

# Pharmanutrition and Functional Foods

TRIMESTRALE DI AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO

ORGANO UFFICIALE

**SINut**  
Società Italiana di Nutraceutica

## EDITORIALE

**Arrigo F.G. Cicero** ..... 7

È possibile modificare significativamente la pressione con un nutraceutico combinato associato a dieta? I risultati di uno studio clinico pilota

**Arrigo F.G. Cicero, Federica Fogacci, Marilisa Bove,  
Marina Giovannini, Claudio Borghi** ..... 8

Probiotici e rischio cardiovascolare: rationale clinico

**Alessandro Colletti** ..... 12

Razionale per la supplementazione di acidi grassi (omega-3)  
nell'insufficienza renale cronica

**Giuseppe Derosa, Angela D'Angelo, Pamela Maffioli** ..... 19

Palmitoiletanolamide: overview e strategie formulative

**Manuel R. Mosconi** ..... 23



# Pharmanutrition and Functional Foods

Anno II, N. 4 - Dicembre 2017  
TRIMESTRALE DI AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO  
Registrazione presso Tribunale di Milano N. 93 del 23/03/2016

---

**EDITORE** SINERGIE S.r.l., Edizioni Scientifiche  
Via Morimondo, 26 - 20143 Milano  
Tel. 02 58118054 - Fax 02 8322004  
redazione@edizionisinergie.com  
www.edizionisinergie.com

**DIRETTORE RESPONSABILE** Mauro Rissa (Milano)

**DIRETTORE SCIENTIFICO** Arrigo F.G. Cicero (Bologna)

**COORDINATORE EDITORIALE** Alessandro Colletti (Bologna)

**BOARD SCIENTIFICO** Maria Antonietta Bianchi (Varese)  
Davide Grassi (L'Aquila)  
Enzo Grossi (Milano)  
Fabrizio Muratori (Como)  
Maria Letizia Petroni (Rimini)  
Gianluca Scuderi (Roma)  
Sauro Vittori (Camerino)

**SEGRETERIA DI REDAZIONE** SINERGIE S.r.l., Edizioni Scientifiche

**IMPAGINAZIONE** SINERGIE S.r.l., Edizioni Scientifiche

**STAMPA** Galli Thierry Stampa S.r.l.  
Via Caviglia, 3 - 20139 Milano

**TIRATURA** 1.000 copie



# Pharmanutrition and Functional Foods

TRIMESTRALE DI AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO

## EDITORIALE

**Arrigo F.G. Cicero** ..... 7

È possibile modificare significativamente la pressione con un nutraceutico combinato associato a dieta? I risultati di uno studio clinico pilota

**Arrigo F.G. Cicero, Federica Fogacci, Marilisa Bove,  
Marina Giovannini, Claudio Borghi** ..... 8

Probiotici e rischio cardiovascolare: rationale clinico

**Alessandro Colletti** ..... 12

Razionale per la supplementazione di acidi grassi (omega-3)  
nell'insufficienza renale cronica

**Giuseppe Derosa, Angela D'Angelo, Pamela Maffioli** ..... 19

Palmitoiletanolamide: overview e strategie formulative

**Manuel R. Mosconi** ..... 23



## Editoriale

Cari Soci,

eccoci all'ultimo numero del 2017 di *Pharmanutrition & Functional foods*, a voi distribuito coi migliori auguri di un buon 2018 ad inizio anno!

In questo numero della rivista affronteremo alcuni temi caldi, fra i quali le evidenze cliniche a supporto dell'impiego di probiotici nella gestione di alcuni fattori di rischio cardiovascolare.

Per chi volesse approfondire l'argomento dell'approccio nutraceutico alle dislipidemie suggerirei la visualizzazione in open-access dal link <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC28883839/> del documento di consenso multisocietario internazionale sulla gestione delle dislipidemie. Presto sarà caricato anche sul nuovo sito della rivista nella sua versione italiana, ma nel frattempo questo è già disponibile. Vi ricordo inoltre che le ultime copie del "Trattato italiano di nutraceutica clinica" pre-ristampa sono ancora disponibili (scontate per i Soci SINut), scrivendo direttamente all'Editore Scripta Manent ([info@edizioniscriptamanent.eu](mailto:info@edizioniscriptamanent.eu)).

Entro metà 2018 uscirà inoltre a stampa l'"*Handbook of nutraceuticals*" (edito da Springer-Verlag) a cura del Presidente

e del Dr. Alessandro Colletti: sarà un tentativo di schematizzare per grandi aree tematiche le conoscenze disponibili circa l'utilizzabilità dei nutraceutici più "evidence-based" con dettagli su dosaggi attivi, durata del trattamento, cenari di farmacocinetica e farmacodinamica, potenziali eventi avversi ed interazioni farmacologiche e voci bibliografiche di riferimento. Il 20 gennaio 2018 si terrà a Pavia la seconda edizione del convegno SINut dedicato alla gestione nutraceutica delle malattie cardiometaboliche a Pavia (con la coordinazione scientifica del prof. Giuseppe Derosa). Da febbraio ad aprile partirà invece la seconda edizione della "Ketogenic academy" che tanto successo ha riscosso nella sua prima versione del 2017.

Quindi, sempre in primavera SINut sarà presente con un simposio ad hoc all'interno di NUCE, per poi arrivare all'VIII Congresso Nazionale che anche quest'anno si terrà a Bologna il 15-16 giugno, sempre nella cornice del Savoia Regency Hotel.

Altre novità verranno tempestivamente comunicate ai lettori!

Buona lettura!

**Arrigo F.G. Cicero**  
Presidente SINut

# È possibile modificare significativamente la pressione con un nutraceutico combinato associato a dieta? I risultati di uno studio clinico pilota

Is it possible to significantly modify blood pressure with a combined nutraceutical on top on a healthy diet? The results of a pilot clinical trial

**Arrigo F.G. Cicero, Federica Fogacci, Marilisa Bove, Marina Giovannini, Claudio Borghi**

*Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Alma Mater Studiorum Università di Bologna*

## Introduzione

Le linee guida internazionali per la gestione dell'ipertensione arteriosa e del rischio di malattia cardiovascolare suggeriscono come primo step per il trattamento di pazienti affetti da pre-ipertensione o ipertensione di primo grado il miglioramento dello stile di vita in senso salutistico [1]. È infatti indubbio che un corretto approccio dietetico (specie se associato ad una modificazione globale dello stile di vita) è associato ad una significativa riduzione del rischio cardiovascolare in popolazione generale e nel paziente iperteso [2]. Tuttavia spesso modificazione dello stile di vita non è semplice e può dare risultati dopo tempi lunghi, e questo riduce da un lato compliance e persistenza ai cambiamenti stessi e dall'altra a riduzione dell'efficacia attesa di questi interventi.

Un possibile supporto alla modificazione dello stile di vita può venire dall'impiego di alcuni integratori o nutraceutici ad azione antipertensiva, che, quando efficaci, possono garantire una riduzione significativa della pressione arteriosa, anche on top alla terapia standard [3]. Infatti meta-analisi di trials clinici randomizzati contro placebo hanno chiaramente dimostrato che diverse sostanze di origine naturale possono singolarmente indurre cali pressori di 2-8 mmHg di pressione arteriosa sistolica e 2-5 mmHg di pressione diastolica [4]. Alcuni di questi richiedono dosaggi molto elevati (es.: acidi grassi omega 3), altri sono troppo costosi (es.: lactotripeptidi), mentre altri ancora sono gravati da effetti collaterali (es.: estratti di aglio invecchiato) [5]. D'altra parte altri nutraceutici come ad esempio i donatori di precursori dell'ossido nitrico, magnesio ed acido folico possono determinare miglioramento della funzionalità endoteliale e conseguentemente calo dei livelli pressori [6].

In questo contesto abbiamo condotto uno studio clinico controllato pilota contro placebo per valutare come la combinazione di nutraceutici antipertensivi evidence-based possa migliorare il controllo pressorio domiciliare sul breve e medio termine in soggetti affetti da pre-ipertensione o ipertensione di primo grado.

## Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto su 36 pazienti pre-ipertesi ed ipertesi di primo grado, non farmacologicamente trattati, con rischio cardiovascolare stimato moderato, secondo algoritmo SCORE.

Lo studio è stato condotto secondo le regole etiche della dichiarazione di Helsinki e tutti i pazienti hanno formalmente acconsentito allo studio. Dopo 4 settimane di dieta di stabilizzazione di stampo mediterraneo iposodico, durante le quali i pazienti sono stati istruiti alla scelta di alimenti corretti, ad evitare eccessi e ad aumentare la propria attività fisica quotidiana, gli stessi soggetti sono stati randomizzati ad assumere un nutraceutico combinato o un placebo indistinguibile per colore e sapore, una bustina tutte le mattine prima di colazione.

Il prodotto testato conteneva un mix di sostanze bioattive (BPLN, contenente un donatore di ossido nitrico, magnesio, e vitamine) a dimostrata azione antipertensiva (gentilmente fornito da Pharmanutrition R&D, Milano, Italia).

I tre giorni precedenti è stato richiesto ai pazienti di misurare la loro pressione domiciliare alle ore 7.00 (prima di colazione) ed alle ore 19 (prima di cena), eseguendo 3 misurazioni consecutive, come da linee guida. I parametri pre-trattamento e post-trattamento considerati (pressione arteriosa sistolica, diastolica, di polso e media) sono sta-



ti derivati dalla media dei dati raccolti nelle 3 misurazioni mattutine e serali dei 3 giorni precedenti la visita.

La colesterolemia totale è stata monitorata per poter stimare le eventuali variazioni del rischio stimato con l'algoritmo SCORE, mentre la creatininemia è stata impiegata per valutare eventuali variazioni di eGFR (stimata tramite formula CKD-EPI), come parametro di safety.

I dati sono stati confrontati con ANCOVA impiegando il software statistico SPSS 21.0 e considerando una soglia di significatività di 0.05.

## Risultati

Sono stati arruolati 36 soggetti di età media  $55 \pm 8$  anni, equidistribuiti fra uomini e donne. La compliance alla dieta è stata monitorata e valutata come buona per tutta la durata dello studio in entrambi i gruppi di trattamento.

Nessun paziente ha lamentato effetti collaterali durante l'assunzione del prodotto attivo e del placebo. In entrambi i gruppi non si sono osservate variazioni significative della creatininemia e della eGFR. L'accettazione globale dei prodotti è stata buona in entrambi i gruppi e la compliance al trattamento vicina al 100%.

Le variazioni dei principali parametri di efficacia è stata riassunta in tabella 1 (placebo) e 2 (trattamento attivo). Nel gruppo con placebo si è osservata una minima ma significativa riduzione della pressione arteriosa sistolica mattutina rispetto al basale, compatibile con l'effetto della prosecuzione della modificazione dello stile di vita prescritto alla visita di screening (desumibile anche dal lieve ma significativo miglioramento della colesterolemia totale che ha manifestato un trend simile).

Il gruppo trattato con nutraceutico ha invece mostrato una significativa riduzione di tutti i parametri pressori mattutini e della sola pressione arteriosa sistolica serale, sia versus la baseline che versus il gruppo trattato con placebo. Questo si è tradotto in una riduzione significativa del rischio cardiovascolare stimato solo nel gruppo trattato con nutraceutici, sia versus la baseline che versus il gruppo trattato con placebo.

## Discussione

Le linee guida per la gestione delle dislipidemie ha già identificato da circa una decina d'anni nei nutraceutici e negli alimenti funzionali ad azione ipocolesterolemizzante

### VARIAZIONI DEI PARAMETRI EMODINAMICI, LABORATORISTICI E DEL RISCHIO CARDIOVASCOLARE NEL GRUPPO TRATTATO CON PLACEBO

N. 36	Baseline	8 settimane	16 settimane
<b>PAS mattutina (mmHg)</b>	146±8	141±9*	140±7*
<b>PAD mattutina (mmHg)</b>	91±3	89±4	89±6
<b>PP mattutina (mmHg)</b>	55±4	52±4	55±3
<b>PAM mattutina (mmHg)</b>	109±11	106±10	107±8
<b>PAS serale (mmHg)</b>	148±7	146±9	145±9
<b>PAD serale (mmHg)</b>	92±4	91±4	90±3
<b>PP serale (mmHg)</b>	56±3	55±4	55±3
<b>PAM serale (mmHg)</b>	111±11	110±9	109±11
<b>Colesterolo totale (mg/dL)</b>	192±14	174±13*	177±12*
<b>eGFR (ml/min)</b>	82±7	83±6	82±8
<b>Rischio CV stimato (%)</b>	5.1±0.8	4.7±0.9	4.7±1.0

\*P <0.05 vs. baseline

**PAS**= Pressione Arteriosa Sistolica, **PAD**= Pressione Arteriosa Diastolica, **PP**= Pressione di Polso, **PAM**= Pressione Arteriosa Media, **eGFR**= Filtrato glomerulare stimato, **CV**= Cardiovascolare

Tab. 1

**VARIAZIONI DEI PARAMETRI EMODINAMICI, LABORATORISTICI E DEL RISCHIO CARDIOVASCOLARE NEL GRUPPO TRATTATO COL NUTRACEUTICO COMBINATO**

<b>N. 36</b>	<b>Baseline</b>	<b>8 settimane</b>	<b>16 settimane</b>
<b>PAS mattutina (mmHg)</b>	147±8	138±7*°	139±8*°
<b>PAD mattutina (mmHg)</b>	92±4	86±3*°	85±4*°
<b>PP mattutina (mmHg)</b>	55±4	52±4*	54±3*
<b>PAM mattutina (mmHg)</b>	109±10	106±9*°	107±9*°
<b>PAS serale (mmHg)</b>	149±9	145±7*°	144±8*°
<b>PAD serale (mmHg)</b>	91±5	89±5	88±3*
<b>PP serale (mmHg)</b>	58±5	56±6	56±5
<b>PAM serale (mmHg)</b>	111±10	108±9	107±9
<b>Colesterolo totale (mg/dL)</b>	188±16	167±14*	166±13*
<b>eGFR (ml/min)</b>	82±7	83±6	82±8
<b>Rischio CV stimato (%)</b>	5.2±0.8	4.1±0.9	4.2±1.0

\*P <0.05 vs. baseline, ° P<0.05 vs. placebo

**PAS**= Pressione Arteriosa Sistolica, **PAD**= Pressione Arteriosa Diastolica, **PP**= Pressione di Polso, **PAM**= Pressione Arteriosa Media, **eGFR**= Filtrato glomerulare stimato, **CV**= Cardiovascolare

**Tab. 2**

un mezzo per controllare i livelli lipidici nei pazienti a minor rischio [7]. Nonostante una equivalente (se non talora maggiore) mole di evidenza a favore degli integratori ad azione antipertensiva, questo tipo di approccio non è ancora stato chiaramente sviluppato. Eppure, le più recenti linee guida americane per l'identificazione e gestione del paziente iperteso hanno stressato particolarmente l'identificazione di pazienti con pressione precedentemente definita come "normale-alta" e l'ottimizzazione del controllo pressorio in soggetti vicini a valori "normali" [8]. Questo tipo di approccio comporterà da un lato all'identificazione di un numero molto più elevato di soggetti ipertesi e dall'altro di un alto numero di soggetti con pressione non ottimizzata [9]. Dato che le stesse linee guida stressano come questo fenomeno non debba essere necessariamente gestito con un potenziamento del carico farmacologico, allora diventa di sempre maggiore interesse trovare alternative che possano rendere il paziente più aderente alla modificazione dello stile di vita nonché a rendere tali modificazioni più efficaci nel ridurre i livelli pressori senza indurre eventi avversi.

Il moderato, ma significativo, effetto antipertensivo osser-

vato nel nostro studio è stato in linea con quello previsto dal contenuto di principi bioattivi ad azione vasodilatatrice presenti nell'integratore testato.

Questi effetti si sono mantenuti anche dopo le prime 4 settimane di trattamento e confermano, specie per gli effetti sulla pressione arteriosa, che i risultati preliminari non sono dovuti a semplici variazioni volumiche e che non portano a fenomeni di adattamento/tachifilassi. Il risultato finale è stato una riduzione significativa del rischio cardiovascolare stimato secondo algoritmo SCORE di circa un punto percentuale con un ottimo profilo di tollerabilità. L'attenuarsi dell'efficacia in serata, rispetto alle misurazioni mattutine post-assunzione, è probabilmente legata alla breve emivita dei componenti del nutraceutico attivo, il che peraltro garantisce da improbabili fenomeni di accumulo e consentirà di spostarne l'orario di somministrazione secondo necessità. Infine i componenti attivi si prestano ad associazione con altri farmaci antipertensivi e a svolgere funzioni extra-vascolari di particolare importanza (v. magnesio, vitamina D, etc.) [10].

I principali limiti di questo studio esplorativo sono stati la ridotta numerosità campionaria e la breve durata del test,

per cui non è al momento dato sapere se si possa avere un adattamento all'effetto e quindi una riduzione dell'efficacia sul lungo termine. Tuttavia la permanenza dell'effetto su 16 settimane di trattamento dovrebbe escludere fenomeni di tachifilassi. Ulteriori studi devono essere condotti su più soggetti e di durata maggiore. Tuttavia l'efficacia e sicurezza di impiego dei singoli componenti inclusi nella formulazione testata nel nostro studio è stata già ampia-

mente dimostrata in numerosi studi di durata maggiore ed adeguatamente potenti.

In conclusione, il nutraceutico composito testato riduce a medio termine pressione arteriosa sistolica e diastolica, portando quindi a riduzione significativa del rischio cardiovascolare stimato in un campione di pazienti affetti da pre-ipertensione o ipertensione di primo grado.

