

**Prof.Franco Canestrari**

**Biologo e Medico, Già Docente di Biochimica clinica e Biologia molecolare clinica, Università di Urbino**

**Titolo della relazione**

### **Il programma cellulare e le informazioni. il ruolo dei modulatori cellulari**

Gli organismo viventi, secondo una visione olistica come quella formulata da I. Prigogine premio Nobel nel 1977 per la chimica, sono sistemi e “ strutture dissipative” che rispondono alla logica della comunicazione e informazione, cioè in sostanza a tutti quei segnali che al di là delle perturbazioni ambientali possono mantenerlo in una situazione “omeostatica” per il conseguimento “ di un buon stato di salute”. Partendo dal concetto di omeostasi e di adattamento all’ambiente, non possiamo nascondere che l’essere umano ha dovuto fare i conti, da 60-70 anni a questa parte, con un esposizione ad agenti potenzialmente nocivi nel corso della propria vita che non ha uguali nei secoli precedenti. Quando il carico allostatico non è più compensato parliamo di sovraccarico, corrispondente alla fase di esaurimento della teoria di adattamento di Selye, la salute è quindi una formula matematica dove al numeratore mettiamo la capacità di compensazione al denominatore i fattori di disturbo. Fortunatamente in un sistema altamente adattativo come il nostro sono già presenti dei meccanismi innati di controllo di organi ed apparati come il sistema nervoso autonomo e quello endocrino grazie alle rispettive molecole quali i neurotrasmettitori e gli ormoni ai quali si aggiungono tutte quelle sostanze endogene ed esogene definite ad azione epigenetica in grado di interagire con il genoma con la possibilità di alterare l’espressione dei geni anche da una generazione all’altra. Lo sviluppo delle competenze cellulari dall’embrione all’individuo adulto avviene grazie a meccanismi epigenetici come la metilazione del DNA. Questa reazione agisce in maniera da “ mettere in silenzio” alcuni geni a favore di altri; infatti in tutte le cellule altamente specializzate del corpo di un adulto sono attivi “solo” i relativamente pochi geni necessari per sopravvivere e svolgere un’attività specifica. Anche la malattia stessa deve essere considerata come una soluzione che l’organismo sta producendo al fine di preservare la sua stessa sopravvivenza all’interno delle dinamiche adattative. La terapia informazionale con l’impiego di segnali elettromagnetici deboli endogeni ed esogeni risponde bene al programma di non causare stress all’organismo perché questi segnali deboli vengono integrati nella gerarchia della complessità dei processi fisiologici. La complessità la riusciamo a visualizzare se pensiamo che le reazioni biochimiche che sono spazialmente distribuite in scala macroscopica, avvengono in una sede ben definita, ad una velocità ben precisa ed in accordo con le condizioni variabili in tempo reale.

Il citoscheletro e i microtubuli (1) in particolare, sono la fonte di attività elettromagnetica cellulare energeticamente dipendente dall'attività aerobica dei mitocondri; questo legame indissolubile è perso come vedremo dalle cellule neoplastiche che eludendo il mitocondrio mostrano una resistenza all'apoptosi ed un maggior fabbisogno di glucosio per la loro attività glicolitica fermentativa. Per quest'ultima finalità le cellule tumorali mostrano una sovra-espressione del recettore di membrana per il glucosio il GLUT-1. La cellula neoplastica vive bene e prolifera in ambiente ipossico e conseguentemente acido ( 2,3 ) con il coinvolgimento della matrice extracellulare che essendo un componente meno dinamico, risente maggiormente degli stimoli nocivi quali quelli ossidativi. Pertanto lo stato ipossico rappresenta l'ago della bilancia tra la condizione di salute e malattia e quindi per evitare il solito riduzionismo scientifico si deve vedere il fenomeno nella teoria dell'unicità e quindi come causa /effetto. Ad esempio l'ipossia può portare nel tumore alla degradazione della matrice extracellulare e quindi alla diffusione delle cellule neoplastiche via ematica o linfatica attraverso un meccanismo segnale via HGF/c-MET.

