkw199.
6. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. *Nature Protoc.* 2009;4:44-57.
7. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Bioinformatics enrichment tools: paths toward the comprehensive functional analysis of large gene lists. *Nucleic Acids Res.* 2009;37:1-13.
8. Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, Forslund K, Heller D, Huerta-Cepas J et al. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic Acids Res.* 2015;43(Database issue): D447–D452. doi: 10.1093/nar/gku1003.
9. Bindea G and Mlecnik B. ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. *Bioinformatics.* 2009;25:1091-1093. doi: 10.1093/bioinformatics/btp101. Epub 2009 Feb 23.

Integrazione di dati “omici” e strutturali per lo studio della neurotossicità della micotossina ocratossina A

Alessandra Mezzelani¹, Francesca Anna Cupaioli¹, Maria Elisabetta Raggi², Carlo Brera³, Barbara De Santis³, Luciano Milanese¹

¹Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Tecnologie Biomediche (CNR-ITB), Segrate (MI)

²Istituto Scientifico, IRCCS, Eugenio Medea, Bosisio Parini (LC)

³Unità di OGM e Micotossine, Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Nutrizione e, Istituto Superiore di Sanità, Roma

L'ocratossina A (OTA) è una micotossina prodotta da funghi ubiquitari dei generi *Aspergillus* e *Penicillium* che contamina prodotti alimentari e mangimi in tutto il mondo.

In un recente studio pilota, l'OTA è risultata associata all'autismo, un disturbo del neurosviluppo che colpisce prevalentemente i maschi e caratterizzato da difficoltà nell'interazione sociale, interessi ristretti e comportamenti ripetitivi. L'autismo è spesso associato ad altri disturbi come infiammazione e aumento dello stress ossidativo.

L'OTA è nefrotossica, epatotossica e neurotossica soprattutto nei maschi che sono carenti dell'enzima CYP4A3 che la metabolizza. Essa esercita la sua tossicità inducendo stress ossidativo, infiammazione e fibrosi attraverso meccanismi epigenetici e aumentando il rapporto fenilalanina/tirosina. L'OTA è infatti composta da una molecola di isocumarina e da una di fenilalanina (phe). Quest'ultima compete con la phe libera come substrato per la phe-idrossilasi (che idrolizza la phe in tirosina, il precursore della L-DOPA) con conseguente accumulo di phe e riduzione di L-DOPA e dei neurotrasmettitori catecolaminergici che ne derivano. Inoltre, un accumulo di phe nel cervello forma fibrille simil-amilode.

A livello epigenetico, l'OTA modula l'espressione di alcuni microRNA: diminuisce il mir-29b, inibitore della produzione del collagene, che si traduce in un aumento di quest'ultimo, alterazione fibrotica e nefropatia. Una diminuzione del mir-29b inoltre aumenta l'espressione della β -secretase (BACE1), l'enzima coinvolto nella produzione di β amiloide, il cui accumulo causa amiloidosi compreso l'Alzheimer.

L'OTA stimola anche la sintesi di mir-132 come si verifica in alcune condizioni neuro-psichiatriche compreso l'autismo e nello stress ossidativo. Il mir-132 agisce nella regolazione reciproca dei geni correlati all'autismo *MECP2* e *PTEN* e diminuisce l'antiossidante Nrf2 aumentando i livelli di ossidanti (ROS). I ROS, a loro volta, aumentano l'espressione del mir-200c che altera ulteriormente i meccanismi antiossidativi e la plasticità sinaptica attraverso la inibizione dell'eme ossigenasi e della neuroligina4X (NLGN4X). Sia *MECP2* che *NLGN4X* sono coinvolti in disordini dello sviluppo neurologico, incluso l'autismo, e sono mappati sul cromosoma X cosa che potrebbe spiegare la prevalenza maschile di questo disturbo.

Sono necessari ulteriori studi *in vitro* e *in vivo*, da condurre separatamente nei due sessi, per ottenere un quadro completo degli effetti epigenetici dell'OTA e per prevenirli o contrastarli.

Fondi: Interomix-OTANEXT-AUT

Referenze

1. Mezzelani A. Ochratoxin A and Epigenetics. In: Patel V., Preedy V. (eds) Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics. (2017) Springer, Cham. doi.org/10.1007/978-3-319-31143-2_33-1.
2. Adler-Abramovich L, Vaks L, Carny O, Trudler D, Magno A, Caflich A, Frenkel D and Gazit E. Phenylalanine assembly into toxic fibrils suggests amyloid etiology in phenylketonuria. *Nat Chem Biol.* 2012; 8(8):701-706. doi: 10.1038/nchembio.1002.