## BIBLIOGRAFIA

1. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, Cooney MT, Corrà U, Cosyns B, Deaton C, Graham I, Hall MS, Hobbs FD, Løchen ML, Löllgen H, Marques-Vidal P, Perk J, Prescott E, Redon J, Richter DJ, Sattar N, Smulders Y, Tiberi M, Bart van der Worp H, van Dis I, Verschuren WM. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Atherosclerosis*. 2016; 252: 207-74.
2. Schwingshackl L, Hoffmann G. Diet quality as assessed by the Healthy Eating Index, the Alternate Healthy Eating Index, the Dietary Approaches to Stop Hypertension score, and health outcomes: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *J Acad Nutr Diet*. 2015 May;115(5):780-800.e5. doi: 10.1016/j.jand.2014.12.009.
3. Cicero AF, Colletti A. Nutraceuticals and Blood Pressure Control: Results from Clinical Trials and Meta-Analyses. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2015 Sep;22(3):203-13. doi: 10.1007/s40292-015-0081-8.
4. Sirtori CR, Arnoldi A, Cicero AF. Nutraceuticals for blood pressure control. *Ann Med*. 2015;47(6):447-56. doi: 10.3109/07853890.2015.1078905.
5. Borghi C, Cicero AF. Nutraceuticals with a clinically detectable blood pressure-lowering effect: a review of available randomized clinical trials and their meta-analyses. *Br J Clin Pharmacol*. 2017 Jan;83(1):163-171. doi: 10.1111/bcp.12902.
6. Cicero AF, Borghi C. Evidence of clinically relevant efficacy for dietary supplements and nutraceuticals. *Curr Hypertens Rep*. 2013 Jun; 15(3): 260-7. doi: 10.1007/s11906-013-0333-8.
7. Patti AM, Toth PP, Giglio RV, Banach M, Noto M, Nikolic D, Montalto G, Rizzo M. Nutraceuticals as an Important Part of Combination Therapy in Dyslipidaemia. *Curr Pharm Des*. 2017; 23(17): 2496-2503. doi: 10.2174/1381612823666170317145851.
8. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE Jr, Collins KJ, Dennison Himmelfarb C, DePalma SM, Gidding S, Jamerson KA, Jones DW, MacLaughlin EJ, Muntner P, Ovbigele B, Smith SC Jr, Spencer CC, Stafford RS, Taler SJ, Thomas RJ, Williams KA Sr, Williamson JD, Wright JT Jr. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension*. 2017 Nov 13. pii: HYP.0000000000000065. doi: 10.1161/HYP.0000000000000065.
9. Muntner P, Carey RM, Gidding S, Jones DW, Taler SJ, Wright JT Jr, Whelton PK. Potential U.S. Population Impact of the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association High Blood Pressure Guideline. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Nov 6. pii: S0735-1097 (17) 41474-4. doi: 10.1016/j.jacc.2017.10.073.
10. Cicero AFG, Fogacci F, Colletti A. Food and plant bioactives for reducing cardiometabolic disease risk: an evidence based approach. *Food Funct*. 2017 Jun 21; 8(6): 2076-2088. doi: 10.1039/c7fo00178a.

# Probiotici e rischio cardiovascolare: razionale clinico

Probiotics and cardiovascular disease risk: the clinical background

**Alessandro Colletti**

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Alma Mater Studiorum Università di Bologna

## Introduzione

Un'ampia varietà di microbi commensali colonizza le superfici del nostro corpo e il nostro intestino. Si stima che ci siano più di 100 trilioni di microbi commensali classificati in almeno 1000 specie diverse nel nostro tratto gastrointestinale. Tuttavia, la nostra comprensione sulla diversità del microbiota e microbioma intestinale è tutt'oggi largamente limitata e distorta. Le quattro principali phyla che compongono il microbiota intestinale sono i *Firmicutes*, i *Bacteroidetes*, gli *Actinobacteria* e i *Proteobacteria*. Il numero di microbi presente a livello intestinale è di circa dieci volte superiore a quello delle cellule somatiche del nostro corpo e questi microrganismi partecipano alla maggior parte delle attività metaboliche *in vivo* con effetti rilevanti. Inoltre, il microbiota intestinale contiene oltre 600.000 geni [1], circa 25 volte più del numero di geni del nostro genoma, evidenziando l'esistenza di un ecosistema altamente complesso con il potenziale di effetti significativi sui processi metabolici e sulla funzione immunitaria del nostro organismo. Le cellule immunitarie, nervose ed endocrine intestinali sono strettamente interconnesse al microbiota intestinale e formano un ecosistema molto complesso (da qui la denominazione dell'intestino come il "secondo cervello"), attraverso interazioni continue con l'ospite, che contribuiscono all'equilibrio omeostatico dell'organismo. In effetti il microbiota contribuisce all'omeostasi dell'epitelio intestinale, allo sviluppo del sistema immunitario, alla produzione e all'assorbimento di micronutrienti, alla fermentazione di componenti alimentari indigesti per l'organismo, al metabolismo dei farmaci e alla protezione contro i patogeni [2,3,4]. Può inoltre svolgere funzioni difensive negli individui sani attraverso la produzione di composti antimicrobici, acidi grassi volatili e acidi biliari modificati chimicamente, impedendo la colonizzazione intestinale da parte di patogeni.

Recenti studi clinici e preclinici sottolineano il ruolo significativo del microbiota e microbioma intestinale nella patogenesi della sindrome metabolica e di altre patologie cardio-

vascolari tra cui lo scompenso cardiaco e il diabete di tipo II. Condizioni di disbiosi intestinale sono infatti associate ad una traslocazione di frammenti batterici che in cronico può dar origine ad "endotossiemia metabolica" (causata da batteri e/o frammenti batterici, come lipopolisaccaridi (LPS), che passano attraverso le barriere intestinali nel sangue), portando a infiammazione sistemica.

Poiché queste molecole possono stimolare l'infiltrazione dei macrofagi e attivare la sintesi di citochine infiammatorie, un aumento della segnalazione di citochine può inibire la sintesi proteica e migliorare il catabolismo. La letteratura scientifica a disposizione evidenzia una correlazione diretta fra l'infiammazione sistemica cronica di basso grado e lo sviluppo di insulino-resistenza, diabete e obesità. La proporzione relativa di alcuni principali phyla di batteri intestinali, come i *Bacteroidetes* e i *Firmicutes* (una percentuale inferiore di *Bacteroidetes* e *Firmicutes* di abbondanza superiore), può avere delle connessioni con alcune patologie cardiovascolari [5]. Ad esempio, nell'intestino "obeso", il phylum *Firmicutes* (94,6% del microbiota intestinale) è generalmente più abbondante rispetto ai *Bacteroidetes* (3,2%), mentre l'intestino "magro" mostra un notevole spostamento verso i *Bacteroidetes* (18,9% del totale) [6]. A conferma di quanto detto la perdita di peso indotta dalla dieta e/o da interventi di chirurgia bariatrica promuove cambiamenti significativi nella composizione microbica intestinale. La regolazione del microbiota intestinale attraverso la supplementazione di prebiotici o probiotici può ridurre l'infiammazione intestinale di basso grado e migliorare l'integrità della barriera intestinale, promuovendo così l'equilibrio omeostatico-metabolico e riducendo il rischio di patologie cardiovascolari.

"I probiotici sono organismi vivi (da "bios" = vita) che se somministrati in quantità adeguata, apportano un beneficio alla salute dell'ospite" (OMS). Rimanendo nell'ambito cardiovascolare, alcuni ceppi probiotici hanno evidenziato proprietà promettenti su altri fattori di rischio tra cui l'ipertensione e le dislipidemie. Elevati livelli di colesterolo e altri tipi

di lipidi nel plasma così come l'ipertensione arteriosa rappresentano le principali cause di morbilità cardiovascolare e altre disabilità nei paesi sviluppati. Il supplemento nella dieta con prodotti lattiero-caseari fermentati o batteri lattici specifici, ha dimostrato la possibilità di ridurre tali fattori di rischio [7].

Di seguito saranno brevemente discussi i principali razionali di trattamento con probiotici in ambito cardiovascolare, sia in prevenzione, sia come adiuvanti al trattamento farmacologico convenzionale. Saranno citati ed in seguito riassunti in tabella 1 i principali meccanismi d'azione, i dosaggi utilizzati negli studi clinici e i risultati di efficacia e tossicità (laddove si siano verificati effetti collaterali di entità rilevante).

## Ipercolesterolemia

Come i probiotici riducano la colesterolemia non è ad oggi ancora chiaro: tuttavia numerosi studi hanno evidenziato diverse modalità d'azione, che stanno ricevendo sempre più conferme. I batteri lattici con idrolasi attiva sui sali biliari (BSH) abbassano i livelli di colesterolo attraverso l'interazione con i sali biliari. Esiste infatti un meccanismo basato sulla capacità di alcuni lattobacilli e bifidobatteri di deconiugare gli acidi biliari enzimaticamente, aumentando i loro tassi di escrezione. Gli acidi biliari primari, l'acido colico e chenodesossicolico, sono sintetizzati "de novo" nel fegato dal colesterolo. La solubilità del nucleo steroideo è aumentata in seguito alla coniugazione dei sali biliari con glicina (glicconiugati) o taurina (tauroconiugati). Le molecole risultanti sono quindi anfipatiche e possono solubilizzare i lipidi per formare micelle miste. La deconiugazione catalizzata da BSH consiste nell'idrolisi del legame ammidico (fra amminoacido e acido biliare), liberando la frazione glicina/taurina dal nucleo steroideo. I sali biliari deconiugati sono meno solubili e meno efficientemente riassorbiti dal lume intestinale rispetto ai sali coniugati. Inoltre, gli acidi biliari liberi sono meno efficienti nella solubilizzazione e l'assorbimento dei lipidi nell'intestino. Pertanto, la deconiugazione dei sali biliari operata da alcuni ceppi probiotici determina una riduzione del colesterolo plasmatico da una parte aumentando la richiesta di colesterolo per sintesi "de novo" di acidi biliari, dall'altra riducendo l'assorbimento dei lipidi a livello intestinale, diminuendone la solubilità nei sali biliari [8,9].

Oltre alla deconiugazione dei sali biliari, sono stati individuati altri meccanismi d'azione che producono effetti ipocolesterolemizzanti. È stato dimostrato che alcuni ceppi probiotici possono alterare il pH intestinale, l'incorporazione del colesterolo nelle micelle intestinali e le vie di trasporto del colesterolo e/o delle lipoproteine (es. NPC1L1) [10].

Il *L. acidophilus* e *L. bulgaricus* sono in grado di attaccare e/o internalizzare il colesterolo sulla propria membrana. Gli stessi microrganismi sono dotati di alcuni enzimi (colesterolo deidrogenasi/isomerasi) in grado di catalizzare la trasformazione del colesterolo in Colest-4-en-3-one, un cofattore intermedio nella conversione del colesterolo in coprosterolo o coprostanolo, direttamente escreto nelle feci [11].

L'effetto ipolipemizzante dei probiotici è stato evidenziato da diversi studi clinici e confermato da metanalisi di RCTs con risultati variabili a seconda dei ceppi prescelti, dei dosaggi somministrati, della durata dei trattamenti e delle condizioni fisiopatologiche dei soggetti. In generale, la supplementazione con *L. acidophilus*, *L. acidophilus* + *B. lactis*, *L. acidophilus* + *S. Boulardii* e *L. acidophilus* a dosaggi superiori a 3 mld (vitali)/die per periodi di trattamento superiori ai 30 giorni ha dimostrato di ridurre il colesterolo totale (TC) [10 mg/dL; p <0,01] e il colesterolo LDL (LDL-C) [9 mg/dL; p <0,01] rispetto ai controlli sia in popolazioni adulte che pediatriche. Il colesterolo HDL (HDL-C), il rapporto HDL/LDL, e i trigliceridi (TG) sono migliorati in alcuni RCTs, ma sono necessari ulteriori indagini su popolazioni più ampie per verificare tali evidenze e definire rigorosamente i tipi di soggetti, i ceppi probiotici, i dosaggi, le formulazioni e la durata dei trattamenti [12,13]. In generale, tutti gli studi clinici hanno evidenziato un buon profilo di sicurezza in relazione alla supplementazione probiotica.

## Sovrappeso, obesità e sindrome metabolica

Negli ultimi anni, sono diversi gli studi pubblicati che suggeriscono il ruolo cruciale della composizione del microbiota intestinale nello sviluppo dell'obesità [14]. È ben noto che il microbiota intestinale gioca un ruolo importante nello stoccaggio e nel consumo di energia, così come è nota la differenza del microbiota di un soggetto sano da uno obeso (più elevato in quest'ultimo il rapporto *Firmicutes/Bacteroidetes*) [15]. È risaputo infatti che cambiamenti nel rapporto tra *Bacteroidetes* e *Firmicutes* sono associati all'obesità [16,17]. Come già sottolineato in precedenza, il microbiota influenza condizioni di infiammazione di basso grado, come l'obesità e il diabete di tipo II, attraverso l'alterazione delle giunzioni serrate, aumentando la permeabilità intestinale ed incrementando la frazione di lipopolisaccaride in circolo [18].

*Deizenne et al.* [19] hanno scoperto che gli acidi grassi a catena corta (tra cui il propionato e il butirato) prodotti dalla fermentazione di alcune fibre, si legano nell'intestino al recettore 41 accoppiato alla proteina G e promuovono l'espressione del peptide YY, che rallenta il transito intestinale, aumentando così l'assorbimento di alcuni micronutrienti.

## PROBIOTICI IN PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE: PRINCIPALI SETTORI DI INTEGRAZIONE

Fattore di rischio	Ceppi probiotici	Popolazioni trattate	Dosaggi (microorganismi vitali)	Durata del trattamento	Effetto primario	Altri effetti	Ref.
Ipercolesterolemia	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> + <i>B. lactis</i> , <i>L. acidophilus</i> + <i>S. Boulardii</i> e <i>L. acidophilus</i>	Bambini, adolescenti, adulti, anziani con dislipidemie lievi o moderate	>3,5 miliardi/die	>4 settimane	Lieve calo colesterolemia totale e colesterolemia LDL	Calo livelli pressione arteriosa sistolica e diastolica, hsCRP, miglioramento rapporto HDL/ LDL (effetto ceppo dipendente), BMI, circonferenza vita	[52]
Iperensione	<i>L. johnsonii</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. helveticus</i> + <i>S. cerevisiae</i> , <i>L. casei Shirota</i> + <i>L. lactis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> (?), <i>L. acidophilus</i>	Adulti, anziani pre-ipertesi o ipertesi	≥10 <sup>11</sup> UFC/die	>8 settimane	Lieve calo PAS e PAD	Calo livelli hsCRP e TNF-alfa, glicemia, miglioramento BMI, circonferenza vita, livelli di NO, fibrinogeno, colesterolo, leptina, IL-6 e F2-isoprostano	[53,54]
Sovrappeso, Obesità, Sindrome metabolica	<i>L. salivarius</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. animalis subsp.</i> <i>lactis</i>	Adolescenti, adulti, anziani con sovrappeso o obesità	>10 <sup>9</sup> UFC/die - <1,5 10 <sup>11</sup> UFC/die	3-12 settimane	Lieve calo peso corporeo, BMI, circonferenza vita e fianchi	Calo livelli pressione arteriosa sistolica e diastolica, glicemia, hsCRP, miglioramento livelli di leptina, adiponectina e indice HOMA	[55]
Iperglicemia	<i>L. acidophilus</i> + <i>L. casei</i> + <i>L. rhamnosus</i> + <i>L. bulgaricus</i> + <i>B. breve</i> + <i>B. longum</i> + <i>S. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> + <i>B. lactis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i> + <i>L. bifidum</i> + <i>L. casei</i> , <i>L. sporogenes</i>	Adulti o anziani con pre-diabete o diabete di tipo II	>10 <sup>9</sup> UFC/die (estremamente variabile a seconda dei ceppi utilizzati e del veicolo di somministrazione)	4-12 settimane	Lieve calo FPG, indice HOMA, insulina a digiuno, HbA1c	Calo livelli pressione arteriosa sistolica e diastolica, hsCRP, colesterolo totale, colesterolo LDL, BMI, circonferenza vita, miglioramento livelli HDL	[56]

FPG = glicemia a digiuno, HbA1c = emoglobina glicata, hsCRP = proteina C reattiva ad alta sensibilità, LAD = diametro atriale sinistro, LVEF = frazione d'ieiezione ventricolare sinistra, PAS = pressione arteriosa sistolica, PAD = pressione arteriosa diastolica, TMAO = trimetil-amina-N-ossido, UFC = Unità formanti colonia

Tab. 1

Hanno inoltre scoperto che alcuni acidi grassi a catena corta attivano il recettore 43 accoppiato alla proteina G, con azione sul metabolismo lipidico.

Una recente meta-analisi di studi randomizzati e controllati ha valutato gli effetti dell'integrazione probiotica sul peso corporeo, sull'indice di massa corporea (BMI), sulla massa

grassa e sulla percentuale di grasso nei soggetti con sovrappeso (BMI 25-29,9 kg m<sup>-2</sup>) o obesità (BMI ≥30 kg m<sup>-2</sup>). Gli studi inclusi nella metanalisi hanno compreso un totale di 957 soggetti (63% donne), con BMI medio di 27,6 kg m<sup>-2</sup> e la durata dei trattamenti è variata dalle 3 alle 12 settimane. La somministrazione di probiotici ha comportato una

riduzione significativa del peso corporeo (-0,60 Kg [CI 95%: -1,19, -0,01]), del BMI (-0,27 kg m<sup>-2</sup> [CI 95%: -0,45, -0,08]) e della percentuale di grasso (-0,60% [CI 95%: -1,20, -0,01]) rispetto al placebo [20].