Immaginiamo per un istante la logica comportamentale della cellula neoplastica che rispetto a quella sana disattiva i " propri sensi" che nello specifico sono i recettori di membrana e questo gli permette di sfuggire anche ai controlli immunitari, regredendo in uno stadio più primitivo ma al contempo potenziando la sua funzione proliferativa con la disattivazione dell'apoptosi. Anche il suo fenotipo glicolitico è diabolicamente interessante perché utilizzando una maggior quantità di glucosio tramite il GLUT-1, esprimendo isoforme di enzimi glicolitici dei punti strategici della glicolisi come la PKM2 ( 4 ) e la LDH , si predispone, attivando i processi anabolici, per la sintesi di aminoacidi, acidi nucleici e fosfolipidi indispensabili nel caso di un'alta attività proliferativa. Per molti anni è stata trascurata la biochimica e la biologia della cellula neoplastica ma in realtà per una buona risposta terapeutica è proceduralmente corretto prima conoscere questi aspetti e solo successivamente mettere in atto interventi terapeutici tra i quali una possibile riprogrammazione.

Sulla base di quanto riportato, si può pensare sia ad una riprogrammazione basata sulla differenziazione cellulare, vedi i lavori del Prof.Biava (5) che mediante una rimodulazione metabolica ( 4 ). In questo caso si può riportare la cellula neoplastica che, utilizza la glicolisi aerobica: effetto Warburg, a ripercorrere la via mitocondriale: ciclo di Krebs, bloccata proprio all'ingresso dello stesso ciclo per l'inibizione da parte della cellula neoplastica stessa della reazione di PDH. I primi studi in tal senso sono stati effettuati utilizzando il dicloroacetato, DCA, (6,7) una piccola molecola adoperata per le malattie mitocondriali.

Come già descritto, le cellule cancerose catabolizzano i nutrienti in un modo differente rispetto alle normali cellule differenziate: le cellule sane traggono energia dal processo di fosforilazione ossidativa mitocondriale attraverso il ciclo di Krebs, mentre le cellule tumorali prediligono la via glicolitica.

Molti farmaci antineoplastici (8) e numerosi integratori di origine naturale (9,10) agiscono con diverse modalità per ripristinare la via energetica mitocondriale. Oggi si preferisce parlare di modulatori fisiologici cioè di tutti gli “elementi essenziali” per il mantenimento della salute o come supporto importante in situazioni patologiche. In questo contesto Cellfood® si pone tra le miscele naturali con il vero ruolo di modulatore cellulare dell’ossigeno in grado quindi di aumentarne il suo utilizzo e conseguentemente la produzione di ATP: nel caso della popolazione cellulare neoplastica si dimostra altresì in grado di determinare lo “shift metabolico” in vitro, ripristinando la normale attività mitocondriale e rendendo le cellule tumorali di nuovo suscettibili all’apoptosi.

Sarà oggetto della relazione della Dott.ssa Benedetti (11,13) la divulgazione dettagliata dei risultati della ricerca comunque, le prove sperimentali condotte su linee tumorali in coltura hanno dimostrato che Cellfood® è in grado di ridurre la proliferazione cellulare attraverso un meccanismo apoptotico, documentato da un’aumentata attività della proteina pro-apoptotica caspasi-3 e dalla frammentazione del DNA, tipica della fase tardiva dell’apoptosi. Con tutta probabilità il pathway apoptotico coinvolto è quello mitocondriale. L’induzione dell’apoptosi da parte di Cellfood® è verosimilmente legata alla perturbazione del metabolismo energetico della cellula tumorale; infatti nelle linee tumorali trattate con Cellfood® è stata osservata una riduzione dell’attività dell’enzima LDH e della quantità di lattato rilasciato nell’ambiente extracellulare rispetto alle cellule non trattate. Inoltre Cellfood® si è dimostrato in grado di inibire il fattore ipossico HIF-1, che svolge un ruolo chiave nella regolazione del fenotipo glicolitico, e di ridurre l’espressione del trasportatore di membrana GLUT-1, dimostrando un chiaro ruolo nell’indurre modificazioni a livello metabolico nelle cellule tumorali trattate.

#### **Bibliografia essenziale**

- 1) Pokorny J.e al.: Eur. Biophys. J-40, 747-759, 2011
- 2) Chuen Choi S.Y. e al.: J of Pathol. 230,350-355,2013
- 3) Barar J.e al: BiolImpacts – 3(4),149-162,2013
- 4) Tomoyoshi Soga: Cancer Science -104,275-281,2013
- 5) Biava PM – Curr Oharm Biotechnol 1, 12(2),2011
- 6) Michelakis ED e al: British Journal of Cancer – 99, 989-994,2008
- 7) Papandreou I e al: Int.J.Cancer – 128,1001-1008,2011
- 8) Wong JYY e al: Gynecologic Oncology\_ 109,394-402,2008
- 9) Comin-Anduix B e al- The Journal Of Biological Chemistry 277,46408-46414,2002
- 10) Eom KS e al: Biol Pharm Bull- 33,1644-1649,2010
- 11) Benedetti S. e al: Food Chem Toxicol 49,2292-2298,2011
- 12) Catalani S.a al: J Exp Clin Cancer Res 32 (1),63,2013
- 13) Nuvoli B. e al: J Exp Clin Cancer Res 5 (33), 24,2014

