

Laboratorio di Citologia, Istologia & Oncologia Sperimentale
Relazione esperimenti preliminari del progetto

*“Effetti dei componenti del Texidrofolico della Soc. Citozeatec di
Peschiera Borromeo, sulla crescita cellulare normale
e ridotta crescita neoplastica”*

Responsabili scientifici: Prof. Simone Beninati, Dott. F. Antonelli.

Introduzione

Abbiamo focalizzato il nostro studio sulla ricerca del potenziale effetto sinergico, derivante dalla azione dei diversi costituenti del Texidrofolico, i quali agiscono, non su un singolo bersaglio ma, su diversi target e cooperano in un percorso agonista-sinergico per provocare una potente attività farmacologica.

Il concetto di target include enzimi, substrati, proteine e metaboliti, recettori, canali ionici, proteine di trasporto, DNA / RNA, ribosomi, anticorpi monoclonali, meccanismi fisico-chimici e cascate di segnali (1).

Il vantaggio di questa molteplicità di costituenti attivi e delle loro azioni complementari, conferisce al Texidrofolico un'azione delicata, profonda e duratura, rispetto ad un farmaco derivato dalla sintesi chimica, che generalmente consiste in un singolo principio attivo, che avrà un'azione unica, focalizzata e incisiva.

Alcuni componenti del Texidrofolico non hanno effetti farmacologici, ma migliorano la biodisponibilità di altri composti attivi, consentendo così ai composti attivi di essere molto più efficaci in confronto all'azione che manifesterebbero da soli. Questi costituenti, che lavorano in sinergia con altre molecole inattive, sono chiamati “co-effettori”.

Il ruolo di alcuni di questi co-effettori può, ad esempio, aumentare la solubilità in acqua, di altri costituenti attivi, oppure aiutare il loro passaggio attraverso le membrane cellulari a livello della parete intestinale, facilitando così la loro diffusione nel sangue. Altri co-effettori possono anche avere un ruolo protettivo, nei confronti dell'azione metabolica degli enzimi coinvolti durante il percorso delle sostanze attive nel corpo, prima che raggiungano il loro sito di azione. Quindi le sostanze attive (enzimi) non possono essere degradate e manterranno tutta la loro attività.

Grazie alla moltitudine di costituenti, il corollario di effetti sinergici coniugati e variabili, la polivalenza di attività complementari, l'efficacia a basse dosi e l'azione concertata e armoniosa di altri costituenti che li accompagnano, il Citozym agirà in modo dolce, profondo e duraturo e potrebbe avere un'azione regolatoria in aggiunta alla propria azione sintomatica.

(1) Imming P, Sinning C, Meyer A. Drugs, their targets and the nature and number of drug targets. Nat Rev Drug Discov 2006 5(10):821-34.

Razionale della sperimentazione

Al fine di studiare la sinergia fra i diversi componenti del Texidrofolicolo, abbiamo considerato che l'effetto di questo prodotto è certamente il risultato dell'azione integrata della molteplicità di sostanze che lo compongono, e non può essere semplicemente riprodotto con l'isolamento di uno o più principi attivi. Il fine è dimostrare che la presenza nel Texidrofolicolo di molecole farmacologicamente inattive influenza l'assorbimento, la stabilità e il rilascio di determinati principi attivi, andando ad agire sulla loro biodisponibilità.

Risultati e Discussione

I singoli componenti più significativi sono stati utilizzati puri e alla concentrazione normalmente utilizzata per la sperimentazione su varie patologie. In particolare i principi attivi utilizzati sono stati:

Mannitolo Maltitolo Maltosio Sorbitolo Isomalto Maltotriosio Inositolo Lattulosio Xilitolo

La tabella 1 illustra la riduzione percentuale della proliferazione cellulare di una linea cellulare di epatocarcinoma umano trattata con i singoli componenti citati.