La maggior parte degli studi a lungo termine (12-24 settimane) ha riportato variazioni di peso corporeo o di grasso corporeo significative rispetto ai gruppi controllo: in particolare due RCTs [21,22] hanno mostrato effetti positivi sul peso corporeo e sui grassi viscerali, specialmente nelle femmine. Questi due studi hanno reclutato un numero relativamente maggiore di soggetti (trattati con *Lactobacilli*) e hanno avuto durata più lunga (3 mesi di trattamento) rispetto ad altri studi da 4 settimane di trattamento (quasi tutti con esiti negativi). *Kadooka et al.* [23] hanno condotto uno studio ampio e ben progettato che ha rilevato una diminuzione significativa del BMI, del grasso viscerale, del grasso sottocutaneo e della circonferenza della vita nel gruppo di trattamento (latte fermentato con *Lactobacillus gasserii*) a 2 dosi (2 × 10<sup>9</sup> CFU/die e 2 × 10<sup>8</sup> CFU/die), e *Sanchezetal et al.* [24] hanno dimostrato che il trattamento con *Lactobacillus rhamnosus* causa una riduzione significativa del peso corporeo e del grasso corporeo solo nelle femmine. Pertanto, il trattamento a lungo termine con *Lactobacilli* può facilitare la riduzione del peso corporeo e del grasso corporeo.

Tuttavia non tutti gli studi clinici sono in accordo: uno dei più grandi limiti delle metanalisi di RCTs con risultati non significativi sul controllo del peso è quello di non aver esaminato il livello di attività fisica quotidiano così come i comportamenti alimentari o i modelli dietetici dei partecipanti, quindi la mancanza di significativi effetti benefici dei probiotici sul controllo del peso evidenziata dalla metanalisi di *Park et al.* [25] è probabilmente dovuta all'assenza di controlli restrittivi delle abitudini alimentari.

Inoltre gli studi inclusi nelle metanalisi hanno comportato l'assunzione di diverse quantità di probiotici, ceppi diversi e diverse durate di trattamento, che hanno portato a risultati contraddittori. A causa di questa varietà di fattori, è difficile ad oggi determinare gli effetti dei probiotici sul controllo del peso in maniera chiara e definitiva.

Come riportato nel lavoro di *He et al.* la molteplicità dei meccanismi con cui agiscono i probiotici ne consente un'opzione interessante nei soggetti con sindrome metabolica [26].

## Iperglicemia

La permeabilità intestinale può essere alterata in seguito a condizioni di disbiosi intestinale e quindi da batteri opportunisti o patogeni e/o frammenti batterici, come i lipopolisaccaridi (LPS), che passano attraverso l'intestino nel sangue

e possono portare all'endotossemia metabolica [27]. I LPS si legano quindi ai recettori delle citochine situati negli epatociti e negli adipociti, inducendo in tal modo il rilascio di citochine pro-infiammatorie e causando fenomeni di insulino-resistenza. Queste molecole inducono l'infiltrazione dei macrofagi e determinano la sintesi di citochine infiammatorie [28,29]. I probiotici possono migliorare le funzioni della barriera intestinale, promuovendo così la proliferazione di microrganismi eubiotici o commensali e inibendo la proliferazione di alcuni patogeni gram-negativi. Possono inoltre ridurre la traslocazione di LPS e la produzione di citochine pro-infiammatorie nei tessuti adiposi. Il ripristino della microflora intestinale e quindi dell'eubiosi è stato associato ad un miglioramento della funzionalità del trasportatore del glucosio GLUT4, della traduzione dei geni PPAR- $\gamma$  e lipogenici e ad una riduzione dell'espressione di alcuni marcatori infiammatori (IL-6, TNF- $\alpha$ ). L'integrazione probiotica può ridurre quindi l'infiammazione cronica di basso grado causata dalla composizione alterata del microbiota intestinale (migliorando particolarmente il rapporto *Bacteroidetes/Firmicutes*) [30]. In aggiunta un aumento dei livelli di GLP-1 e GLP-2 circolanti sono stati osservati in modelli murini trattati con probiotici rispetto al controllo [31]. L'aumento della produzione di GLP-2 a seguito di una dieta prebiotica è stato correlato ad un aumento del numero di batteri intestinali benefici, a una migliore integrità della barriera intestinale e ad una riduzione dell'infiammazione metabolica e dell'endotossemia [32,33,34].

Gli effetti benefici relativi al consumo di probiotici sulla resistenza insulinica, la glicemia a digiuno e alcuni marcatori infiammatori inclusa la proteina C-reattiva ad alta sensibilità (hs-CRP), sono stati riportati anche nei pazienti diabetici o pre-diabetici.

*Asemi et al.* hanno valutato gli effetti di un supplemento comprendente sette ceppi vitali e liofilizzati di *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *Streptococcus thermophilus* e 100 mg di fruttosio oligosaccaridi. 54 pazienti diabetici di età compresa tra 35 e 70 anni sono stati trattati con tale supplemento (n=27) o placebo (n=27) per 8 settimane. I risultati hanno evidenziato un miglioramento significativo della glicemia a digiuno (p=0.01) e dei livelli plasmatici di glutazione (p=0.03) oltre ad una riduzione dei valori di hsCRP (p=0.02) rispetto al placebo [35].

Risultati analoghi sono stati ottenuti in pazienti diabetici di tipo II con un'associazione di *L. acidophilus* e *B. lactis* per 6 settimane: alla fine del trattamento i pazienti hanno manifestato una diminuzione della glicemia a digiuno e dell'emo-

globina glicata ( $p < 0.05$ ). In aggiunta, i probiotici migliorano l'attività della glutazione perossidasi ed il potere antiossidante totale riducendo lo stato di ossidazione [36].

In una recente metanalisi di 12 RCTs (684 pazienti) è stato valutato l'effetto dei probiotici in pazienti con diabete di tipo II: i risultati sono stati significativi in termini di riduzione dei livelli di emoglobina glicata (HbA1c) ( $p = 0,002$ ), di insulina a digiuno ( $p = 0,0003$ ) e indice HOMA ( $p = 0,0002$ ) [37]. Risultati simili sono stati ottenuti dalla metanalisi di *Hu et al.* (12 RCTs e 770 partecipanti diabetici), con una riduzione significativa della glicemia a digiuno di  $-11,27$  mg/dL (95%CI:  $-21,76, -0,79$ ;  $p < 0,001$ ) e dell'indice HOMA di  $-1,05$  (95%CI:  $-1,52, -0,59$ ,  $p < 0,001$ ), ma senza riduzione significativa della HbA1c [38].

## Ipertensione

Sebbene l'uso dei probiotici sia stato principalmente associato al miglioramento della salute intestinale, evidenze cliniche hanno dimostrato che tali microrganismi svolgono un ruolo importante in altre patologie o fattori di rischio, tra cui l'ipertensione [39]. Negli ultimi anni i probiotici e il loro utilizzo potenziale nel mantenimento della salute cardiovascolare e renale hanno ricevuto molta attenzione tra le comunità scientifiche. Gli effetti benefici di alcuni ceppi probiotici sulla PA (pressione arteriosa) sono stati esaminati recentemente [40].

È interessante notare che la regolazione dell'ipertensione attraverso la somministrazione di probiotici sembra essere legata a diversi meccanismi d'azione, come il miglioramento dei livelli lipidici, dei trigliceridi, la deconiugazione degli acidi biliari, la produzione di peptidi bioattivi ed acidi grassi a catena corta (acetato, butirato, propionato) con azione ipotensiva (inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina), la regolazione del sistema immunitario, l'inibizione del rilascio di citochine proinfiammatorie o altri marcatori infiammatori (TNF-alfa) e della traslocazione di endotossine batteriche nel sangue (es. LPS), ed infine il controllo dell'indice di massa corporea. Inoltre, un aumento dell'assorbimento di nutrienti, fitoestrogeni e la riduzione dei livelli di glucosio plasmatico possono anch'essi influenzare l'effetto probiotico sulla regolazione della pressione arteriosa [41,42].

I risultati provenienti dalla letteratura scientifica suggeriscono che la regolazione della PA da parte dei probiotici è ceppo specifica: alcuni batteri lattici come il *Lactobacillus johnsonii* La1 (LJLa1), un probiotico colonizzatore delle cellule epiteliali intestinali, hanno un'azione ipotensiva riportata sia in modelli animali che nell'uomo [43]. Dati

contrastanti sono stati ottenuti invece con il *Lactobacillus casei* [44].

Diversi studi hanno mostrato una riduzione moderata o significativa dei rapporti di PAS/PAD (pressione arteriosa sistolica/pressione arteriosa diastolica) in seguito a supplementazione probiotica. Ad esempio, la somministrazione di *Lactobacillus helveticus* LBK-16H contenente tripeptidi per 21 settimane ha ridotto la PAS mediamente di  $6,7 (\pm 3,0)$  mmHg in 36 soggetti ipertesi rispetto al controllo [45]. Allo stesso modo, una riduzione media della PAS di  $5,2 (\pm 8,1)$  mmHg e PAD di  $1,7$  mmHg è stata registrata in uomini ipertesi borderline (di età compresa tra 23 e 59 anni) trattati con *L. helveticus* e *Saccharomyces cerevisiae* [46]. È stato dimostrato che la somministrazione del lisato di cellule *L. casei* riduce i livelli di PA, trigliceridi, colesterolo plasmatico e glucosio rispetto al gruppo di controllo [47]. In un altro studio, il latte fermentato con il *L. casei* Shirota e *Lactococcus lactis* e arricchito con GABA ( $1$  mg/ml) ha ridotto significativamente il valore medio della PAS ( $17,4 \pm 4,3$  mmHg) e PAD ( $7,5 \pm 5,7$  mmHg) in pazienti lievemente ipertesi [48]. Inoltre, una meta-analisi basata su 14 RCTs ha dimostrato che il latte arricchito in probiotici riduce significativamente sia la PAS sia la PAD in soggetti pre-ipertesi o con ipertensione di grado I [49].

In uno studio randomizzato, controllato in doppio cieco, il consumo di un *Lactobacillus plantarum* ( $2 \times 10^{10}$ /CFU/ml/die) in 36 fumatori per 6 settimane ha significativamente ridotto la PAS ( $13 \pm 4$  mmHg,  $p < 0,001$ ). Inoltre, sono state osservate riduzioni significative nei livelli di fibrinogeno e nelle concentrazioni di colesterolo, leptina, IL-6 e F2-isoprostanone (marcatori biochimici per la perossidazione lipidica e lo stress ossidativo) [50].

Una recente metanalisi di RCTs ha evidenziato un potenziale ipotensivo maggiore quando la PA al basale è elevata, quando vengono supplementate più specie di probiotici in associazione (soprattutto *Lactobacilli* + *Saccaromiceti*), la durata del trattamento è  $\geq 8$  settimane e la dose giornaliera è  $\geq 10^{11}$  CFU [51].

Ad oggi, diverse domande meritano una risposta attraverso studi clinici specifici, molti dei quali partiti proprio con il nuovo anno. Innanzitutto, se gli effetti protettivi vascolari sono correlati a cambiamenti nell'infiltrazione delle cellule immunitarie, riducendo lo stress ossidativo vascolare e aumentando i livelli plasmatici di ossido nitrico (NO). In secondo luogo, sono necessari studi di trapianto del microbiota fecale per verificare se effettivamente i cambiamenti nel microbiota intestinale indotti dai probiotici sono responsabili del ripristino della permeabilità intestinale e



dello stato infiammatorio di basso grado. Terzo, se la produzione di acidi grassi a catena corta da parte di alcuni ceppi probiotici è responsabile dell'effetto antipertensivo. Queste domande potrebbero chiarire i meccanismi coinvolti negli effetti protettivi di specifici probiotici, e dunque il loro reale potenziale nel trattamento dell'ipertensione arteriosa. Tenuto conto del fatto che i meccanismi patofisiologici coinvolti nello sviluppo dell'ipertensione possono variare a seconda del soggetto e che i meccanismi ipotensivi dei probiotici sono quasi sconosciuti, vale la pena indagare

sulla possibilità di scegliere uno specifico ceppo probiotico per ottenere benefici in un particolare paziente iperteso.

## Conclusione

Alcuni ceppi probiotici hanno dimostrato di modulare i livelli di alcuni fattori di rischio cardiovascolare nell'uomo, tuttavia studi ripetuti sullo stesso ceppo, di durata maggiore e su campioni più ampi sono necessari per arrivare ad un'indicazione specifica per la supplementazione massiva in popolazione.

## BIBLIOGRAFIA

1. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010; 464 (7285): 59-65.
2. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*. 2012; 336 (6086): 1262-7
3. Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, et al. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*. 2011; 474 (7351): 327-36.
4. Holmes E, Kinross J, Gibson GR, et al. Therapeutic modulation of microbiota-host metabolic interactions. *Sci Transl Med*. 2012; 4(137): 137rv136.
5. Sanz Y, Rastmanesh R, Agostoni C. Understanding the role of gut microbes and probiotics in obesity: how far are we? *Pharmacol Res*. 2013; 69(1): 144-55.
6. Ferrer M, Ruiz A, Lanza F, et al. Microbiota from the distal guts of lean and obese adolescents exhibit partial functional redundancy besides clear differences in community structure. *Environ Microbiol*. 2013; 15(1): 211-26.
7. Sáez-Lara MJ, Robles-Sanchez C, Ruiz-Ojeda FJ, et al. Effects of Probiotics and Synbiotics on Obesity, Insulin Resistance Syndrome, Type 2 Diabetes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Review of Human Clinical Trials. *Int J Mol Sci*. 2016 Jun 13;17(6). pii: E928.
8. Choi SB, Lew LC, Yeo SK, et al. Probiotics and the BSH related cholesterol lowering mechanism: a Jekyll and Hyde scenario. *Crit Rev Biotechnol*. 2014 Feb 27 [Epub ahead of print]
9. Ebel B, Lemetais G, Beney L, et al. Impact of probiotics on risk factors for cardiovascular diseases. A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2014; 54(2): 17589.
10. Kumar M, Nagpal R, Kumar Ret al. Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Exp Diab Res* 2012; 2012: 902917.
11. Mistry P. Natural cholesterol-lowering products: focus on probiotics. *Br J Community Nurs*. 2014; 19(S11): S14-8.
12. Wu Y, Zhang Q, Ren Y, et al. Effect of probiotic *Lactobacillus* on lipid profile: A systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *PLoS One*. 2017 Jun 8; 12(6): e0178868.
13. Cicero AFG, Colletti A, Bajraktari G, et al. Lipid-lowering nutraceuticals in clinical practice: position paper from an International Lipid Expert Panel. *Nutr Rev*. 2017 Sep 1; 75(9): 731-767.
14. Cani PD. Metabolism in 2013: the gut microbiota manages host metabolism. *Nat Rev Endocrinol* 2014; 10: 74-6.
15. Lyra A, Lahtinen S, Tiihonen K, Ouwehand AC. Intestinal microbiota and overweight. *Benef Microbes* 2010; 1: 407-21.
16. Franks I. Obesity: new light shed on obesity-associated gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8:537.
17. Tremaroli V, Backhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 2012; 489: 242-9.
18. Shen J, Obin MS, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med* 2013; 34: 39-58.
19. Deizenne NM, Neyrinck AM, Backhed F, Cani PD. Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 639-40.
20. Borgeraas H, Johnson LK, Skattebu J, et al. Effects of probiotics on body weight, body mass index, fat mass and fat percentage in subjects with overweight or obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obes Rev*. 2017 Oct 18.
21. Kadooka Y, Sato M, Ogawa A, et al. Effect of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 in fermented milk on abdominal adiposity in adults in a randomised controlled trial. *Br J Nutr* 2013; 110: 1696-703.
22. Sanchez M, Darimont C, Drapeau V, et al. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1.3724 supplementation on weight loss and maintenance in obese men and women. *Br J Nutr* 2014; 111: 1507-19.
23. Kadooka Y, Sato M, Ogawa A, et al. Effect of *Lactobacillus gasseri* SBT2055 in fermented milk on abdominal adiposity in adults in a randomised controlled trial. *Br J Nutr* 2013; 110: 1696-703.
24. Sanchez M, Darimont C, Drapeau V, et al. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1.3724 supplementation on weight loss and maintenance in obese men and women. *Br J Nutr* 2014; 111: 1507-19.
25. Park S, Bae JH. Probiotics for weight loss: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Res*. 2015 Jul; 35(7): 566-75.
26. He M, Shi B. Gut microbiota as a potential target of metabolic syndrome: the role of probiotics and prebiotics. *Cell Biosci*. 2017 Oct 25;7:54.
27. Pendyala S, Walker JM, Holt PR. A high-fat diet is associated with endotoxemia that originates from the gut. *Gastroenterology*. 2012; 142(5): 1100-1101
28. Guigoz Y, Dore J, Schiffrin EJ. The inflammatory status of old age can be nurtured from the intestinal environment. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008; 11(1): 13-20.
29. Jensen GL. Inflammation as the key interface of the medical and nutrition universes. a provocative examination of the future of clinical nutrition and medicine. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2006; 30(5): 453-463.
30. Parnell JA, Reimer RA. Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter Bacteroidetes and Firmicutes in lean