## **Cellfood™ migliora la capacità respiratoria endoteliale ed inibisce la formazione di ROS indotti dall'ipossia**

Ferrero E, Fulgenzi A, Belloni D, Foglieni C, Ferrero ME – Università di Milano – San Raffaele di Milano

### **Riassunto**

L'endotelio vascolare controlla l'omeostasi dei tessuti ad esso sottesi e viceversa fattori epigenetici e microambientali influenzano l'omeostasi dell'endotelio, attivandolo. La rottura di tale equilibrio (attivazione o disfunzione endoteliale), partecipa o addirittura innesca e propaga molte patologie, che vanno dall'infiammazione, alle malattie autoimmuni ed al tumore. Si pensa pertanto che la possibilità di inibire l'attivazione endoteliale possa rappresentare una importante strategia terapeutica.

Data la sua peculiare localizzazione, all'interfacie tra sangue e tessuti, l'endotelio è continuamente esposto alle fluttuazioni di ossigeno, di cui è un fine sensore. In particolare l'ipossia, caratteristica comune ai tumori solidi, ingaggia una risposta dell'endotelio che esita tra nell'induzione dello "switch angiogenico" e nella generazione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS).

Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare l'efficacia di Cellfood™ nell'inibire la produzione di ROS indotti dall'ipossia e di comprenderne i meccanismi di azione.

Abbiamo utilizzato cellule umane endoteliali primarie ottenute da vena ombelicale (HUVEC) e una linea di cellule endoteliali spontaneamente immortalizzata (ECV).

Cellfood, impiegato in vitro, non è tossico e migliora il consumo di O<sub>2</sub> preservando l'attività mitocondriale. Quest'ultima si accompagna ad una sostenuta produzione di ATP ma non di acido lattico.

Come è atteso, HUVEC ed ECV coltivate in severo ambiente ipossico (1%O<sub>2</sub>) producono ROS. Tale produzione è significativamente inibita in presenza di Cellfood, che aumenta in parallelo l'espressione di enzimi mitocondriali anti-ossidanti (MnSOD). Infine, Cellfood interferisce con il metabolismo ipossico della cellula endoteliale attraverso l'inibizione del mediatore della risposta ipossica, Hypoxic Inducible factor (HIF)-1α.

Noi pensiamo che Cellfood sia in grado di determinare uno shift metabolico dalla glicolisi verso la respirazione. Inoltre, oltre alle attività genericamente anti-ossidanti, pensiamo che Cellfood possieda attività inibenti la risposta ipossica e le attività down-stream ad essa correlate.

L. Menza, E. Nieddu, G. Filippou, F. Baldi, P. Falsetti, C. Acciai, C. Siagkri, A. Nicosia, S. Columbu, D. Grassi, A. Gallo, A. Luceri, B. Frediani, M. Galeazzi, R. Marcolongo

## **CELLFOOD: UNA NUOVA PROSPETTIVA TERAPEUTICA PER LA FIBROMIALGIA**

*Dipartimento di Medicina Clinica e Scienze Immunologiche*

*Sezione di Reumatologia*

*Università di Siena*

### **INTRODUZIONE**

La fibromialgia è una patologia caratterizzata da sofferenza muscoloscheletrica diffusa, da dolore e rigidità assiale, disturbi del sonno e dalla presenza di punti di dolorabilità elettiva e da una varietà di sintomi clinici di accompagnamento (ad es. astenia) simili sotto certi aspetti con la sindrome da fatica cronica. Cellfood® è un integratore alimentare che contiene ossigeno disciolto, elettroliti, 78 minerali in forma ionica, 34 enzimi e 17 aminoacidi; è utilizzato in ambito sportivo dove è importante una adeguata integrazione di minerali e di aminoacidi essenziali ed una supplementazione di sostanze ad azione antiossidante per prevenire i sintomi dell'affaticamento cronico. Scopo dello studio era quello di valutare l'efficacia del Cellfood nei pazienti con fibromialgia.