Tabella 1									
Riduzione della proliferazione cellulare in presenza dei singoli componenti del Citozym									
Mannitolo	maltitolo	Maltosio	Sorbitolo	Isomalto	Maltotriosio	Inositolo	Lattulosio	Xilitolo	riduzione crescita cellulare %
2.8	12.9	0.3	0.4	4.7	3.4	0.4	3.2	12.6	24 h
3.7	15.3	0.5	1.2	6.5	4.5	0.7	5.4	25.7	48 h
5.4	21.8	0.6	2.2	10.8	6.7	1.2	6.9	39.6	96 h
Vit. C	Vit. B5	Vit. D	Vit. B9	tartarico	piruvico	citrico	Amilasi	Lattasi	riduzione crescita cellulare %
1.20	0.06	0.02	0,00	2,00	0.7	0,02	0,37	0,42	24 h
3.3	0.08	0.04	0,00	1.8	0.5	0,20	12,00	45,00	48 h
5.4	1,00	0.07	0.03	2.3	1,00	0,50	28,00	60,00	96 h
le concentrazioni sono equiparate ai trattamenti con la formulazione completa									

La fase successiva della sperimentazione è stata effettuata miscelando i componenti che hanno mostrato una spiccata attività antiproliferativa : Maltitolo, Isomalto, Xilitolo, Amilasi e Lattasi

Dalla Tabella 2, si evince che i 5 componenti miscelati non mostrano un effetto sinergico evidente, infatti i risultati in percentuale di antiproliferazione della linea cellulare tumorale rimangono simili a quelli osservati per la sola Lattasi (45% a 48 ore; 60% a 96 ore). E' invece utile notare che è evidente l'incremento dell'antiproliferazione esercitata dalla miscela a 24 ore. La velocità di antiproliferazione appare infatti incrementata raggiungendo il 38%. Valore non osservato per i tre singoli componenti (Xilitolo, Amilasi e Lattasi). Quindi questo appare il primo dato significativo per ciò che concerne un potenziale effetto sinergico.

Tabella 2					
Riduzione della proliferazione cellulare (%) in presenza della miscela di 5 componenti del Citozym risultati più attivi (Tabella 1)					
		24 h	48 h	96 h	
maltitolo					
Isomalto					
Xilitolo		38	47	58	
Amilasi					
Lattasi					

La percentuale di antiproliferazione è stata valutata anche per la miscela dei componenti risultati potenzialmente attivi, ma percentualmente meno attivi dei precedenti. Dalla tabella 1 si evince che 4 componenti (Mannitolo, Maltotriosio Lattulosio e Vitamina C), hanno mostrato una percentuale di antiproliferazione inferiore rispetto ai componenti precedentemente analizzati (Maltitolo, isomalto, Xilitolo, Amilasi e Lattasi). I valori di antiproliferazione sono mostrati in Tabella 3.

Tabella 3					
Riduzione della proliferazione cellulare (%) in presenza della miscela di 4 componenti del Citozym risultati attivi (Tabella 1)					
		24 h	48 h	96 h	
Mannitolo					
Maltotriosio		2.5	3.7	8.5	
Lattulosio					
Vit. C					

Si deduce dai valori presentati in tabella 3, che la miscela di questi componenti (Mannitolo, Maltotriosio Lattulosio e Vitamina C), non presenta alcun effetto sinergico sull'antiproliferazione.

La successiva sperimentazione è stata focalizzata sulla ricerca di sinergia fra i componenti più attivi e quelli meno attivi. Abbiamo aggiunto alla miscela più attiva (Maltitolo, Isomalto, Xilitolo, Amilasi e Lattasi) un componente della serie dei meno attivi. La Tabella 4 illustra l'azione sinergica dei 4 componenti meno attivi (Mannitolo, Maltotriosio Lattulosio e Vitamina C), presi singolarmente.

Tabella 4									
Riduzione della proliferazione cellulare (%) in presenza della miscela di 4 componenti del Citozym									
risultati più attivi arricchita di un componente meno attivo (Tabella3)									
		24 h	48 h	96 h			24 h	48 h	96 h
maltitolo					maltitolo				
Isomalto					Isomalto				
Xilitolo		42	70	88	Xilitolo		40	42	62
Amilasi					Amilasi				
Lattasi					Lattasi				
Mannitolo				Maltotriosio					
		24 h	48 h	96 h			24 h	48 h	96 h
maltitolo					maltitolo				
Isomalto					Isomalto				
Xilitolo		45	52	60	Xilitolo		48	65	82
Amilasi					Amilasi				
Lattasi					Lattasi				
Lattulosio				Vit. C					

Un evidente effetto sinergico è stato osservato con l'aggiunta di Vitamina C o di Mannitolo, noti antiossidanti. Come si evince dalla Tabella 4 , il Maltotriosio e il Lattulosio non incrementano l'azione antiproliferativa della miscela: Maltitolo, Isomalto, Xilitolo, Amilasi e Lattasi., mentre sia la Vitamina C e il Mannitolo, incrementano il valore ottenuto con la sola miscela di circa il 20%.