- and obese JCR:LA-cp rats. *Br J Nutr.* 2012; 107(4): 601-613.
31. Cani PD, Lecourt E, Dewulf EM, et al. Gut microbiota fermentation of prebiotics increases satietogenic and incretin gut peptide production with consequences for appetite sensation and glucose response after a meal. *Am J Clin Nutr.* 2009; 90(5): 1236-1243
  32. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut.* 2009; 58(8): 1091-1103.
  33. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia.* 2007; 50(11): 2374-2383.
  34. Muccioli GG, Naslain D, Backhed F, et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol Syst Biol.* 2010; 6: 392.
  35. Sanz Y, Rastmanesh R, Agostoni C. Understanding the role of gut microbes and probiotics in obesity: how far are we? *Pharmacol Res.* 2013; 69(1): 144-55.
  36. Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition.* 2012; 28(5): 539-43.
  37. Yao K, Zeng L, He Q, et al. Effect of Probiotics on Glucose and Lipid Metabolism in Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis of 12 Randomized Controlled Trials. *Med Sci Monit.* 2017 Jun 22; 23: 3044-3053.
  38. Hu YM, Zhou F, Yuan Y, et al. Effects of probiotics supplement in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis of randomized trials. *Med Clin (Barc).* 2017 Apr 21; 148(8): 362-370.
  39. Robles-Vera I, Toral M, Romero M, et al. Antihypertensive Effects of Probiotics. *Curr Hypertens Rep.* 2017 Apr; 19(4): 26.
  40. Thushara RM, Gangadaran S, Solati Z, et al. Cardiovascular benefits of probiotics: a review of experimental and clinical studies. *Food Funct.* 2016; 7: 632-42.
  41. Khalesi S, Sun J, Buys N, et al. Effect of probiotics on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *Hypertension.* 2014; 64(4): 897-903.
  42. Ebel B, Lemetais G, Beney L, et al. Impact of probiotics on risk factors for cardiovascular diseases. A review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2014; 54(2): 175-189.
  43. Tanida M, Yamano T, Maeda K, et al. Effects of intraduodenal injection of *Lactobacillus johnsonii* La1 on renal sympathetic nerve activity and blood pressure in urethane anesthetized rats. *Neurosci Lett.* 2005; 389: 109-14.
  44. Tanida M, Imanishi K, Akashi H, Kurata Y, Chonan O, Naito E, et al. Injection of *Lactobacillus casei* strain Shirota affects autonomic nerve activities in a tissue-specific manner, and regulates glucose and lipid metabolism in rats. *J Diabetes Investig.* 2014; 5: 153-61.
  45. Seppo L, Kerojoki O, Suomalainen T, et al. The effect of a *Lactobacillus helveticus* Ibk-16 h fermented milk on hypertension: A pilot study on humans. *Milchwissenschaft.* 2002; 57(3): 124-127.
  46. Mizushima S, Ohshige K, Watanabe J, et al. Randomized controlled trial of sour milk on blood pressure in borderline hypertensive men. *Am J Hypertens.* 2004; 17(8):701-706.
  47. Nakajima K, Hata Y, Osono Y, et al. Antihypertensive effect of extracts of *Lactobacillus casei* in patients with hypertension. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition.* 1995; 18(3): 181-187.
  48. Inoue K, Shirai T, Ochiai H, et al. Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing [ $\gamma$ ]-aminobutyric acid (gaba) in mild hypertensives. *Eur J Clin Nutr.* 2003; 57(3): 490-495.
  49. Dong JY, Szeto IM, Makinen K, et al. Effect of probiotic fermented milk on blood pressure: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr.* 2013; 110(7): 1188-1194.
  50. Naruszewicz M, Johansson ML, Zapolska-Downar D, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76(6): 1249-1255.
  51. Khalesi S, Sun J, Buys N, et al. Effect of probiotics on blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *Hypertension.* 2014; 64: 897-903.
  52. Cicero AFG, Colletti A, Bajraktari G, et al. Lipid-lowering nutraceuticals in clinical practice: position paper from an International Lipid Expert Panel. *Arch Med Sci.* 2017; 13(5): 965-1005.
  53. Robles-Vera I, Toral M, Romero M, et al. Antihypertensive Effects of Probiotics. *Curr Hypertens Rep.* 2017 Apr; 19(4): 26.
  54. Upadrasta A, Madempudi RS. Probiotics and blood pressure: current insights. *Integr Blood Press Control.* 2016 Feb 25; 9: 33-42.
  55. Sáez-Lara MJ, Robles-Sanchez C, Ruiz-Ojeda FJ, et al. Effects of Probiotics and Synbiotics on Obesity, Insulin Resistance Syndrome, Type 2 Diabetes and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Review of Human Clinical Trials. *Int J Mol Sci.* 2016 Jun 13; 17(6): pii: E928.
  56. He M, Shi B. Gut microbiota as a potential target of metabolic syndrome: the role of probiotics and prebiotics. *Cell Biosci.* 2017 Oct 25; 7: 54.

# Razionale per la supplementazione di acidi grassi (omega-3) nell'insufficienza renale cronica

Scientific background for the use of omega 3 fatty acid in chronic kidney disease patients

**Giuseppe Derosa<sup>1,2,3</sup>, Angela D'Angelo<sup>1,3</sup>, Pamela Maffioli<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Ambulatori di Diabetologia, Malattie Metaboliche e delle Dislipidemie, Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Università di Pavia

<sup>2</sup> Centro di Studio e Ricerche di Fisiopatologia e Clinica Endocrino-Metabolica, Università di Pavia

<sup>3</sup> Laboratorio di Medicina Molecolare, Università di Pavia

L'insufficienza renale cronica (IRC) è una condizione degenerativa altamente prevalente nella popolazione generale, associata ad un elevato rischio di malattia cardiovascolare con perdita progressiva della funzione renale (fino alla dialisi o al trapianto nei casi più gravi) e per la quale non vi è alcuna cura specifica.

Gli acidi grassi polinsaturi a catena lunga o omega-3 (n-3 PUFA) sono sempre più oggetto di studio per i loro benefici clinici in svariate condizioni mediche, alcune di particolare rilievo per gli individui con IRC. I tre principali n-3 PUFA sono: l'acido eicosapentaenoico (EPA), l'acido docosapentaenoico (DPA) e l'acido docosaesaenoico (DHA). Si tratta di acidi a "catena lunga" ( $\geq 20$  atomi di carbonio di lunghezza), "polinsaturi" ( $\geq 2$  doppi legami) ed "essenziali" in natura, nel senso che la produzione endogena è estremamente limitata. Il fatto di essere "essenziali" implica che l'adeguato apporto di n-3 PUFA debba essere garantito per la maggior parte dall'apporto dietetico, in quanto anche se n-3 PUFA possono teoricamente essere sintetizzati da acidi grassi a catena corta n-3 come l'acido  $\alpha$ -linolenico (ALA), in vivo di fatto questa conversione è veramente modesta (Fig. 1).

La principale fonte alimentare da cui si possono ottenere n-3 PUFA è la fauna marina come il pesce d'acqua fredda; fattori che possono influenzarne la concentrazione sono: età, sesso, etnia e uso di alcol. n-3 PUFA dovrebbero essere distinti dagli acidi grassi a catena più breve come ALA, che si trova in fonti alimentari (sementi di ortaggi: colza, soia, semi di lino, ecc.), perché i benefici clinici di ALA non sono così ben stabiliti come quelli di n-3 PUFA. n-3 PUFA risultano potenzialmente efficaci in svariati stati patologici, di seguito i più rilevanti per quanto riguarda la nefropatia cronica avanzata.

È dimostrato che n-3 PUFA riducono l'ipertrigliceridemia attraverso una varietà di meccanismi [1-3]. Gli effetti della riduzione dei trigliceridi dovuta a n-3 PUFA possono estendersi a individui con IRC avanzata (creatinina nel siero 1.7-4.5 mg/dl) e allo stadio finale della malattia renale (ESRD) anche utilizzando dosi moderate (~1,0 a 2,5 gr al giorno) [4].

L'ipertensione è estremamente comune in una vasta gamma di malattie renali. Uno studio randomizzato condotto su 85 pazienti con IRC (eVFG media stimata 36 ml/min/1,73m<sup>2</sup>) ha dimostrato che 4 gr al giorno di n-3 PUFA hanno abbassato la pressione sistolica e la diastolica ambulatoriale nelle 24 ore di 3,3 e 2,9 mmHg rispettivamente [5]. Un altro studio condotto su 111 soggetti, ha confermato che 2 grammi di n-3 PUFA al giorno sono associati ad una significativa riduzione dei valori pressori sistolici ( $2,7 \pm 2,5$  mmHg,  $p = 0,001$ ) e diastolici ( $1,3 \pm 3,3$  mmHg,  $p < 0,001$ ) e della frequenza cardiaca ( $4,0 \pm 4,4$  bpm,  $p < 0,001$ ) [6].

Nella nefropatia da Ig A sono stati dimostrati effetti a medio e lungo termine di 3,2 gr orali di EPA e DHA giornalieri in individui con moderata malattia renale (creatinina 1,4 e proteinuria 2,5 gr). In uno studio randomizzato, controllato con placebo, l'olio di pesce ha rallentato la progressione verso l'ESRD e abbassato la mortalità totale da nefropatia da Ig A. I potenziali benefici di n-3 PUFA nel trattamento della nefropatia da Ig A sono superiori ai rischi potenziali, in particolare in pazienti fortemente proteinurici, che possono beneficiare molto di questa terapia [7].

Grazie al suo effetto anti-trombotico, anti-proliferativo e anti-aggregante, l'olio di pesce è stato testato come un mezzo per migliorare la pervietà di accesso vascolare per l'emodialisi. In un particolare studio su 24 pazienti in emo-

### Acidi grassi omega-3 via biochimica

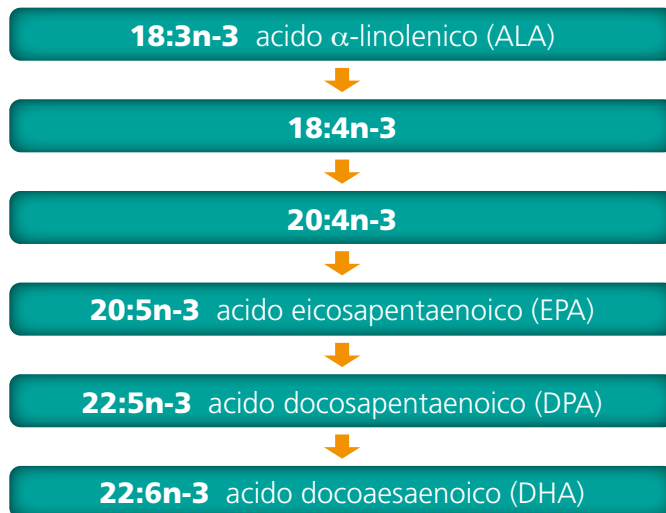


Fig. 1

### SPETTRO D'AZIONE N-3 PUFA

Applicazioni cliniche in IRC avanzata	Meccanismi d'azione	Dosi giornaliere di n-3 PUFA
Ipertrigliceridemia	↓ Trigliceridi	~1,0 fino a 2,5 gr/die
Iperensione	↓ Pressione sistolica e ↓ Pressione diastolica	4 gr/die
Nefropatia IgA	↓ La progressione a ESRD ↓ La mortalità totale	3,2 gr/die
Pervietà di accesso vascolare per emodialisi	↑ Pervietà 60% (effetto antitrombotico antiproliferativo e antiaggregante)	2,7 gr/die
Cardiopatía ischemica	↓ Danno vascolare angiotensina II indotto ↓ Proliferazione delle cellule muscolari lisce ↓ Placche aterosclerotiche ↓ Riduce la chemiotassi, l'espressione di molecole di adesione ↓ Stress ossidativo ↓ Geni pro-aterogeni ↓ Aritmie ventricolari ↓ Aritmie atriali ↓ Morte cardiaca improvvisa	Da 1 gr/die
Mortalità	↓ Mortalità	Relazione inversamente proporzionale

Tab. 1

dialisi randomizzati a 2,7 gr di olio di pesce giornaliero o placebo, il gruppo trattato con olio di pesce ha mostrato un tasso di pervietà più alto del 60% in un anno [8].

Le aree studiate più attentamente si riferiscono al ruolo di n-3 PUFA sulla cardiopatia ischemica. Gli n-3 PUFA contrastano il danno vascolare indotto dall'angiotensina II e la proliferazione delle cellule muscolari lisce [9], stabilizzano le placche aterosclerotiche alterandone la composizione [10], riducono la chemiotassi, l'espressione di molecole di adesione e la suscettibilità allo stress ossidativo e inducono una ipo-regolazione per i geni pro-aterogeni [11]. Infine, gli n-3 PUFA innalzano la soglia elettrofisiologica di sviluppo di aritmie ventricolari, in particolare nel milieu ischemico come nelle aritmie atriali [12].

Gli n-3 PUFA, inoltre, sembrano apportare effetti benefici a un alto numero di surrogati fattori di rischio per morte cardiaca improvvisa tra cui la frequenza cardiaca a riposo e la variabilità della frequenza [13]. Questi ed altri studi sono stati sufficienti a convincere l'*American Heart Association* (AHA) nel 2002 a consigliare a tutti gli individui con riconosciute malattie cardiache di consumare 1 gr di olio di pesce al giorno [14]. Tuttavia, scarse informazioni si hanno, al momento, sugli effetti cardiovascolari di n-3 PUFA nei pazienti affetti da IRC. Uno studio pilota caso-controllo ha coinvolto 40 pazienti in emodialisi e ha segnalato una tendenza verso una minore probabilità di morte cardiaca improvvisa quando i livelli plasmatici totali n-3 PUFA superano il livello medio [15].

Un'associazione inversa tra consumo di n-3 PUFA e mortalità è stata descritta in pazienti in dialisi. In uno studio

prospettico di coorte condotto da Kurner et al. [16] è stato constatato che il consumo di pesce in 216 pazienti dializzati era associato con una riduzione approssimativamente del 50% del rischio di mortalità a 3 anni. Non si può escludere, tuttavia, la possibilità che altri fattori possano spiegare la bassa mortalità, ad esempio, il maggiore livello socio economico, l'assunzione di una dieta sana ecc. Altre aree di indagine risultano coinvolte, tra cui la perdita di massa muscolare e l'elevato stato di infiammazione che la malattia renale terminale comporta. Anche i sintomi depressivi sarebbero alleviati, un problema molto comune nell'ESDR e associato ad una più alta mortalità. La quantità ottimale giornaliera di PUFA nella popolazione generale, e ancor meno nei soggetti con specifiche patologie, non è stata ancora definita; sono in corso diversi studi per stabilire le linee guida sull'assunzione di n-3 PUFA nella dieta. Il *National Institute of Health* (NIH) statunitense raccomanda attualmente un'assunzione giornaliera di EPA e DHA pari a circa il 10 % del consumo totale di ALA che ammonterebbe a circa 110-160 mg/die [17], ma i pazienti con IRC avanzata dovrebbero consumarne livelli superiori perché gli effetti benefici correlati all'assunzione di PUFA sono inversamente proporzionali ai livelli basali e al contenuto nel sangue e nei tessuti. Sulla base delle limitate informazioni disponibili, i pazienti con IRC avanzata hanno livelli relativamente bassi di n-3 PUFA nel sangue. In conclusione le linee attuali dell'AHA possono essere considerate valide anche per i pazienti con IRC, soprattutto in considerazione dei benefici potenziali e del basso profilo di rischio associato al consumo di n-3 PUFA

## BIBLIOGRAFIA

1. Davidson MH. Mechanisms for the hypotriglyceridemic effect of marine omega-3 fatty acids. *Am J Cardiol* 98:27i-33i, 2006.
2. Derosa G, Maffioli P, D'Angelo A, Salvadeo SA, Ferrari I, Fogari E, Gravina A, Mereu R, Randazzo S, Cicero AF. Effects of long chain omega-3 fatty acids on metalloproteinases and their inhibitors in combined dyslipidemia patients. *Expert Opin Pharmacother* 10(8): 1239-1247, 2009.
3. Derosa G, Cicero AF, Fogari E, D'Angelo A, Bonaventura A, Romano D, Maffioli P. Effects of n-3 PUFAs on postprandial variation of metalloproteinases, and inflammatory and insulin resistance parameters in dyslipidemic patients: evaluation with euglycemic clamp and oral fat load. *J Clin Lipidol* 6(6): 553-564, 2012.
4. Saifullah A, Watkins BA, Saha C, Li Y, Moe SM, Friedman AN. Oral fish oil supplementation raises blood omega-3 levels and lowers C-reactive protein in haemodialysis patients-a pilot study. *Nephrol Dial Transplant* 22: 3561-3567, 2007.
5. Mori TA, Burke V, Puddey I, Irish A, Cowpland CA, Beilin L, Dogra G, Watts GF. The effects of [omega]3 fatty acids and coenzyme Q10 on blood pressure and heart rate in chronic kidney disease: a randomized controlled trial. *J Hypertens* 27: 1863-1872, 2009.
6. Cicero AF, Derosa G, Di Gregori V, Bove M, Gaddi AV, Borghi C. Omega 3 polyunsaturated fatty acids supplementation and blood pressure levels in hypertriglyceridemic patients with untreated normal-high blood pressure and with or without metabolic syndrome: a retrospective study. *Clin Exp Hypertens* 32(2): 137-144, 2010.
7. Moriyama T, Iwasaki C, Tanaka K, Ochi A, Shimizu A, Shiohira S, Itabashi M, Takei T, Uchida K, Tsuchiya K, Nitta K. Effects of combination therapy with renin-angiotensin system inhibitors and eicosapentaenoic acid on IgA nephropathy. *Intern Med* 52(2): 193-199, 2013.
8. Schmitz PG, McCloud LK, Reikes ST, Leonard CL, Gellens ME. Prophylaxis of hemodialysis graft thrombosis with fish oil: double-blind, randomized, prospective trial. *J Am Soc Nephrol* 13: 184-190, 2002.

