FORUM

“Agricoltura, Alimentazione e Salute: le sfide della ricerca per garantire produzione, qualità e proprietà salutistiche degli alimenti

Sala A Terza Torre - 21 febbraio 2013 - Bologna

ABSTRACT

Titolo: Metodologie analitiche di screening per la valutazione della sicurezza e dell'attività nutraceutica di matrici alimentari

Autori e affiliazioni: Mara Mirasoli¹, Massimo Guardigli¹, Elisa Michelini¹, Patrizia Simoni², Aldo Roda¹

1. Dipartimento di Chimica “G. Ciamician”, Università di Bologna

2. Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Bologna

Stato dell'arte del settore:

Nel contesto della prevenzione delle patologie croniche si inserisce il concetto recentemente introdotto di cibi funzionali, cioè cibi che oltre alla loro funzione nutrizionale contengono principi fisiologicamente attivi in grado di avere effetti benefici sullo stato di salute. Tuttavia, al fine di tutelare il consumatore da affermazioni false e fuorvianti e garantire l'assenza di effetti indesiderati in seguito all'assunzione di cibi funzionali e di nutraceutici, è necessario svolgere studi approfonditi in maniera analoga a quanto richiesto per l'immissione in commercio di una nuova formulazione farmaceutica. In questo contesto, assumono particolare rilevanza i test rapidi di screening, che permettono di ottenere un numero elevato di informazioni sulle sostanze in esame, a costi contenuti ed in tempi brevi.

Obiettivi della ricerca nel settore:

Il laboratorio si occupa dello sviluppo ed ottimizzazione di test di screening volti alla caratterizzazione analitico-tossicologica e chimico-fisica su vari tipi di modelli (in vitro, ex vivo ed in vivo) di nutraceutici e cibi funzionali.

- Test di screening di primo livello. Si tratta di metodi bioanalitici sensibili e ad alta produttività analitica (adatti per analisi high throughput screening, HTS) che permettono una valutazione preliminare di parametri analitici di interesse (quali l'attività antiossidante) la determinazione di composti specifici utilizzando tecniche di rivelazione basate su bio-chemiluminescenza.
- Test di screening di secondo livello, che prevedono l'utilizzo di cellule geneticamente ingegnerizzate per la valutazione dell'attività biologica di sostanze nutraceutiche, fornendo (a differenza dei saggi di binding) informazioni riguardo la biodisponibilità delle sostanze presenti nel campione in esame al fine di valutarne la reale capacità di indurre una risposta cellulare in condizioni fisiologiche.
- Sistemi “in vivo” basati su imaging bioluminescente che (grazie all'impiego di animali modificati geneticamente nei quali l'emissione bioluminescente è legata alla attivazione di specifiche vie metaboliche) permettono di valutare gli effetti della somministrazione di alimenti funzionali in modo non invasivo e senza bisogno di sacrificare l'animale.

Tali studi sono inoltre supportati dalle tecniche di analisi HPLC con rivelazione UV/Vis o mediante spettrometria di massa (HPLC-MS ed HPLC-MS/MS) per studiare l'assorbimento ed il metabolismo di farmaci e principi attivi nell'animale da esperimento e nell'uomo, che possono essere impiegate nell'esecuzione di studi di farmacocinetica e biodisponibilità a seguito di differenti modalità di assunzione (sub-cronica, cronica, ecc.).

Strategie di ricerca da porre in essere:

Le attività di ricerca del laboratorio in questo campo riguardano lo sviluppo di test di screening, suddivisi nelle seguenti categorie:

- Test di screening basati su sistemi enzimatici in piastre microtiter a 96 o 384 pozzetti, che

sfruttano la rivelazione in chemiluminescenza per eseguire screening di primo livello per la valutazione della capacità antiossidante totale mediante il sistema perossidasi/luminolo/perossido di idrogeno e per la rivelazione di inibitori dell'enzima acetilcolinesterasi (quali pesticidi organofosfati e carbamati) mediante un sistema di reazioni enzimatiche accoppiate coinvolgenti gli enzimi acetilcolinaesterasi, colina ossidasi e perossidasi).

- Test di screening basati su metodi immunologici con rivelazione in chemiluminescenza (CLEIA) in piastre a 96 o 384 pozzetti per la determinazione di molecole organiche (es. micotossine, steroidi anabolizzanti) o di proteine (es. proteine da batteri patogeni).
- Linee cellulari geneticamente modificate mediante l'introduzione di un gene reporter bioluminescente (es. luciferasi) la cui espressione è regolata da un recettore attivato dalla sostanza in esame. Tali linee cellulari sono idonee per rivelare effetti delle sostanze in esame su diversi *pathways* intracellulari (es. attivazione di recettori di enzimi coinvolti nel metabolismo del colesterolo e degli acidi biliari), al fine di ottenere per ogni campione un pattern di informazioni riguardo la presenza di molecole attive e/o di contaminanti ambientali.
- Test in vivo su animali da esperimento, in modo da dare risultati più predittivi, quali ad esempio lo sviluppo di un metodo per la misura non invasiva della motilità gastrointestinale o di modelli di topi obesi bioluminescenti per la valutazione in modo non invasivo mediante "imaging" di bioluminescenza dell'attivazione di specifiche vie metaboliche.

In tutti i casi vengono anche sviluppati opportuni trattamenti pre-analitici del campione al fine di minimizzare l'effetto matrice e garantire (nel caso ciò sia necessario) un'estrazione rapida, riproducibile e quantitativa degli analiti pur mantenendo una procedura analitica ad alta produttività.

Conclusioni:

L'introduzione nella dieta di cibi funzionali rappresenta sicuramente un efficace mezzo di prevenzione delle patologie croniche, quali ad esempio patologie gastrointestinali, cardiocircolatorie, diabete di tipo 2 e tumori. E' comunque da tenere presente che la situazione normativa relativa ai cibi funzionali è ancora incerta, e molti organismi accademici, scientifici e normativi sono impegnati attivamente nella ricerca dei fondamenti scientifici a sostegno delle proprietà dei componenti funzionali o degli alimenti che li contengono. Sono inoltre necessari studi approfonditi per verificare la sicurezza della somministrazione all'uomo di questi alimenti arricchiti in specifici componenti. Si rendono quindi necessari sempre nuovi e migliori metodi analitici di screening che permettano di eseguire studi su larga scala per ottenere dati con una sufficiente significatività statistica.