Tabella 5			
Riduzione della proliferazione cellulare (%) in presenza della miscela di 9 componenti del Citozym			
	24 h	48 h	96 h
maltitolo			
Isomalto			
Xilitolo			
Amilasi	52	65	90
Lattasi			
Mannitolo			
Maltotriosio			
Lattulosio			
Vit. C			

La miscela completa di 9 elementi (Tabella 5) evidenzia un significativo effetto sinergico (+30%) rispetto al controllo dopo 96 ore di trattamento.

Target del sinergismo

Abbiamo cercato i target del sinergismo esercitato dai 9 componenti citati. Gli elementi cellulari coinvolti in questa azione del Texidrofolico sono evidenziati nel grafico di **Figura 1**. Con il controllo non trattato posto a 100, abbiamo elaborato le percentuali di variazione di 5 parametri cellulari coinvolti nella proliferazione e cancerogenesi, dopo 96 ore di trattamento con la miscela indicata in Tabella 5..

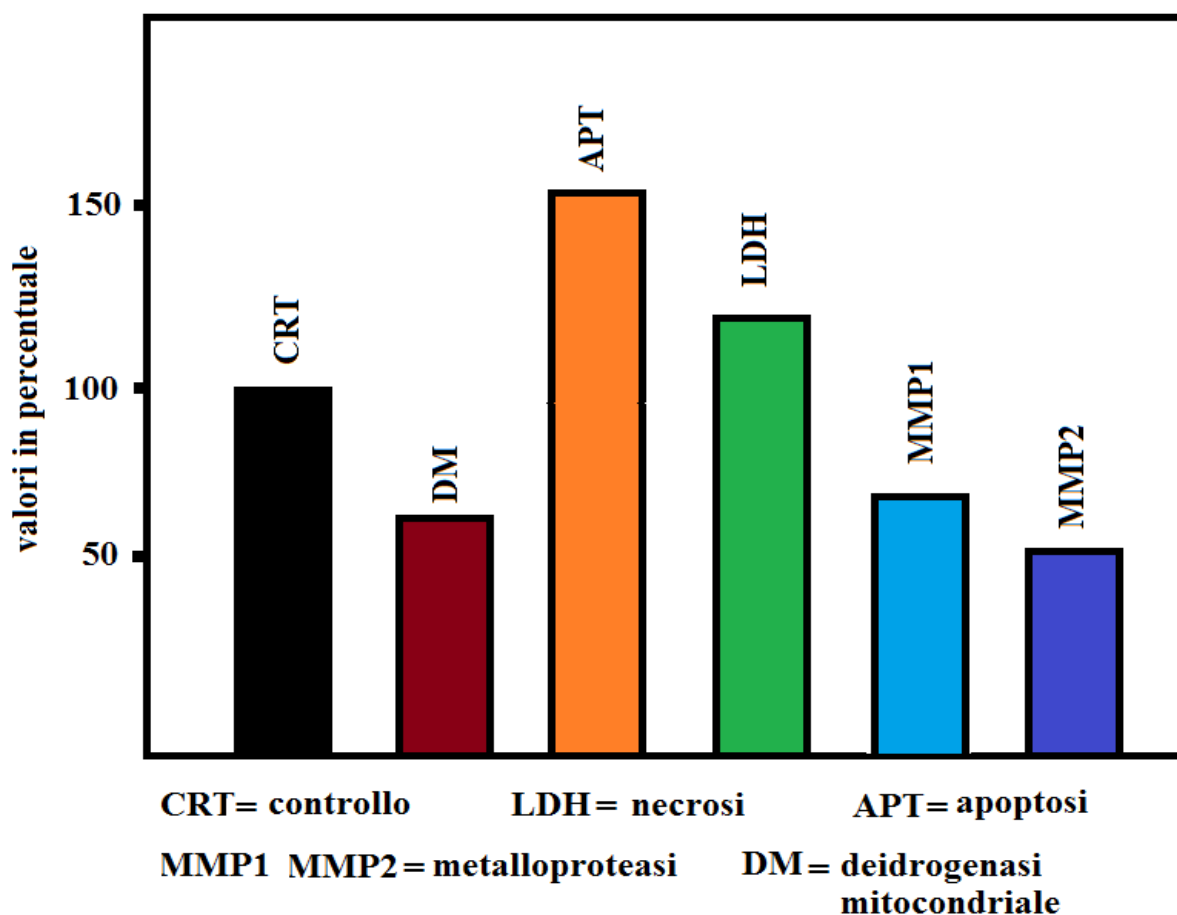


FIGURA 1

Deidrogenasi Mitocondriale (DM)

Le deidrogenasi hanno un ruolo fondamentale nei processi metabolici cellulari, processi come la glicolisi, il ciclo di krebs, la fosforilazione ossidativa e la β -ossidazione sono possibili grazie a tali enzimi che catalizzano reazioni specifiche. Dal grafico di Figura 1, si evince che 96 ore di trattamento con la miscela completa presentata in Tabella 5, le attività delle deidrogenasi mitocondriali sono ridotte del 35%. Il dato indica la riduzione dei cicli metabolici cellulari che conducono alla utilizzazione delle sostanze di riserva e quindi alla formazione di ATP.

Apoptosi (APT)

La riduzione della proliferazione osservata nelle condizioni indicate è in parte dovuto all'incremento della morte cellulare (apoptosi) del 58%.

Lattato deidrogenasi (LDH)

La lattato deidrogenasi, liberata nel mezzo di coltura indica la morte cellulare per necrosi. Nell'esperimento indicato a 96 ore di coltura appare un incremento di LDH di circa il 21%.

Metalloproteasi (MMP1/MMP2)