9. Theuer J, Shagdarsuren E, Muller DN, Kaergel E, Honeck H, Park JK, Fiebeler A, Dechend R, Haller H, Luft FC, Schunck WH. Inducible NOS inhibition, eicosapentaenoic acid supplementation, and angiotensin II-induced renal damage. *Kidney Int* 67: 248-258, 2005.
10. Thies F, Garry JM, Yaqoob P, Rerkasem K, Williams J, Shearman CP, Gallagher PJ, Calder PC, Grimble RF. Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomized controlled trial. *Lancet* 361: 477-485, 2003.
11. De Caterina R, Massaro M. Omega-3 fatty acids and the regulation of expression of endothelial pro-atherogenic and pro-inflammatory genes. *J Membr Biol* 206: 103-116, 2005.
12. Calo L, Bianconi L, Colivicchi F, Lamberti F, Loricchio ML, de Ruvo E, Meo A, Pandozi C, Staibano M, Santini M. N-3 Fatty acids for the prevention of atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery: a randomized, controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 45: 1723-1728, 2005.
13. Mozaffarian D, Geelen A, Brouwer IA, Geleijnse JM, Zock PL, Katan MB. Effect of fish oil on heart rate in humans: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Circulation* 112: 1945-1952, 2005.
14. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 106: 2747-2757, 2002.
15. Friedman AN1, Yu Z, Tabbey R, Denski C, Tamez H, Wenger J, Thadhani R, Li Y, Watkins BA. Low blood levels of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids in US hemodialysis patients: clinical implications. *Am J Nephrol* 36(5): 451-458, 2012.
16. Kutner NG, Clow PW, Zhang R, Aviles X. Association of fish intake and survival in a cohort of incident dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 39: 1018-1024, 2002.
17. Institute of Medicine of the National Academies. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. Washington, DC: The National Academies Press, 364-374, 2002.

# Palmitoiletanolamide: overview e strategie formulative

Palmitoylethanolamide: overview and formulative strategies

**Manuel R. Mosconi**

Pharmacist, Master in Nutraceuticals, Milano, Italy - R&D Scientist

## La molecola

Palmitoiletanolamide, conosciuta anche come N-(2-idrossietil)-esadecanammide è un composto endogeno, in particolare un'amide formata da un'ammina e da un acido grasso.

La sua formula bruta è  $C_{18}H_{37}NO_2$ . Spesso ci si riferisce ad essa utilizzando il suo acronimo: PEA.

Le ammidi sono dei composti organici con gruppo funzionale  $RCONH_2$ . Sono inoltre dei derivati di acidi carbossilici, in cui l'idrossile (-OH) è sostituito da un gruppo amminico (-NR'R'').

In questo caso l'acido in questione è il palmitico (o acido esadecanoico), uno degli acidi grassi saturi più comuni negli animali e nelle piante; l'ammina invece è l'etanolammina.

PEA quindi si presenta come un'amide secondaria (solo uno dei due sostituenti R' e R'' è un idrogeno) di acido grasso, e possiede quindi una buona capacità di formare legami idrogeno.

Il punto di fusione, grazie a questa caratteristica, è di circa  $98.5^{\circ}C$ , conseguentemente troviamo, di solito, questo composto allo stato solido.

Le ammidi per loro natura sono costituite da una zona basica e una acida, dunque possono subire idrolisi sia in ambiente acido che in ambiente basico.

Kuehl et al. (Kuehl Jr., et al. 1957) analizzando l'attività di una serie di derivati della PEA, dimostrarono che l'attività antinfiammatoria viene garantita principalmente dalla zona basica della molecola. La natura della zona acida invece è attualmente ritenuta poco interessante per questo tipo di attività.

Molecole cannabinoide-simili come la PEA sono ampiamente distribuite in natura, in una varietà di piante, invertebrati e mammiferi (Buznikov, et al. 2010). Nei mammiferi PEA è ubiquitaria, con una concentrazione tissutale che in un recente studio sui roditori è stata valutata essere nel range medio-alto dei pmol/g (Hansen 2013).

## La sintesi

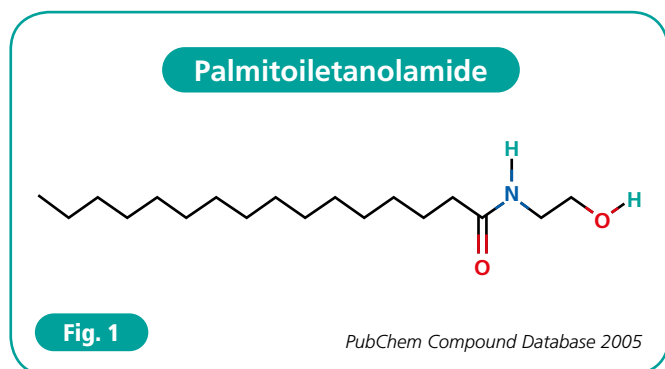
Nell'organismo PEA viene sintetizzata partendo dall'acido palmitico (C16:0), il più comune acido grasso negli animali, prodotto della normale sintesi degli acidi grassi e presente in molti alimenti inclusi olio di palma, carne, formaggi, burro e prodotti caseari.

È stato ormai accertato che la PEA nei mammiferi viene prodotta al bisogno, attraverso un processo che prende atto nelle membrane delle varie tipologie di cellule e coinvolge diversi step, tra cui in parte, delle vie parallele tra loro.

La reazione enzimatica che avviene è simile a quella che porta alla sintesi di anandamide (Di Marzo, et al. 1994) e anche il rilascio dalle vescicole avviene insieme alla anandamide, in seguito alla depolarizzazione neuronale (Izzo, Mascolo e Capasso 2000).

In particolare sono state suggerite due potenziali vie biosintetiche per la PEA.

La via più studiata è quella che passa attraverso la N-palmitoil-fosfatidil-etanolammide, che appartiene alla classe delle N-acil-fosfatidil-etanolammine (NAPEs). NAPEs in generale sono presenti nelle membrane fosfolipidiche e funzionano come precursori stabili e come fonte delle rispettive N-acetil-etanolammine (NAEs).



L'acido palmitico viene incorporato dalla posizione sn-1 di un donatore fosfolipidico come la fosfatidilcolina e trasferito ad una etanolamina, ad esempio fosfatidiletanolamina, attraverso una reazione catalizzata da un N-aciltransferasi calcio-dipendente (Hansen e Diep 2009). Dopodiché la PEA libera può essere generata da una scissione operata da una fosfolipasi-D idrolizzante le NAPE (NAPE-PLD).

Recenti studi hanno però dimostrato la presenza di vie NAPE-PLD indipendenti che consentono attraverso vari step di formare NAEs partendo da NAEs (Tsuboi, et al. 2013). Una via alternativa coinvolge ad esempio la formazione di NAEs da N-acil-plasmenil-etanolamine attraverso vie sia NAPE-PLD dipendenti, sia indipendenti (Tsuboi, et al. 2013).

In generale, lo sviluppo tissutale di NAEs riflette la disponibilità locale dei precursori nella membrana fosfolipidica, che è a sua volta influenzata dalla dieta (Balvers, Verhoeckx e Bijlsma 2012). Nel caso della PEA invece, i livelli tissutali sembrano difficilmente essere influenzati dall'assunzione di acidi grassi tramite la dieta, tranne che nell'intestino, dove i livelli di PEA e delle altre NAEs diminuiscono se vi è un'elevata presenza di grassi (Hansen 2013) (M. G. Balvers, et al. 2013).

Possiamo fare due considerazioni finali riguardo alla presenza plasmatica, e dunque alla sintesi di PEA negli esseri umani:

- la concentrazione plasmatica di PEA è soggetta ad ampie oscillazioni durante la giornata (Joosten, et al. 2010).
- abbiamo un aumento dei livelli di PEA libera durante l'infiammazione (Hansen 2013) (M. G. Balvers, et al. 2013) (Esposito e Cuzzocrea 2013).

## Cenni storici

L'effetto protettivo e antinfiammatorio della PEA può essere ritrovato nella letteratura fin dal 1939 (Coburn e Moore 1939). I batteriologici americani Coburn e Moore dimostrarono in quell'anno che la somministrazione di tuorlo d'uovo essiccato ai bambini che vivevano nelle aree più povere di New York City, preveniva la ricorrenza della febbre reumatica nonostante ripetuti attacchi di infezioni streptococciche emolitiche.

Nuovo interesse salì verso la fine degli anni 60, dovuto al fatto che SPOFA *United Pharmaceutical Works* portò PEA sul mercato in compresse da 300mg, con il nome commerciale di *Impulsin* per trattare influenza e raffreddore.

Vari studi clinici supportarono l'efficacia e la sicurezza di PEA per questo tipo di indicazione terapeutica. Nel periodo

compreso tra il 1969-1979 vennero pubblicati i risultati di 5 studi sugli adulti e uno sui bambini. Tutti furono condotti in doppio cieco e con placebo come controllo.

Nel 1975 Masek e Perlik descrissero su *The Lancet* (Masek e Perlik 1975) anche il risultato di un test clinico nel dolore articolare: l'effetto analgesico di 3 gr/die di aspirina venne paragonato a 1,8 gr/die di PEA. Entrambe le sostanze si dimostrarono efficaci nell'aumento della mobilità articolare e nella diminuzione del dolore.

Nel 1976 l'azienda Almirall introdusse in Spagna Palmidrol, sotto forma di compresse o sospensione, per la stessa indicazione terapeutica di *Impulsin*.

Negli anni '90, venne descritta la relazione tra anandamide e PEA, inoltre fu dimostrato il meccanismo di espressione, sulle mastocellule, dei recettori sensibili ad entrambe le molecole dal gruppo di ricerca coordinato dal premio Nobel Rita Levi-Montalcini (Facci, et al. 1995).

In questo periodo emersero nuovi approfondimenti sulla funzione endogena dei derivati degli acidi grassi come oleammidi, palmitoiletanolamide, 2-lineoilglicerolo, 2-palmitoilglicerolo, e sulla loro capacità di modulare infiammazione e sensibilità al dolore, attraverso la via che ai tempi si credeva fosse quella di trasmissione degli endocannabinoidi (Walker, et al. 2002) (Lambert, et al. 2002).

## Meccanismo d'azione

Le n-aciletanolamine agiscono spesso come molecole di segnale, attivando recettori intracellulari e di membrana, al fine di regolare una varietà di funzioni fisiologiche.

PEA come molecola segnale, attiva recettori intracellulari, nucleari e di membrana, regolando molte funzioni fisiologiche correlate alla cascata infiammatoria e agli stati di dolore cronico.

Classificandola in base al principale meccanismo d'azione essa appartiene agli agonisti dei fattori nucleari. È stato infatti dimostrato che la PEA lega i recettori nel nucleo delle cellule e esercita una grande varietà di funzioni biologiche correlate al dolore cronico e all'infiammazione.

Il complesso meccanismo d'azione proposto per la PEA, può essere schematicamente riassunto elencando gli effetti su:

- Recettori nucleari PPAR $\alpha$  (Lo Verme, et al. 2005)
- Recettori CB2-simili (Calignano A e Piomelli 2001) (Farquhar-Smith, Jaggar e Rice 2001)
- Mastocellule (Mazzari, et al. 1996)
- Fattore di trascrizione NF $\kappa$ B (D'Agostino, et al. 2009)
- Canali K<sup>+</sup> ATP sensibili (Romero e Duarte 2012)
- Canali TRP (Lowin, et al. 2015)



## Recettori PPAR- $\alpha$

Il target principale, nonché quello del quale abbiamo le maggiori evidenze scientifiche, è il recettore  $\alpha$  della classe Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) (S. E. O'Sullivan 2007) (Lo Verme, et al. 2005).

Questa classe di proteine recettore, poste a livello nucleare, svolge la propria funzione come fattore di trascrizione regolando l'espressione dei geni. Le PPARs in generale giocano un ruolo essenziale nella differenziazione e nello sviluppo cellulare, nel metabolismo (di carboidrati, lipidi, proteine) e nella genesi dei tumori. In particolare i recettori PPAR- $\alpha$  sono chiaramente espressi nelle cellule della glia e nei neuroni. Possiamo trovarli anche in fegato, reni, cuore, muscoli, tessuto adiposo (Tyagi, et al. 2011).

Nel 2012 divenne chiaro che la PEA, probabilmente tramite il meccanismo di legame PPAR- $\alpha$ , può ridurre il danno da ri-perfusione e l'impatto negativo dello shock su vari parametri quali: disfunzione renale, danno ischemico, infiammazione. Tra i markers di ri-perfusione e infiammazione misurati, la PEA può ridurre l'aumento di creatinina, gammaGT, AST, la traslocazione nucleare di NF- $\kappa$ Bp65, a livello renale l'attività di MPO e i livelli di MDA, nitrotirosina, PAR e l'adesione molecolare, l'infiltrazione e l'attivazione delle mastocellule, l'apoptosi (Di Paola, Impellizzeri, et al. 2012).

## Recettori CB2-simili

PEA non può essere considerata strettamente un endocannabinoido, poiché manca dell'attività sui recettori cannabinoidi CB1 e CB2 (O'Sullivan e Kendall 2010).

Tuttavia essa mostra un'affinità per i recettori CB2-simili GPR55 e GPR119 (Godlewski, et al. 2009). In particolare si comporta come agonista nei confronti di GPR119, un recettore orfano coinvolto nella secrezione del peptide glucagone-simile, e dovrebbe, almeno in teoria, influenzare la via di segnale degli endocannabinoidi (Overton, et al. 2006) (Lan, et al. 2009), agendo come un substrato competitivo dell'anandamide (N-arachidonoil-etanolamina).

La presenza di PEA risulta essere interessante grazie anche al cosiddetto "effetto entourage", termine coniato nel 1998 da S. Ben-Shabat e Raphael Mechoulam (Jonsson, et al. 2001) (Ho, Barrett e Randall 2008). Con "effetto entourage" si intende una raffinatissima modulazione biologica, operata da parte della PEA e di altre molecole come ad esempio i terpenoidi, a favore della funzione di altri composti endogeni (Walker, et al. 2002). In sostanza, PEA amplifica l'attività antinfiammatoria ed anti-nocicettiva di altri composti endogeni, aumentando la loro affinità per il target, oppure inibendo i loro pathway degradativi.

Tra i composti endogeni che beneficiano dell'effetto entourage, spicca ovviamente l'anandamide.

## Mastocellule

Il meccanismo d'azione della PEA viene spesso descritto con l'acronimo ALIA (*Autacoid Local Injury Antagonism*) (Facci, et al. 1995) quindi la nostra molecola è definita un'ALIAmide. Un'autacoide è una molecola di regolazione, prodotta localmente.

Un'ALIAmide è un'autacoide sintetizzato all'occorrenza in risposta ad un insulto, ed agisce localmente per contrastare questo tipo di problema.

Fu il gruppo di ricerca del premio Nobel Rita Levi-Montalcini che nel 1993 presentò per primo le evidenze che le N-acetiletanolamine come la PEA sono potenziali prototipi di molecole naturali capaci di modulare l'attivazione delle mastocellule; nella stessa pubblicazione, il gruppo di ricerca coniò l'acronimo ALIA (Aloe, Leon e Levi-Montalcini 1993). Le mastocellule, subito dopo la pubblicazione di Levi-Montalcini, apparvero essere un target importante per l'attività antinfiammatoria della PEA, e dal 1993 più di 25 pubblicazioni hanno evidenziato l'attività della PEA su di esse. Esse possono essere trovate in prossimità delle terminazioni dei nervi sensoriali e la loro degranolazione può incrementare il segnale nocicettivo, ragione per cui le mastocellule periferiche sono considerate pro-infiammatorie e pro-nocicettive (Xanthos, et al. 2011).

Un altro gruppo di ricerca dimostrò che la PEA poteva alleviare, in maniera dose-dipendente, il dolore indotto in modelli murini, andando a down-regolare l'iperattività mastocitaria (Calignano A e Piomelli 2001). Questa *down-regulation* viene confermata anche da un recente studio riguardante Adelmirdrol, diammide derivata dall'acido azelaico, analogo di PEA (De Filippis, d'Amico e Cinelli, et al. 2009).

PEA ha un'efficacia molto elevata poiché inibisce anche il rilascio dei mediatori delle mastocellule, come l'istamina e il TNF- $\alpha$  (Cerrato, Brazis e Della Valle, et al. 2010).

Riduce inoltre l'iperattivazione degli astrociti e delle cellule della glia (Esposito, Paterniti, et al. 2011) (Benito, et al. 2012).

Sia le mastocellule che le cellule della glia quindi, sotto l'influenza della PEA, passano da uno stato attivato ad uno stato di riposo (Skaper e Facci 2012).

## NF $\kappa$ B

A livello molecolare la PEA riduce l'attività di enzimi pro-infiammatori come COX, eNOS e la sintasi inducibile dell'ossido nitrico iNOS (Costa B 2002), previene la degradazione di I $\kappa$ B- $\alpha$  e la traslocazione del fattore nucleare NF-kappaB.