### **MATERIALI E METODI**

Sono stati arruolati 30 pazienti affetti da fibromialgia che non rispondevano alle terapie convenzionali, 21 sono stati trattati con cellfood e 9 con placebo (singolo cieco). Prima dell'inizio del trattamento i pazienti sono stati sottoposti a dolorimetria meccanica. Abbiamo somministrato il Fibromialgia Impact Questionnaire (FIQ) per la valutazione funzionale e soggettiva del dolore. Ad un mese dal inizio dello studio, telefonicamente, è stata eseguita una breve intervista per l'eventuale presenza di effetti collaterali e per una valutazione della VAS sul dolore. A 3 mesi dall'inizio del trattamento i pazienti sono stati sottoposti a follow-up.

### **RISULTATI**

Un miglioramento significativo è stato registrato alla VAS sul dolore attuale, sulla difficoltà di svolgimento delle attività lavorative e/o quotidiane, astenia, ansia, stanchezza al risveglio, alla valutazione semiquantitativa del dolore, ed alla conta dei tender points (tp). Anche gli altri parametri del FIQ sono migliorati ma senza raggiungere la significatività statistica. Nessun paziente ha lamentato effetti collaterali correlabili al trattamento.

### **CONCLUSIONI**

Dall'analisi dei dati registrati al termine del follow-up abbiamo rilevato un miglioramento della sintomatologia sia sul piano soggettivo (VAS) che sul piano oggettivo (conta dei tp). In conclusione Cellfood® può fornire un importante contributo nella gestione sintomatologica del paziente affetto da Fibromialgia.

Abstract: Prof. Maria Elena Ferrero Università di Milano e SAN Raffaele di Milano

Esiste una correlazione netta tra intossicazione da alluminio (Al) e malattie neurodegenerative (ND).

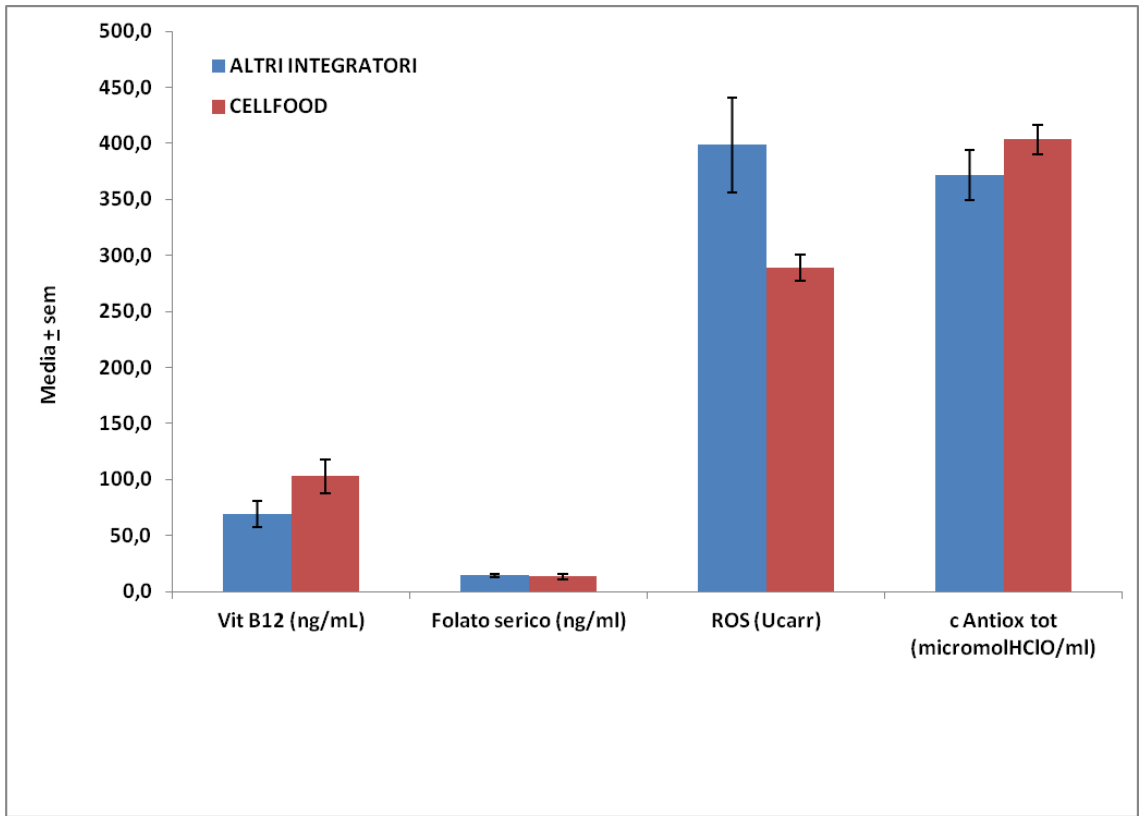
Abbiamo dimostrato come i pazienti affetti da ND che mostrano intossicazione da Al traggano beneficio dal trattamento a breve termine con l'acido etilendiamminotetraacetato calcio disodico (EDTA) (terapia chelante).