Le MMP1 e 2 svolgono un ruolo fondamentale nei processi cellulari quali: Proliferazione cellulare Migrazione (adesione/appiattimento) Differenziamento Angiogenesi Apoptosi e Difesa dell'ospite. La riduzione di tali attività enzimatiche (MMP1= 30% ; MMP2= 44%) sono indice di riduzione sia del potere metastatico che invasivo delle cellule di epatocarcinoma umano utilizzate.

CONCLUSIONI

La sperimentazione presentata ha evidenziato il ruolo chiave del potere antiossidante esercitato dal Texidrofolico. Infatti è risultato statisticamente provata l'azione sinergica di due antiossidanti quali l'acido ascorbico e il mannitolo. La capacità antiproliferativa della miscela a 9 componenti (Tabella 5), ha inoltre evidenziato il ruolo chiave svolto da queste molecole, **in assenza di zuccheri**. L'osservazione di molti, che il Texidrofolico ha nella sua composizione più del 90 % di zuccheri, trova risposta nella doppia azione di questo integratore: stimolatore della attività cellulare nella produzione di energia, prima con la glicolisi e dopo con il ciclo mitocondriale e l'altra di aumento del potere antiossidante di elementi dannosi per la cellula. Il risultato di tale connubio è fornire energia alla cellula e contemporaneamente ridurre gli effetti deleteri dello stress ossidativo. Abbiamo sempre affermato che il Texidrofolico non è un farmaco, ma presenta dei co-effettori, con un ruolo protettivo, nei confronti dell'azione metabolica degli enzimi coinvolti durante il percorso delle sostanze attive (enzimi) nel corpo, prima che raggiungano il loro sito di azione. **Quindi le sostanze attive (enzimi) non possono essere degradate e manterranno tutta la loro attività svolta nella cellula. Per 2 motivi il primo per raggiungere l'energia di attivazione necessaria alla funzione enzimatica e l'altra per evitare di danneggiare il corredo proteico enzimatico.**

Stiamo attualmente indagando i siti di azione dei vari componenti in cellule normali e tumorali per cercare un eventuale specificità d'azione.

Roma li 08/10/2018

Dott. Antonelli Francesco



I responsabili scientifici

Prof. Simone Beninati



Link della Pubblicazione

<http://article.sapub.org/10.5923.j.ijtt.20190801.03.html>