## Canali K<sup>+</sup> ATP-sensibili

In uno studio del 2012 (Romero e Duarte 2012) condotto su modello animale, venne studiata l'azione della PEA sui canali del potassio, in questo modo: innanzitutto venne indotta una iperalgesia nella zampa dei ratti, successivamente venne iniettata PEA (5, 10 e 20 microgrammi/zampa) inducendo un effetto antinocicettivo. L'effetto venne efficacemente neutralizzato con l'iniezione di glibenclamide, un inibitore selettivo dei recettori K<sup>+</sup> ATP-sensibili, mentre non accade nulla dopo l'iniezione di tetraetilammonio (bloccante dei canali K<sup>+</sup> voltaggio-dipendenti) e di dequalinio o di paxillina (bloccanti rispettivamente dei canali K<sup>+</sup> calcio-dipendenti, a bassa e ad alta conduttanza). In questo modo venne dimostrato che l'azione antinocicettiva periferica della PEA, potrebbe essere mediata dai canali K<sup>+</sup> ATP-sensibili.

## Canali TRP

In uno studio del 2015 (Lowin, et al. 2015), venne studiato l'effetto antinfiammatorio delle N-acetiletanolamine sull'artrite reumatoide, patologia infiammatoria caratterizzata dalla distruzione della cartilagine e delle ossa.

In particolare in questa patologia abbiamo una iperproliferazione dei fibroblasti sinoviali, i quali producono enzimi che degradano la matrice, e citochine pro-infiammatorie.

Lowin e colleghi dimostrarono che la produzione di citochine nei sinoviociti e nei fibroblasti sinoviali viene modulata dalle N-acetiletanolamine, tra cui PEA, in maniera TRPV1/TRPA dipendente.

## Farmacocinetica

PEA è stata spesso analizzata nel corso degli anni, soprattutto per quanto riguarda la parte biochimica del composto endogeno, le sue variazioni in condizioni fisiologiche e fisiopatologiche, la somministrazione preclinica. La farmacocinetica invece è stata spesso trascurata e i dati clinici sono stati spesso elencati e descritti invece che sottoposti a giudizio critico.

Interpretando i dati dell'articolo di Vacondio et al. (Vacondio, et al. 2015) possiamo comprendere che la maggior parte della PEA rimane al di fuori del circolo sanguigno in seguito alla somministrazione orale.

Per quanto riguarda la distribuzione tissutale, Grillo et al. (Grillo, et al. 2013) con uno studio su modello murino, hanno evidenziato un aumento dei livelli di PEA nel cuore e nel cervello. L'analisi di Gabrielsson et al. (Gabrielsson, Mattsson e Fowler 2016) suggerisce che il composto abbia un alto volume di distribuzione.

In un altro studio, condotto sui ratti da Artamonov et al. (Artamonov, et al. 2005), è stata riscontrata una distribu-

zione molto eterogenea della PEA nel tessuto cerebrale, il che è sorprendente per un composto lipofilo, e ci suggerisce una ritenzione preferenziale nell'ipotalamo. Una spiegazione per questo tipo di ritenzione potrebbe essere una espressione selettiva di un recettore proprio nell'ipotalamo: è interessante che PPAR- $\alpha$  non può essere un candidato, dato che la sua espressione nell'ipotalamo è decisamente bassa (Moreno, Farioli-Vecchioli e Cerù 2004).

Studi più approfonditi sulla farmacocinetica sono assolutamente necessari per comprendere al meglio questo fenomeno. Può sicuramente essere di grande interesse confermare questa scoperta ed identificare un potenziale nuovo target di PEA preferenzialmente espresso nell'ipotalamo.

## Metabolismo

Come le altre NAEs, la PEA endogena viene prodotta "su richiesta" e agisce localmente. I livelli tissutali sono finemente regolati attraverso un bilancio tra la sintesi e la scissione. PEA viene metabolizzata da enzimi cellulari, idrolasi delle ammidi degli acidi grassi (FAAH) e dalla amidasi acida N-acetiletanolamina-idrolizzante (NAAA).

Il principale enzima è la "idrolasi delle ammidi degli acidi grassi" (FAAH, conosciuta anche come FAAH-1), localizzata sul reticolo endoplasmatico. Un secondo enzima FAAH, chiamata FAAH-2, venne scoperto negli esseri umani, localizzato sulle gocce di lipidi nel citoplasma (Bisogno 2008) (Wei, et al. 2006).

Recentemente, un terzo enzima NAEs idrolizzante, chiamato "amidasi acida idrolizzante N-acetiletanolamine" (NAAA) è stato identificato (Tsuboi, et al. 2013). Quest'ultimo ha una maggiore specificità nei confronti di PEA rispetto alle altre ammidi di acidi grassi (Tsuboi, Takezaki e Ueda 2007).

Considerazione importante da fare è che nel citosol, le proteine che legano gli acidi grassi e le *heat shock proteins*, potrebbero fungere da carrier per l'idrolisi di PEA trasportandola verso gli enzimi che la degraderanno (Hansen 2013), aumentandone così la velocità di smaltimento.

## Applicazioni terapeutiche di PEA

PEA ha dimostrato possibili applicazioni benefiche in svariate condizioni patologiche e pre-patologiche. Qui di seguito alcune delle aree terapeutiche in cui PEA trova impiego più frequentemente.

## Trattamento dell'infiammazione

PEA è ampiamente conosciuta per la sua attività antinfiammatoria e attualmente ci sono più di 60 pubblicazioni riguardo a questa sua proprietà.

Molti studi hanno inoltre dimostrato che in caso di infiammazione acuta e cronica abbiamo uno squilibrio nel sistema endocannabinoide e alterazioni nei livelli endogeni di PEA (De Filippis, d'Amico e Cipriano, et al. 2010). Ad esempio durante la neuroinfiammazione indotta dalla proteina beta-amiloide, l'errata regolazione dei recettori cannabinoidi e dei loro ligando endogeni, accompagna lo sviluppo ed il progresso della patologia (D'Agostino, et al. 2012).

PEA sembra esser prodotta come una risposta biologica di riparazione all'infiammazione e al dolore cronico (Darmani, et al. 2005) ed è stata valutata in vari studi clinici, in un'ampia casistica di stati dolorosi di origine infiammatoria (Indraccolo e Barbieri 2010) (Eberlein, et al. 2007) (Conigliaro, et al. 2011) (Phan, et al. 2009) (Cerrato, Brazis e Valle, et al. 2011).

La sua azione inibitoria nei confronti della secrezione del TNF- $\alpha$  è sufficientemente documentata (Cerrato, Brazis e Della Valle, et al. 2010).

PEA ha un'azione modulante addirittura superiore nei confronti delle interleuchine. Per esempio recentemente si è scoperto che PEA attenua significativamente le lesioni intestinali e l'infiammazione, contribuendo all'inibizione delle citochine proinfiammatorie, all'espressione delle molecole di adesione (ICAM-1; P-selettine) e del NF- $\kappa$ B (Di Paola, Impellizzeri, et al. 2012).

PEA inoltre diminuisce significativamente l'infiammazione causata dal danno di riperfusion ischemica, uno stato patologico in cui si registra un'elevatissima cascata di interleuchine (Di Paola, Impellizzeri e Mondello 2012).

## Trattamento del dolore neuropatico

Da una prospettiva clinica, l'indicazione più importante e promettente per la PEA è legata al trattamento del dolore neuropatico e cronico, come ad esempio il dolore neuropatico diabetico, il dolore sciatico, la sindrome dolorosa regionale complessa (CRPS) e il dolore pelvico (Darmani, et al. 2005) (Indraccolo e Barbieri 2010) (Conigliaro, et al. 2011) (Phan, et al. 2009) (Petrosino, Iuvone e Di Marzo 2010) (Kopsky e Kopsky 2013).

Il dolore cronico e neuropatico sono esempi di problemi clinici che presentano molte necessità non ancora colmate. La PEA è stata testata in una varietà di modelli animali per quanto riguarda questo tipo di patologie (Ware, et al. 2010). Essa viene considerata avere utili proprietà analgesiche a fronte di effetti collaterali praticamente nulli. La sua attività è vista attualmente come una nuova strada nel trattamento del dolore neuropatico e dei disordini correlati, basati sull'iperattivazione della glia e delle cellule correlate alla glia,

come nel diabete e nel glaucoma (Donvito, et al. 2015).

La microglia gioca un ruolo chiave nel fenomeno del *wind-up* (aumento della percezione del dolore in seguito a stimoli ripetuti) e della sensitizzazione centrale (Nakagawa e Kaneko 2010). L'effetto analgesico e antiperalgico, in due modelli di dolore acuto e persistente, sembrano poter essere spiegati, almeno parzialmente con la sintesi *de novo* dei neurosteroidi (Raso GM 2011).

Nel dolore cronico di origine granulomatosa e in un modello infiammatorio, la PEA può prevenire la formazione e la diramazione dei nervi, l'allodinia meccanica e inoltre può inibire l'attivazione dei gangli della radice dorsale, segnale del *wind-up* nel dolore neuropatico (De Filippis, Luongo, et al. 2011).

## Trattamento di sindromi da compressione nervosa

Le sindromi da compressione nervosa hanno differenti manifestazioni cliniche, dipendenti dalla localizzazione del nervo compresso, ma condividono tutte un'identica patogenesi e sintomatologia.

La pressione induce un'infiammazione del nervo e delle sue radici, neuriti e radicoliti. Di conseguenza, neuriti e radicoliti progrediscono diventando una patologia cronica, dovuta all'induzione di varie cascate infiammatorie (Mulleman, et al. 2006).

Le cellule della glia, le mastocellule e le relative cellule non-neuronali contribuiscono alla sensazione di dolore percepita, come nella compressione del nervo sciatico e nella sindrome del tunnel carpale, poiché provocano l'eccitazione dei neuroni che trasmettono i segnali dolorifici e la up-regolazione dei circuiti del dolore nel midollo spinale (Xu, et al. 2007) (Tufek, et al. 2013). In aggiunta a questo meccanismo di *wind-up* centrale, si verifica un meccanismo biologico di *wind-up* in periferia e anche nella pelle, portando all'iperattivazione delle mastocellule e all'attivazione dei NGF (Pele-shok e Ribeiro-da-Silva 2012) (Fuchs, et al. 2010).

Questa attivazione centrale e periferica, relativa all'attivazione di mastocellule, cellule della glia e astrociti, così come anche le cascate dell'infiammazione correlate ai NGFs, può essere inibita dalla PEA (J. Keppel Hesselink 2012).

In uno studio pilota (Keppel Hesselink e Kopsky 2015), due differenti dosaggi di PEA vennero confrontati con il placebo, 300 e 600 mg/die.

Vennero inclusi nello studio 636 pazienti affetti da dolore dovuto alla compressione radicolare del nervo sciatico, di età compresa tra i 18-75 anni, con un dolore  $\geq 5$  nella scala VAS. A tutti venne permesso di continuare con i loro trattamenti in corso. Il primo *endpoint* fu il valore su scala *Visual Ana-*

logue Scale (VAS) per valutare l'intensità del dolore, il secondo fu il *Roland Morris Disability Questionnaire* (RMDQ) per valutare la qualità della vita. Durata del trattamento 3 settimane.

Risultati dello studio: 636 pazienti, di cui 336 maschi (52,8%) e 300 femmine (47,2%), di età compresa tra i 19 e i 72 anni. Ognuno dei gruppi era omogeneo per età, sesso, altezza, peso, diagnosi e severità del dolore. Nessuno dei *dropout* è stato causato da eventi avversi, perlopiù da un'assenza di efficacia percepita.

Il dosaggio più elevato di PEA si è dimostrato significativamente più efficace comparato al dosaggio minore; entrambi i dosaggi si sono dimostrati molto più efficaci rispetto al placebo. Questi risultati sono riscontrabili sia con il VAS, in cui nel gruppo con dosaggio più elevato abbiamo una riduzione da 7.1 a 2.1 (più del 50% di riduzione del dolore a confronto del placebo in cui si passa da 6.6 a 4.6), sia con il RMDQ.

Il rapporto rischio beneficio è sicuramente a favore del suo utilizzo nel trattamento del dolore cronico, sia come stand-alone, sia come parte di un regime di terapia multimodale.

## Altri potenziali utilizzi

PEA è in grado di modulare l'alterata espressione di proteine associate al morbo di Parkinson e al morbo di Alzheimer, e di operare una *down-regulation* nei confronti dell'attivazione di *markers* pro-apoptotici e pro-infiammatori che portano alla perdita neuronale nella *substantia nigra*, nella corteccia cerebrale e nell'ippocampo (Petrosino e Di Marzo 2017).

Nel "*forced swimming test*" i topi hanno dato risultati comparabili tra PEA e Fluoxetina nell'azione antidepressiva (Yu, et al. 2011).

Sempre un'indagine su modello murino, ha evidenziato come i livelli di PEA nei bronchi diminuiscano quando vi è sensibilizzazione agli allergeni. Ciò potrebbe suggerire l'utilizzo di un'integrazione di PEA per prevenire lo sviluppo di sintomatologia asmatica (Roviezzo, et al. 2017)

Uno studio italiano pubblicato nel 2011 ha evidenziato come PEA riduca la pressione intraoculare nel glaucoma (Gagliano, et al. 2011). Dal 2012 un buon numero di trials relativi al trattamento del glaucoma sono stati pubblicati (Costagliola, et al. 2014).

PEA sembra essere uno dei fattori responsabili della diminuita sensibilità al dolore durante e dopo lo sport, compatibile all'efficacia degli oppioidi endogeni (endorfine) (Koltyn, et al. 2014).

Possiede un'influenza positiva nell'eczema atopico che sem-

bra esser dovuta all'attivazione dei recettori PPAR- $\alpha$  (Eberlein, et al. 2007) (Hatano e al. 2010).

In modelli di *stroke* e altri traumi del sistema nervoso centrale, PEA esercita un'attività neuroprotettiva (Koch, et al. 2010) (Hansen 2010) (Garcia-Ovejero, et al. 2009) (Schomacher, et al. 2008) (Sasso, et al. 2011).

In una serie di modelli animali la PEA sembra promettente, e i ricercatori hanno potuto dimostrare attività cliniche rilevanti in una serie di disordini neurodegenerativi, tra cui la sclerosi multipla (Loria, et al. 2008) (Costa, et al. 2008).

Dato che PEA ha un'azione di *down-regulation* su molte citochine proinfiammatorie, questa può essere facilmente la ragione per cui nei pazienti trattati con PEA abbiamo un miglioramento del quadro generale riguardante la sintomatologia influenzale, suggerendo anche questa potenziale applicazione terapeutica (Keppel Hesselink, De Boer e Witkamp 2013).

In un modello di dolore viscerale (infiammazione della vescica urinaria) PEA fu capace di attenuare la iperreflessia viscerale indotta dall'infiammazione della vescica, una delle ragioni per cui sono attualmente in corso degli studi per utilizzare PEA nella sindrome della vescica dolorosa (Jaggar, et al. 1998). In un modello differente, l'infiammazione alla vescica urinaria indotta nel ratto con l'uso di trementina, PEA si è dimostrata ugualmente efficace nell'attenuare l'iperalgia, in maniera dose dipendente (Farquhar-Smith, Jaggar e Rice 2001). Anche il dolore pelvico cronico sembra rispondere in maniera positiva al trattamento con PEA (Calabrò, et al. 2010) (Indraccolo e Barbieri 2010).

Concentrazioni di PEA e anandamide nella malattia celiaca sono significativamente più elevate (100% e 90% rispettivamente) durante la fase di risposta immunitaria, e regrediscono a livelli normali in seguito ad una dieta *gluten-free* (D'Argenio, Petrosino e Gianfrani 2007). Questo può essere facilmente interpretato come una partecipazione di PEA nei meccanismi fisiologici di autoriparazione.

## Effetti collaterali e interazioni

Fino ad ora non è stata riportata in letteratura alcuna interazione farmacologica, né alcun effetto collaterale rilevante o dose-limitante. Come riportato da vari autori (Paladini, et al. 2016) (J. Keppel Hesselink 2017), PEA risulta essere molto ben tollerata.

Normalmente nel trattamento dell'infiammazione si consigliano dosaggi da 10-30mg/kg di peso, ma si è valutato come dosaggi fino a 100mg/kg di peso nell'uomo non mostrino effetti collaterali, rendendo PEA consigliabile anche in pazienti con comorbidità (J. Keppel Hesselink 2017).

L'unico evento avverso (non necessariamente correlato all'attivo) è stato riportato da parte di un paziente trattato con Normast 300mg successivamente ad un'estrazione del terzo molare (Bacci, et al. 2011). Il paziente, che non prendeva nessun altro farmaco, riportò palpitazioni della durata di 2-3 ore nel terzo giorno di trattamento con Normast. Questo avvenne circa 1 ora dopo l'assunzione di Normast, e il paziente decise di non continuare il trattamento in seguito all'accaduto. In ogni caso la bassa incidenza di eventi avversi è notevole: dopotutto, anche pazienti trattati con placebo, in studi condotti in doppio cieco hanno riferito effetti indesiderati. Ad esempio, in un recente studio randomizzato, multicentrico in doppio cieco, su pazienti con severo dolore alla schiena, il 35% dei pazienti trattati con placebo ha riportato reazioni avverse dovute al trattamento (nausea, costipazione, vomito, vertigini, mal di testa e sonnolenza) (Wen, et al. 2015).

Allo stato attuale, i dati clinici disponibili ci danno delle informazioni attendibili per quanto riguarda potenziali reazioni avverse di tipo "molto comune" e "comune", ma non abbiamo sufficienti dati per esprimerci sulle reazioni avverse di tipo "non comune" e "rara".

Il trattamento del dolore cronico, indicazione per la quale PEA spesso viene consigliata, non può essere a breve termine, e quindi attualmente per quanto riguarda un trattamento di durata  $\geq 60$  giorni, il numero di pazienti è insufficiente per avere dei dati attendibili riguardo a reazioni avverse con incidenza minore di 1/100 (Gabrielsson, Mattsson e Fowler 2016).