Tale terapia migliora ulteriormente attraverso il trattamento quotidiano con l'antiossidante Cellfood. Nel presente studio abbiamo esaminato l'efficacia del trattamento a lungo termine utilizzando sia EDTA che Cellfood. Trattamento endovenoso lento con l'EDTA chelante (2 g / 10 ml diluito in 500 ml di soluzione salina fisiologica somministrati in 2 h) (test chelazione) ha rimosso l'Al, che era rilevato (con ICP-MS) nei campioni di urina raccolti da pazienti nelle 12 ore.

I pazienti che hanno rivelato intossicazione da Al (espressi in  $\mu\text{g}$  per g di creatinina) sono stati sottoposti a terapia chelante con EDTA una volta a settimana per dieci settimane, poi una volta ogni due settimane per altri sei o dodici mesi. Alla fine del trattamento sono stati analizzati i livelli di Al nei campioni di urina (per un totale di 22 o 34 terapie di chelazione, rispettivamente), associate con l'assunzione giornaliera di Cellfood. Inoltre, sono stati determinati i seguenti parametri ematici: omocisteina, vitamina B12 e folato, nonché lo stato ossidativo e le specie reattive dell'ossigeno (ROS), capacità antiossidante totale (TAC), LDL ossidate (oxLDL), e il glutatione.

I nostri risultati hanno mostrato che il livello di intossicazione da Al è ridotto significativamente dopo il trattamento con EDTA e Cellfood, e i sintomi clinici sono migliorati. Dopo il trattamento, i ROS, oxLDL, e omocisteina sono significativamente diminuiti, mentre la vitamina B12, folati e TAC sono nettamente migliorati.

In conclusione, i nostri dati mostrano l'efficacia della terapia chelante associata a Cellfood in soggetti affetti da intossicazione da Al che hanno sviluppato ND.