## Strategie formulative

PEA è una sostanza scarsamente solubile in acqua, di conseguenza il tempo di dissoluzione è spesso lo step limitante per assorbimento e biodisponibilità orale.

Il tempo di dissoluzione è influenzato, più che da qualsiasi altro fattore, dalla dimensione particellare ed è per questo motivo che generalmente si trova in forma micronizzata, in modo da avere una dissoluzione più rapida. Il processo di micronizzazione infatti, ha come risultato delle particelle più piccole, e di conseguenza un'area superficiale più elevata. Questo consente all'ambiente gastrointestinale di avere una maggiore superficie di contatto libera e ciò, a livello teorico, può portare ad un migliore assorbimento dell'attivo (Aulton 2006.).

Nella maggior parte degli studi citati in precedenza, PEA è sempre stata utilizzata in forma ultramicronizzata o micronizzata, tranne in tre, dove non abbiamo dati qualitativi rispetto alla PEA.

È presente un report nei roditori in cui la somministrazione orale della PEA micronizzata e ultramicronizzata risulta più efficace rispetto alla PEA non micronizzata, in un modello di dolore infiammatorio indotto da carragenina (Impellizzeri 2014); tuttavia in quello studio PEA era stata disciolta in carbosimetilcellulosa, quindi essendo già in soluzione il contributo della micronizzazione potrebbe non essere più determinante. Stesso discorso vale per formulazioni realizzate emulsionando la PEA con oli.

Data l'ormai ampia letteratura creatasi attorno all'utilizzo di prodotti contenenti PEA micronizzata, brevettata come PEA-um (*ultramicronized*), PEA-m (*micronized*) e PEA-opt (*optimized*), possiamo affermare che a queste granulometrie la formulazione ha un'efficacia terapeutica dimostrata (J. Koppel Hesselink 2017). Ad oggi però manca un paragone testa a testa tra le differenti formulazioni di PEA nell'uomo, e quindi non ci sono dati clinici che dimostrino come agendo sulle caratteristiche fisiche dell'ingrediente funzionale se ne migliorino effettivamente la biodisponibilità e l'efficacia.

È possibile realizzare tutte le forme di dosaggio tradizionali utilizzando questo ingrediente funzionale: compresse, capsule, *sachet*.

In nutraceutica possiamo considerare dosaggi efficaci a partire dai 300mg/die fino ad arrivare ai 1400mg/die; in base all'indicazione terapeutica è spesso necessaria una somministrazione più volte al giorno.

Vi sono sul mercato vari prodotti a base di PEA come monocomponente, e altrettanti con PEA presente in associazione. Sicuramente consigliata è la combinazione con attivi che possano dare un effetto sommatorio all'efficacia antinfiammatoria di PEA agendo su target differenti: parliamo quindi ad esempio di boswellia (che presenta azione antinfiammatoria per inibizione dell'enzima 5-lipossigenasi), mirra (i sesquiterpeni che contiene hanno effetto analgesico e antinfiammatorio), acido alfa-lipoico (ad azione antiradicalica e antinfiammatoria).

Attualmente sono presenti formulazioni in cui PEA viene co-micronizzata insieme ad antiossidanti quali la luteolina e la polidatina, formando un complesso ad alto potenziale nel trattamento di patologie caratterizzate da neuroinfiammazione, neurodegenerazione e dolore (Petrosino e Di Marzo 2017).

## Conclusioni

PEA è somministrabile in maniera sicura ed efficace come ingrediente funzionale. È presente un'ampia letteratura riguardante questa molecola, che comprende studi sia in vitro che in vivo.

Gli studi sono stati effettuati perlopiù su pazienti patologici, il che non ha garantito fino ad ora la possibilità di vantare un *claim* ad uso nutraceutico.

La strategia formulativa più diffusa per veicolare al meglio l'attivo è la micronizzazione o co-micronizzazione della PEA, secondo tecnologie brevettate. Nella forma di dosaggio finale viene spesso associata ad altri attivi al fine di ottenere un'azione sinergica o sommativa.

È infine da sottolineare, indipendentemente dalle tecnologie applicate per ottenere la forma di dosaggio finale, come

la scelta del fabbricante e quindi del consumatore, debba essere indirizzata verso prodotti di qualità certificata.

Sono innumerevoli le aziende, specialmente orientali, che operano sofisticazioni del prodotto o che comunque forniscono una materia prima di scarsa qualità senza alcun tipo di garanzia su stabilità o eventuali reagenti residui. La produzione di PEA, essendo un attivo disponibile anche per uso cosmetico, presenta delle grosse criticità nel rispettare degli standard che garantiscano la sua sicurezza ed efficacia nell'uso sistemico.

## OPERE CITATE

- Aloe, L., A. Leon, e R. Levi-Montalcini. 1993. «A proposed autacoid mechanism controlling mastocyte behaviour.» *Agents and actions* 39: 145-147.
- Artamonov, M, O Zhukov, I Shuba, L Storozhuk, T Khmel, V Klimashevsky, A Mikosha, e N. Gula. 2005. «Incorporation of labelled N-acylethanolamine (NAE) into rat brain regions in vivo and adaptive properties of saturated NAE under x-ray irradiation.» *Ukr Biokhim Zh* 77: 51-62.
- Aulton, ME. 2006. *Aulton's Pharmaceutics. The design and manufacture of medicines.* London, UK: Churchill Livingstone.
- Bacci, C, G Cassetta, B Emanuele, e M. Berengo. 2011. «Randomized split-mouth study on postoperative effects of palmitoylethanolamide for impacted lower third molar surgery.» *ISRN Surg*.
- Balvers, M. G. J., K. C. M. Verhoeckx, e S. Bijlsma. 2012. «Fish oil and inflammatory status alter the n-3 to n-6 balance of the endocannabinoid and oxylipin metabolomes in mouse plasma and tissues.» *Metabolomics* vol. 8, no. 6, pp. 1130-1147.
- Balvers, M. G., K. C. Verhoeckx, J. Meijerink, H. M. Wortelboer, e R. F. Witkamp. 2013. «Measurement of palmitoylethanolamide and other N-acylethanolamines during physiological and pathological conditions.» *CNS & Neurological Disorders* 12 (1): 23-33.
- Benito, C, RM Tolón, AI Castillo, e et al. 2012. «β-Amyloid exacerbates inflammation in astrocytes lacking fatty acid amide hydrolase through a mechanism involving PPAR-α, PPAR-γ and TRPV1, but not CB1 or CB2 receptors.» *Br J Pharmacol.* 166 (4): 1474-1489.
- Bisogno, T. 2008. «Endogenous cannabinoids: structure and metabolism.» *Journal of Neuroendocrinology* 20 (1): 1-9.
- Buznikov, G. A., L. A. Nikitina, V. V. Bezuglov, M. E. Y. Francisco, G. Boysen, I. N. Obispo-Peak, R. E. Peterson, et al. 2010. «A Putative 'Pre-Nervous' Endocannabinoid System in Early Echinoderm Development.» *Developmental Neuroscience* 32 (1): 1-18.
- Calabrò, R. S., G. Gervasi, S. Marino, P. N. Mondo, e P. Bramanti. 2010. «Misdiagnosed Chronic Pelvic Pain: Pudendal Neuralgia Responding to a Novel Use of Palmitoylethanolamide.» *Pain Medicine* 11 (5): 781-784.
- Calignano A, La Rana, G, e D. Piomelli. 2001. «Antinociceptive activity of the endogenous fatty acid amide, palmitoylethanolamide.» *Eur J Pharmacol.* 419 (2-3): 191-198.
- Canteri, L, S Petrosino, e G. Guida. 2010. «Riducción del consumo di antiinflamatorios y analgésicos en el tratamiento del dolor neuropático crónico en pacientes afectados por lombosciatalgia de tipo compresivo y en tratamiento con Normast® 300mg.» *Dolor* 25: 227-34.
- Cerrato, S., P. Brazis, M. F. D. Valle, A. Miolo, S. Petrosino, V. D. Marzo, e A. Puigdemont. 2011. «Effects of palmitoylethanolamide on the cutaneous allergic inflammatory response in *Ascaris* hypersensitive Beagle dogs.» *The Veterinary Journal* 191 (3): 377-82.
- Cerrato, S., P. Brazis, M. F. Della Valle, A. Miolo, e A. Puigdemont. 2010. «Effects of palmitoylethanolamide on immunologically induced histamine, PGD2 and TNFα release from canine skin mast cells.» *Veterinary Immunology and Immunopathology* 133 (1): 9-15.
- Cobellis, L, MA Castaldi, V Giordano, E Trabucco, P De Franciscis, M Torella, e N. Colacurci. 2011. «Effectiveness of the association micronized N-Palmitoylethanolamine (PEA)-transpolydatin in the treatment of chronic pelvic pain related to endometriosis after laparoscopic assessment: a pilot study.» *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 158: 82-6.
- Coburn, A. F., C. E. Graham, e J. Haninger. 1954. «The effect of egg yolk in diets on anaphylactic arthritis (passive Arthus phenomenon) in the guinea pig.» *The Journal of Experimental Medicine* vol. 100, pp. 425-435.
- Coburn, A. F., e L. V. Moore. 1939. «The prophylactic use of sulfanilamide in streptococcal respiratory infections, with especial reference to rheumatic fever.» *Journal of Clinical Investigation* 18: 147-155.
- Coburn, A. 1960. «The concept of egg yolk as a dietary inhibitor to rheumatic susceptibility.» *The Lancet* vol. 275, no. 7129, pp. 867-870.
- Conigliaro, R., V. Drago, P. S. Foster, C. Schievano, e V. Di Marzo. 2011. «Use of palmitoylethanolamide in the entrapment neuropathy of the median in the wrist.» *Minerva medica* 102 (2): 141-147.
- Costa B, Conti S, Giagnoni G, Colleoni M. 2002. «Therapeutic effect of the endogenous fatty acid amide, palmitoylethanolamide, in rat acute inflammation: inhibition of nitric oxide and cyclo-oxygenase systems.» *Br J Pharmacol.* 137 (4): 413-420.
- Costa, B., F. Comelli, I. Bettoni, M. Colleoni, e G. Giagnoni. 2008. «The endogenous fatty acid amide, palmitoylethanolamide, has anti-allodynic and anti-hyperalgesic effects in a murine model of neuropathic pain: Involvement of CB1, TRPV1 and PPARγ receptors and neurotrophic factors.» *Pain* 139 (3): 541-550.
- Costagliola, C, M. R. Romano, R Dell'Omo, A Russo, R Mastropasqua, e F Semeraro. 2014. «Effect of palmitoylethanolamide on visual field damage progression in normal tension glaucoma patients: Results of an open-label six-month follow-up.» *Journal of Medicinal Food* 17 (9): 949-954.
- D'Agostino, G, G La Rana, R Russo, O Sasso, A Iacono, E Esposito, G Mattace Raso, et al. 2009. «Central administration of palmitoy-

- lethanolamide reduces hyperalgesia in mice via inhibition of NF- $\kappa$ B nuclear signalling in dorsal root ganglia.» *Eur J Pharmacol* 613: 54-59.
- D'Agostino, G., R. Russo, C. Avagliano, C. Cristiano, R. Meli, e A. Calignano. 2012. «Palmitoylethanolamide Protects Against the Amyloid- $\beta$ 25-35-Induced Learning and Memory Impairment in Mice, an Experimental Model of Alzheimer Disease.» *Neuropsychopharmacology* 37 (7): 1784-1792.
  - Darmani, N. A., A. A. Izzo, B. Degenhardt, M. Valenti, G. Scaglione, R. Capasso, I. Sorrentini, e V. Di Marzo. 2005. «Involvement of the cannabimimetic compound, N-palmitoyl-ethanolamine, in inflammatory and neuropathic conditions: Review of the available pre-clinical data, and first human studies.» *Neuropharmacology* 48 (8): 1154-1163.
  - De Filippis, D., A. d'Amico, M. Cipriano, S. Petrosino, P. Orlando, V. Di Marzo, T. Iuvone, e T. Iuvone. 2010. «Levels of endocannabinoids and palmitoylethanolamide and their pharmacological manipulation in chronic granulomatous inflammation in rats.» *Pharmacological Research* 61 (4): 321-328.
  - De Filippis, D., A. d'Amico, M. P. Cinelli, G. Esposito, V. Di Marzo, e T. Iuvone. 2009. «Adelmidrol, a palmitoylethanolamide analogue, reduces chronic inflammation in a carrageenin-granuloma model in rats.» *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 13 (6): 1086-1095.
  - De Filippis, D., L. Luongo, M. Cipriano, E. Palazzo, M. P. Cinelli, V. De Novellis, S. Maione, e T. Iuvone. 2011. «Palmitoylethanolamide reduces granuloma-induced hyperalgesia by modulation of mast cell activation in rats.» *Molecular Pain* (7): 3.
  - Desio, P. 2010. «Combination of pregabalin and palmitoylethanolamide (PEA) for neuropathic pain treatment.» *Pathos* 17: 9-14.
  - Di Marzo, V, A Fontana, H Cadas, S Schinelli, G Cimino, JC Schwartz, e D. Piomelli. 1994. «Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons.» *Nature*. 372 (6507): 686-691.
  - Di Paola, R., D. Impellizzeri, e P. Mondello. 2012. «Palmitoylethanolamide reduces early renal dysfunction and injury caused by experimental ischemia and reperfusion in mice.» *Shock* 38: 356-366.
  - Di Paola, R., D. Impellizzeri, P. Mondello, E. Velardi, C. Aloisi, A. Cappellani, E. Esposito, e S. Cuzzocrea. 2012. «Palmitoylethanolamide Reduces Early Renal Dysfunction and Injury Caused by Experimental Ischemia and Reperfusion in Mice.» *Shock* 38 (4): 1.
  - D'Argenio, G, C Petrosino, e C. Gianfrani. 2007. «Overactivity of the intestinal endocannabinoid system in celiac disease and in methotrexate-treated rats.» *Journal of Molecular Medicine* 85 (5): 523-530.
  - Donvito, G, I Bettoni, F Comelli, A Colombo, e B Costa. 2015. «Palmitoylethanolamide relieves pain and preserves pancreatic islet cells in a murine model of diabetes.» *CNS & neurological disorders drug targets* 14 (4): 452-462.
  - Dworkin, RH, e et alter. 2005. «Core outcome measures for chronic pain clinical trials: IMMPACT recommendations.» *Pain* 113: 9-19.
  - Eberlein, B., C. Eicke, H. -W. Reinhardt, e J. Ring. 2007. «Adjuvant treatment of atopic eczema: Assessment of an emollient containing N-palmitoylethanolamine (ATOPA study).» *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 22 (1): 73-82.
  - Esposito, E., e S. Cuzzocrea. 2013. «Palmitoylethanolamide in homeostatic and traumatic central nervous system injuries.» *CNS & Neurological Disorders* 12 (1): 55-61.
  - Esposito, E., I. Paterniti, E. Mazzon, T. Genovese, R. Di Paola, M. Galluppo, e S. Cuzzocrea. 2011. «Effects of palmitoylethanolamide on release of mast cell peptidases and neurotrophic factors after spinal cord injury.» *Brain, Behavior, and Immunity* 25 (6): 1099-1112.
  - Facci, L., R. Dal Toso, S. Romanello, A. Buriani, S. D. Skaper, e A. Leon. 1995. «Mast cells express a peripheral cannabinoid receptor with differential sensitivity to anandamide and palmitoylethanolamide.» *PNAS* 92 (8): 3376-3380.
  - Farquhar-Smith, W., S Jaggard, e A. Rice. 2001. «Administration of endocannabinoids prevents a referred hyperalgesia associated with inflammation of the urinary bladder.» *Anesthesiology* 94 (3): 507-513.
  - Finniss, DG, TJ Kaptchuk, F Miller, e F. Benedetti. 2010. «Biological, clinical, and ethical advances of placebo effects.» *Lancet* 375: 686-95.
  - Fuchs, D, F Birklein, PW Reeh, e SK. Sauer. 2010. «Sensitized peripheral nociception in experimental diabetes of the rat.» *Pain*. 151 (2): 496-505.
  - Gabrielsson, L, S Mattsson, e CJ. Fowler. 2016. «Palmitoylethanolamide for the treatment of pain: pharmacokinetics, safety and efficacy.» *British Journal of Clinical Pharmacology*.
  - Gagliano, C., E. Ortisi, L. Pulvirenti, M. Reibaldi, D. Scollo, R. Amato, T. Avitabile, e A. Longo. 2011. «Ocular Hypotensive Effect of Oral Palmitoyl-ethanolamide: A Clinical Trial.» *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 52 (9): 6096-6100.
  - Ganley, O. H., e H. J. Robinson. 1959. «Antianaphylactic and antiserotonin activity of a compound obtained from egg yolk, peanut oil, and soybean lecithin.» *Journal of Allergy* vol. 30, no.5, pp. 415-419.
  - Garcia-Ovejero, D., A. Arevalo-Martin, S. Petrosino, F. Docagne, C. Hagen, T. Bisogno, M. Watanabe, C. Guaza, V. Di Marzo, e E. Molina-Holgado. 2009. «The endocannabinoid system is modulated in response to spinal cord injury in rats.» *Neurobiology of Disease* 33 (1): 57-71.
  - Godlewski, G., L. Offertaler, J. A. Wagner, e G. Kunos. 2009. «Receptors for acylethanolamides-GPR55 and GPR119.» *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*. 89 (3-4): 105-297.
  - Grillo, SL, J Keereetawee, MA Grillo, KD Chapman, e P. Koulen. 2013. «N-Palmitoylethanolamine depot injection increased its tissue levels and those of other acylethanolamide lipids.» *Drug Des Devel Ther* 7: 747-752.
  - Guasti, L., D. Richardson, M. Jhaveri, K. Eldeeb, D. Barrett, M. R. Elphick, S. P. Alexander, D. Kendall, G. J. Michael, e V. Chapman. 2009. «Minocycline treatment inhibits microglial activation and alters spinal levels of endocannabinoids in a rat model of neuropathic pain.» *Molecular Pain* 5: 35.
  - Guida, G, M De Martino, A De Fabiani, LA Cantieri, A Alexandre, GM Vassallo, e M. Rogai. 2010. «La palmitoilethanolamida (Normast®) en el dolor neuropático crónico por lumbociatalgia de tipo compresivo: estudio clínico multicéntrico.» *Dolor* 25: 35-42.
  - Hansen, H. S. 2013. «Effect of diet on tissue levels of palmitoylethanolamide.» *CNS Neurol Disord Drug Targets* (12): 17-25.
  - Hansen, H. S. 2010. «Palmitoylethanolamide and other anandamide congeners. Proposed role in the diseased brain.» *Experimental Neurology* 224 (1): 48-55.
  - Hansen, H. S., e T. A. Diep. 2009. «N-acylethanolamines, anandamide and food intake.» *Biochemical Pharmacology* 78 (6): 553-560.
  - Hatano, Y., e et al. 2010. «Murine atopic dermatitis responds to peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$  (but not  $\gamma$ ), and liver-X-receptor activators.» *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 125 (1): 160-169.
  - Ho, W. S., D. A. Barrett, e M. D. Randall. 2008. «'Entourage' effects of N-palmitoylethanolamide and N-oleoylethanolamide on vasorelaxation to anandamide occur through TRPV1 receptors.» *British Journal of Pharmacology* 155 (6): 837-846.
  - Impellizzeri, D, Bruschetta G, Cordaro M, Crupi R, Siracusa R, Esposito E, Cuzzocrea S. 2014. «Micronized/ultramicronized palmitoylethanolamide displays superior oral efficacy compared to non-

- micronized palmitoylethanolamide in a rat model of inflammatory pain.» *J Neuroinflammation* 11: 136.
- Indraccolo, U., e F. Barbieri. 2010. «Effect of palmitoylethanolamide-polydatin combination on chronic pelvic pain associated with endometriosis: Preliminary observations.» *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 150 (1): 76-79.
  - Izzo, AA, N Mascolo, e F. Capasso. 2000. «Marijuana in the new millennium: perspectives for cannabinoid research.» *Trends Pharmacol Sci.* 21 (8): 281-282.
  - Jaggar, S. I., F. S. Hasnie, S. Sellaturay, e A. S. Rice. 1998. «The anti-hyperalgesic actions of the cannabinoid anandamide and the putative CB2 receptor agonist palmitoylethanolamide in visceral and somatic inflammatory pain.» *Pain* 76 (1-2): 189-199.
  - Jonsson, K. O., S. V. Vandevoorde, D. M. Lambert, G. Tiger, e C. J. Fowler. 2001. «Effects of homologues and analogues of palmitoylethanolamide upon the inactivation of the endocannabinoid anandamide.» *British Journal of Pharmacology* 133 (8): 1263-1275.
  - Joosten, M. M., M. G. J. Balvers, K. C. M. Verhoecx, H. F. J. Hendriks, e R. F. Witkamp. 2010. «Plasma anandamide and other N-acylethanolamines are correlated with their corresponding free fatty acid levels under both fasting and non-fasting conditions in women.» *Nutrition and Metabolism* vol. 7, article 49.
  - Kahlich, R., J. Klima, e F. Cihla. 1979. «Studies on prophylactic efficacy of N-2-hydroxyethyl palmitamide (Impulsin) in acute respiratory infections. Serologically controlled field trials.» *Journal of Hygiene Epidemiology Microbiology and Immunology* vol. 23, no. 1, pp. 11-24.
  - Keppel Hesselink, J. M., T De Boer, e R. F. Witkamp. 2013. «Palmitoylethanolamide: A Natural Body-Owned Anti-Inflammatory Agent, Effective and Safe against Influenza and Common Cold.» *International Journal of Inflammation* 2013: 151028.
  - Keppel Hesselink, JM, e DJ. Kopsky. 2015. «Palmitoylethanolamide, a nutraceutical, in nerve compression syndromes: efficacy and safety in sciatic pain and carpal tunnel syndrome.» *Journal of Pain Research*.
  - Keppel Hesselink, JM. 2017. «Fundamentals of and Critical Issues in Lipid Autacoid Medicine: A Review.» *Pain Ther.* 6 (2): 153-164.
  - Keppel Hesselink, JM. 2012. «New targets in pain, non-neuronal cells, and the role of palmitoylethanolamide.» *Open Pain J.* 5: 12-23.
  - Koch, M., S. Kreutz, C. Böttger, A. Benz, E. Maronde, C. Ghadban, H. W. Korf, e F. Dehghani. 2010. «Palmitoylethanolamide Protects Dentate Gyrus Granule Cells via Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Alpha.» *Neurotoxicity Research* 19 (2): 330-340.
  - Koltyn, K. F., A. G. Brellenthin, D. B. Cook, N. Sehgal, e C. Hillard. 2014. «Mechanisms of exercise-induced hypoalgesia.» *The Journal of Pain* 15 (12): 1294-1304.
  - Kopsky, D., e J. Kopsky. 2013. «Treatment of chronic regional pain syndrome type 1 with palmitoylethanolamide and topical ketamine cream: Modulation of nonneuronal cells.» *Journal of Pain Research* 6: 239-245.
  - Kuehl Jr., F. A., T. A. Jacob, O. H. Ganley, R. E. Ormond, e M. A. P. Meisinger. 1957. «The identification of N-(2-hydroxyethyl)-palmitamide as a naturally occurring anti-inflammatory agent.» *Journal of the American Chemical Society* 79 (20): 5577-5578.
  - Lambert, D. M., S. Vandevoorde, K. O. Jonsson, e C. J. Fowler. 2002. «The palmitoylethanolamide family: A new class of anti-inflammatory agents?» *Current medicinal chemistry* 9 (6): 663-674.
  - Lambert, D.M., Vandevoorde, S., Diependaele, G., Govaerts, S.J., Robert, A.R. 2001. «Anticonvulsant activity of N-palmitoylethanolamide, a putative endocannabinoid, in mice.» *Epilepsia* 42 (3): 321-7.
  - Lan, H, G Vassileva, A Corona, L Liu, H Baker, A Golovko, SJ Abbondanzo, et al. 2009. «GPR119 is required for physiological regulation of glucagon-like peptide-1 secretion but not for metabolic homeostasis.» *J Endocrinol.* 201: 219-230.
  - Lewis, JA. 1981. «Post-marketing surveillance: how many patients?» *Trends Pharmacol Sci.* 2: 93-4.
  - Lo Verme, J., J. Fu, G. Astarita, G. La Rana, R. Russo, A. Calignano, e D. Piomelli. 2005. «The nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor-alpha mediates the anti-inflammatory actions of palmitoylethanolamide.» *Molecular Pharmacology* 67 (1): 15-19.
  - Long, D. A., e A. J. P. Martin. 1956. «Factor in arachis oil depressing sensitivity to tuberculin in B.C.G.-infected guineapigs.» *The Lancet* vol. 267, no. 6921, pp. 464-466.
  - Loria, F., S. Petrosino, L. Mestre, A. Spagnolo, F. Correa, M. Hernangómez, C. Guaza, V. Di Marzo, e F. Docagne. 2008. «Study of the regulation of the endocannabinoid system in a virus model of multiple sclerosis reveals a therapeutic effect of palmitoylethanolamide.» *European Journal of Neuroscience* 28 (4): 633-641.
  - Lowin, T, M Apitz, S Anders, e RH. Straub. 2015. «Anti-inflammatory effects of N-acylethanolamines in rheumatoid arthritis synovial cells are mediated by TRPV1 and TRPA1 in a COX-2 dependent manner.» *Arthritis Res Ther* 17: 321.
  - Marini, I, ML Bartolucci, F Bortolotti, MR Gatto, e GA. Bonetti. 2012. «Palmitoylethanolamide vs NSAID in the treatment of TMJD pain.» *J Orofac Pain.* 26(2): 99-104.
  - Masek, K., e F. Perlik. 1975. «Letter: Slow encephalopathies, inflammatory responses, and arachis oil.» *Lancet* 2 (7934): 558.
  - Masek, K., F. Perlik, J. Klima, e R. Kahlich. 1974. «Prophylactic efficacy of N 2 hydroxyethyl palmitamide (Impulsin) in acute respiratory tract infections.» *European Journal of Clinical Pharmacology* vol. 7, no. 6, pp. 415-419.
  - Mazzari, S., R. Canella, L. Petrelli, G. Marcolongo, e A. Leon. 1996. «N-(2-hydroxyethyl)hexadecanamide is orally active in reducing edema formation and inflammatory hyperalgesia by down-modulating mast cell activation.» *European Journal of Pharmacology* 300 (3): 227-236.
  - Moreno, S, S Farioli-Vecchioli, e MP. Cerù. 2004. «Immunolocalization of peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid X receptors in the adult rat CNS.» *Neuroscience* 123: 131-145.
  - Mulleman, D, S Mammou, I Griffoul, H Watier, e P. Goupille. 2006. «Pathophysiology of disk-related sciatica. I. – Evidence supporting a chemical component.» *Joint Bone Spine.* 73 (2): 151-158.
  - Nakagawa, T., e S. Kaneko. 2010. «Spinal astrocytes as therapeutic targets for pathological pain.» *Journal of pharmacological sciences* 114 (4): 347-353.
  - O'Sullivan, S E. 2007. «Cannabinoids go nuclear: evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors.» *Br J Pharmacol.* 152 (5): 576-582.
  - O'Sullivan, S. E., e D. A. Kendall. 2010. «Cannabinoid activation of peroxisome proliferator-activated receptors: Potential for modulation of inflammatory disease.» *Immunobiology* 215 (8): 611-616.
  - Overton, H, A Babbs, S Doel, M Fyfe, L Gardner, G Griffin, H Jackson, et al. 2006. «Deorphanization of a G protein-coupled receptor for oleoylethanolamide and its use in the discovery of small-molecule hypophagic agents.» *Cell Metabolism* 3: 167-175.
  - Paladini, A, M Fusco, T Cenacci, C Schievano, A Piroli, e Varrassi G. 2016. «Palmitoylethanolamide, a special food for medical purposes, in the treatment of chronic pain: a pooled data meta-analysis.» *Pain Physician* 19: 11-24.
  - Peleshok, JC, e A. Ribeiro-da-Silva. 2012. «Neurotrophic factor changes in the rat thick skin following chronic constriction injury of the sciatic nerve.» *Mol Pain.* (8): 1.
  - Pescosolido, N, A Librando, M Puzzone, e M Nebbioso. 2011. «Palmitoylethanolamide effects on intraocular pressure after Nd:YAG laser iridotomy: An experimental clinical study.» *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* 27 (6): 629-35.
  - Petrosino, S., e V. Di Marzo. 2017. «The pharmacology of palmitoy-



- lethanolamide and first data on the therapeutic efficacy of some of its new formulations.» *Br. J. Pharmacol.* (174): 1349-1365.
- Petrosino, S., T. Iuvone, e V. Di Marzo. 2010. «N-palmitoyl-ethanolamine: Biochemistry and new therapeutic opportunities.» *Biochimie* 92 (6): 724-727.
  - Phan, N. Q., D. Siepmann, I. Gralow, e S. Ständer. 2009. «Adjuvant topical therapy with a cannabinoid receptor agonist in facial postherpetic neuralgia.» *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 8 (2): 88-91.
  - Piomelli, D., A. Calignano, G. L. Rana, e A. Giuffrida. 1998. «Control of pain initiation by endogenous cannabinoids.» *Nature* 394 (6690): 277-281.
  - 2005. «PubChem Compound Database.» National Center for Biotechnology Information. 25 March. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4671#x291>.
  - Raso GM, Esposito E, Vitiello S, Iacono A, Santoro A, D'Agostino G, et al. 2011. «Palmitoylethanolamide stimulation induces allopregnanolone synthesis in C6 Cells and primary astrocytes: involvement of peroxisome-proliferator activated receptor- $\alpha$ .» *J. Neuroendocrinol.* 23 (7): 591-600.
  - Romero, TRL, e IDG. Duarte. 2012. «N-palmitoyl-ethanolamine (PEA) induces peripheral antinociceptive effect by ATP-sensitive K<sup>+</sup>-channel activation.» *J Pharmacol Sc* 118: 156-160.
  - Roviezzo, F., A. Antonietta Rossi, E. Caiazzo, P. Orlando, MA. Riemma, VM. Iacono, A. Guarino, et al. 2017. «Palmitoylethanolamide Supplementation during Sensitization Prevents Airway Allergic Symptoms in the Mouse.» *Front. Pharmacol.* (8): 857.
  - Sasso, O., R. Russo, S. Vitiello, G. Raso, G. d'Agostino, A. Iacono, G. Rana, et al. 2011. «Implication of allopregnanolone in the antinociceptive effect of N-palmitoylethanolamide in acute or persistent pain.» *Pain* 153 (1): 33-41.
  - Schomacher, M., H. D. Müller, C. Sommer, S. Schwab, e W. R. D. Schäbitz. 2008. «Endocannabinoids mediate neuroprotection after transient focal cerebral ischemia.» *Brain Research* 1240: 213-220.
  - Skaper, S. D., A. Buriani, R. Dal Toso, L. Petrelli, S. Romanello, L. Facci, e A. Leon. 1996. «The ALIAmide palmitoylethanolamide and cannabinoids, but not anandamide, are protective in a delayed postglutamate paradigm of excitotoxic death in cerebellar granule neurons.» *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93 (9): 3984-3989.
  - Skaper, SD, e L Facci. 2012. «Mast cell-glia axis in neuroinflammation and therapeutic potential of the anandamide congener palmitoylethanolamide.» *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 367 (1607): 3312-3325.
  - Stollerman, G. H. 1976. «Alvin F. Coburn, 1899-1975.» *Journal of Infectious Diseases* vol. 133, no. 5, p. 595.
  - Truini, A., e et al. 2012. «Palmitoylethanolamide Restores Myelinated-Fibre Function in Patients with Chemotherapy-Induced Painful Neuropathy.» *CNS & neurological disorders drug targets.* 10 (8): 916-20.
  - Tsuboi, K, N Ikematsu, T Uyama, D. G. Deutsch, A Tokumura, e N. Ueda. 2013. «Biosynthetic pathways of bioactive Nacylethanolamines in brain.» *CNS&Neurological Disorders* 12 (1): 7-16.
  - Tsuboi, K., N. Takezaki, e N. Ueda. 2007. «The N-Acylethanolamine-Hydrolyzing Acid Amidase (NAAA).» *Chemistry & Biodiversity* 4 (8): 1914-1925.
  - Tufek, A, S Kaya, O Tokgoz, e et al. 2013. «The protective effect of dexmedetomidine on bupivacaine-induced sciatic nerve inflammation is mediated by mast cells.» *Clin Invest Med.* 36 (2): E95-E102.
  - Tyagi, S, P Gupta, AS Saini, C Kaushal, e S. Sharma. 2011. «The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases.» *J Adv Pharm Technol Res.* 2 (4): 236-240.
  - Vacondio, F, M Bassi, C Silva, R Castelli, C Carmi, L Scalvini, A Lodola, et al. 2015. «Amino acid derivatives as palmitoylethanolamide prodrugs: synthesis, in vitro metabolism and in vivo plasma profile in rats.» *PLoS One.*
  - Walker, J. M., J. F. Krey, C. J. Chu, e S. M. Huang. 2002. «Endocannabinoids and related fatty acid derivatives in pain modulation.» *Chemistry and physics of lipids* 121 (1-2): 159-172.
  - Ware, M. A., T. Wang, S. Shapiro, A. Robinson, T. Ducruet, T. Huynh, A. Gamsa, G. J. Bennett, e J. -P. Collet. 2010. «Smoked cannabis for chronic neuropathic pain: A randomized controlled trial.» *Canadian Medical Association Journal* 182 (14): E694-E701.
  - Wei, B. Q., T. S. Mikkelsen, M. K. McKinney, E. S. Lander, e B. F. Cravatt. 2006. «A second fatty acid amide hydrolase with variable distribution among placental mammals.» *Journal of Biological Chemistry* 281 (48): 36569-36578.
  - Wen, W, S Sitar, SY Lynch, E He, e SR. Ripa. 2015. «A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial to assess the efficacy and safety of single-entity, once-daily hydrocodone tablets in patients with uncontrolled moderate to severe chronic low back pain.» *Expert Opin Pharmacother* 16: 1593-1606.
  - Xanthos, D. N., S. Gaderer, R. Drdla, E. Nuro, A. Abramova, W. Ellmeier, e J. R. Sandkühler. 2011. «Central nervous system mast cells in peripheral inflammatory nociception.» *Molecular Pain* 7: 42.
  - Xu, L, Y Huang, X Yu, J Yue, N Yang, e P. Zuo. 2007. «The influence of p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor on synthesis of inflammatory cytokine tumor necrosis factor alpha in spinal cord of rats with chronic constriction injury.» *Anesth Analg.* 105 (6): 1838-1844.
  - Yu, H. L., X. Q. Deng, Y. J. Li, Y. C. Li, Z. S. Quan, e X. Y. Sun. 2011. «N-palmitoylethanolamide, an endocannabinoid, exhibits antidepressant effects in the forced swim test and the tail suspension test in mice.» *Pharmacological reports : PR.* 63 (3): 834-839.