Figural

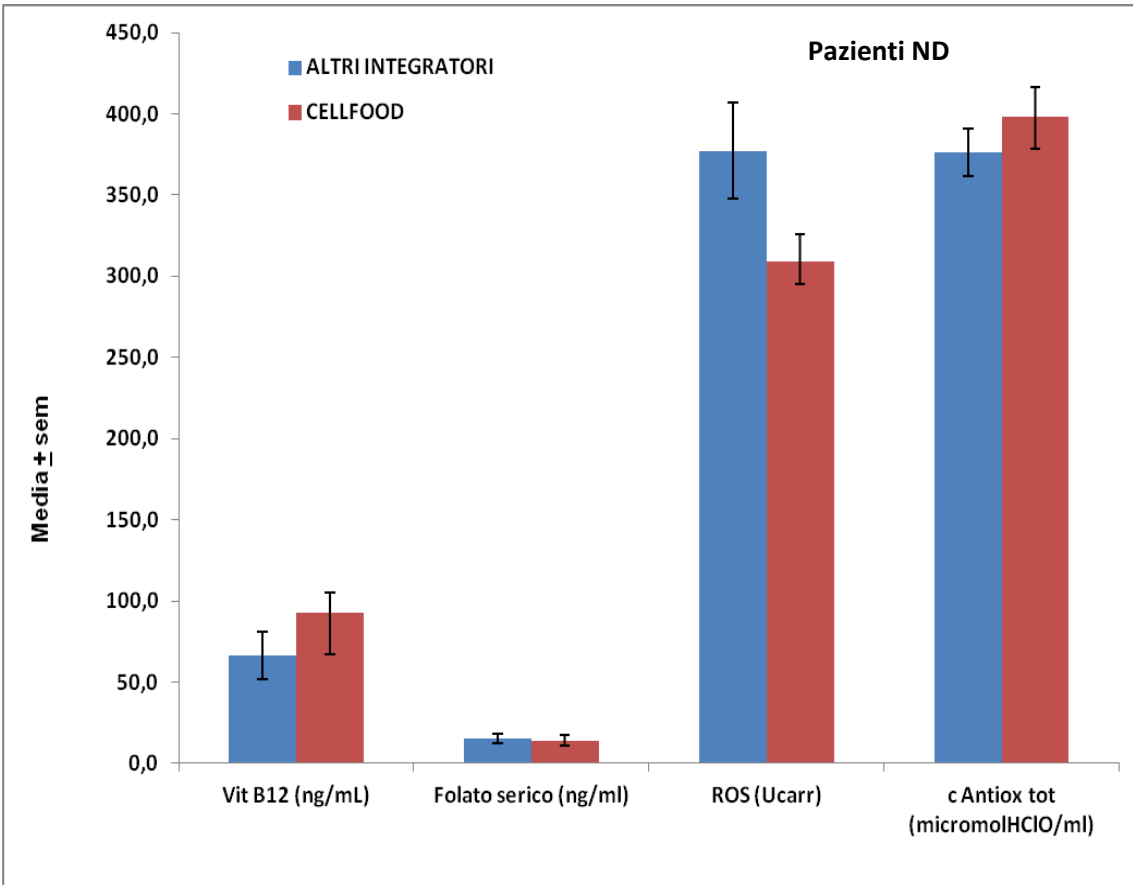
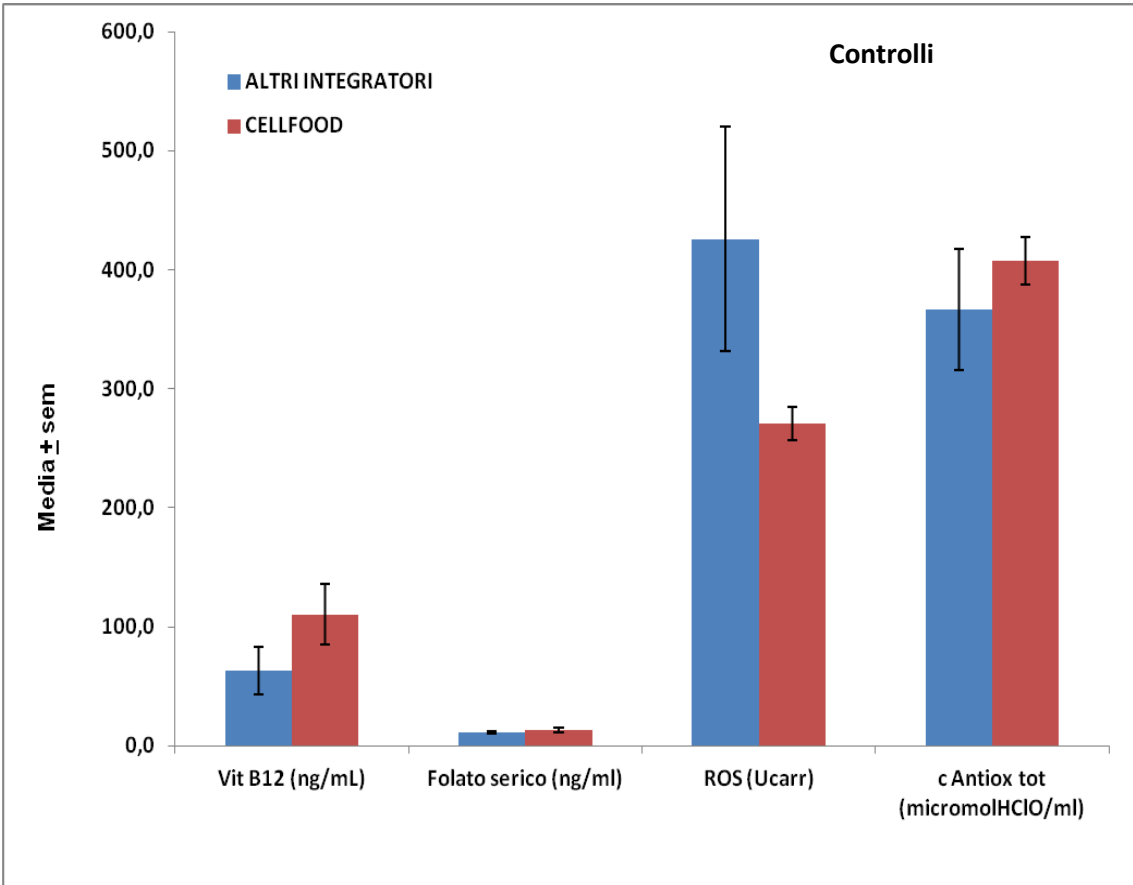


Figura 2