



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

Il ruolo di una dieta ricca in polifenoli sulla prevenzione e riduzione della steatosi epatica non alcolica

Massimo Ferrara¹ and Isabella D'Antuono¹, Vito Linsalata¹, Giuseppina Bianco², Angela Tafaro², Giuseppina Mulè¹, Angela Cardinali¹



¹Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari (CNR-ISPA), Bari.



²Ente Ospedaliero Specializzato in Gastroenterologia "Saverio de Bellis", IRCCS, 70013 Castellana Grotte (BA).

presenta

Dott. MASSIMO FERRARA (CNR-ISPA)

massimo.ferrara@cnr.it



Palermo 16-17 maggio 2024

La steatosi epatica non-alcolica (NAFLD)



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

La malattia del fegato grasso non alcolica (NAFLD) è la malattia epatica cronica più diffusa ed emergente sia nei Paesi occidentali che in quelli in via di sviluppo.



Nord America 24,1 %

Europa 23,7 %

Asia 27,4 %

fino al 55,5% nei soggetti con diabete di tipo 2

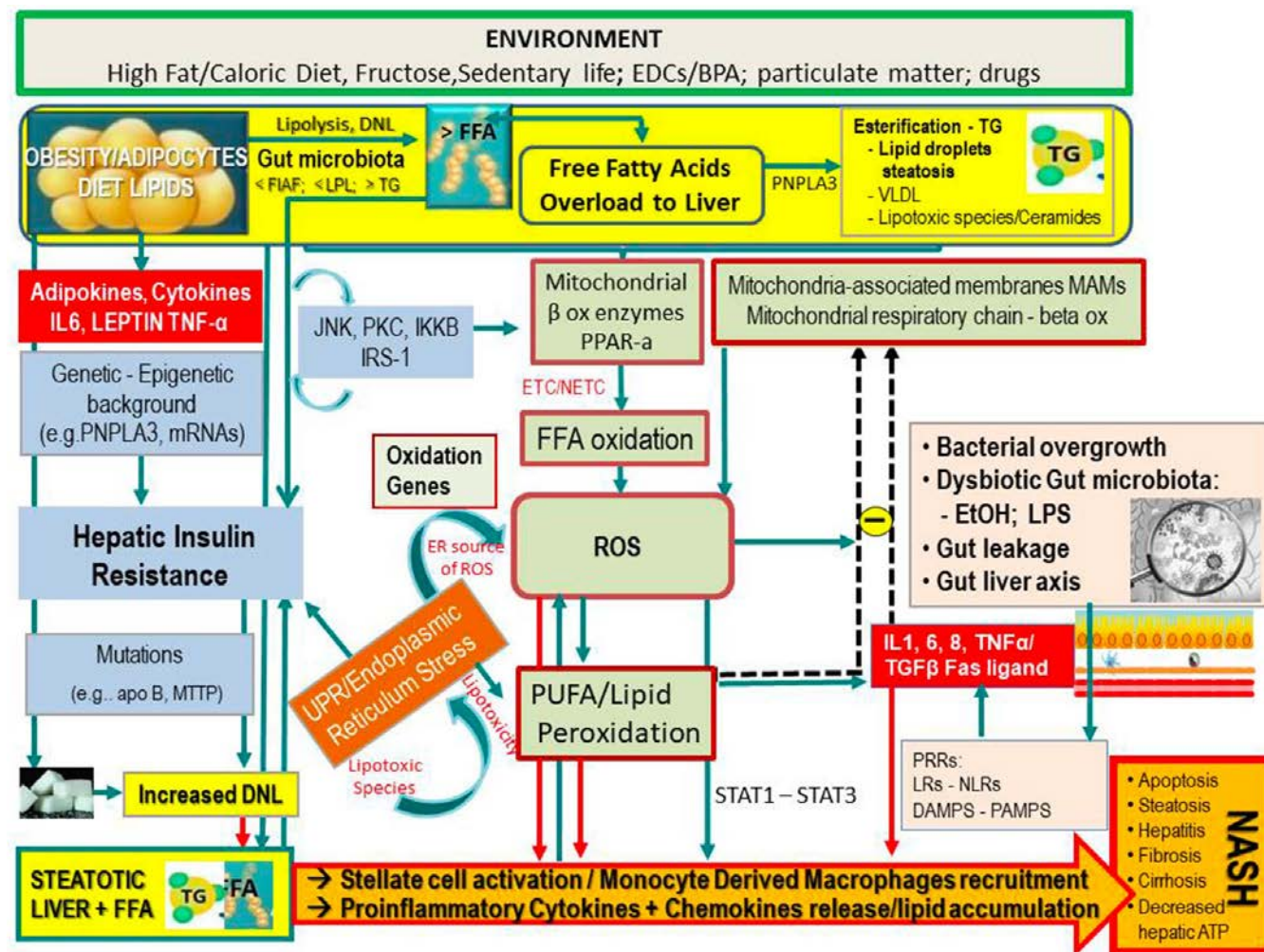
NAFLD = steatosi epatocitaria e accumulo di grasso

Alterazioni istologiche

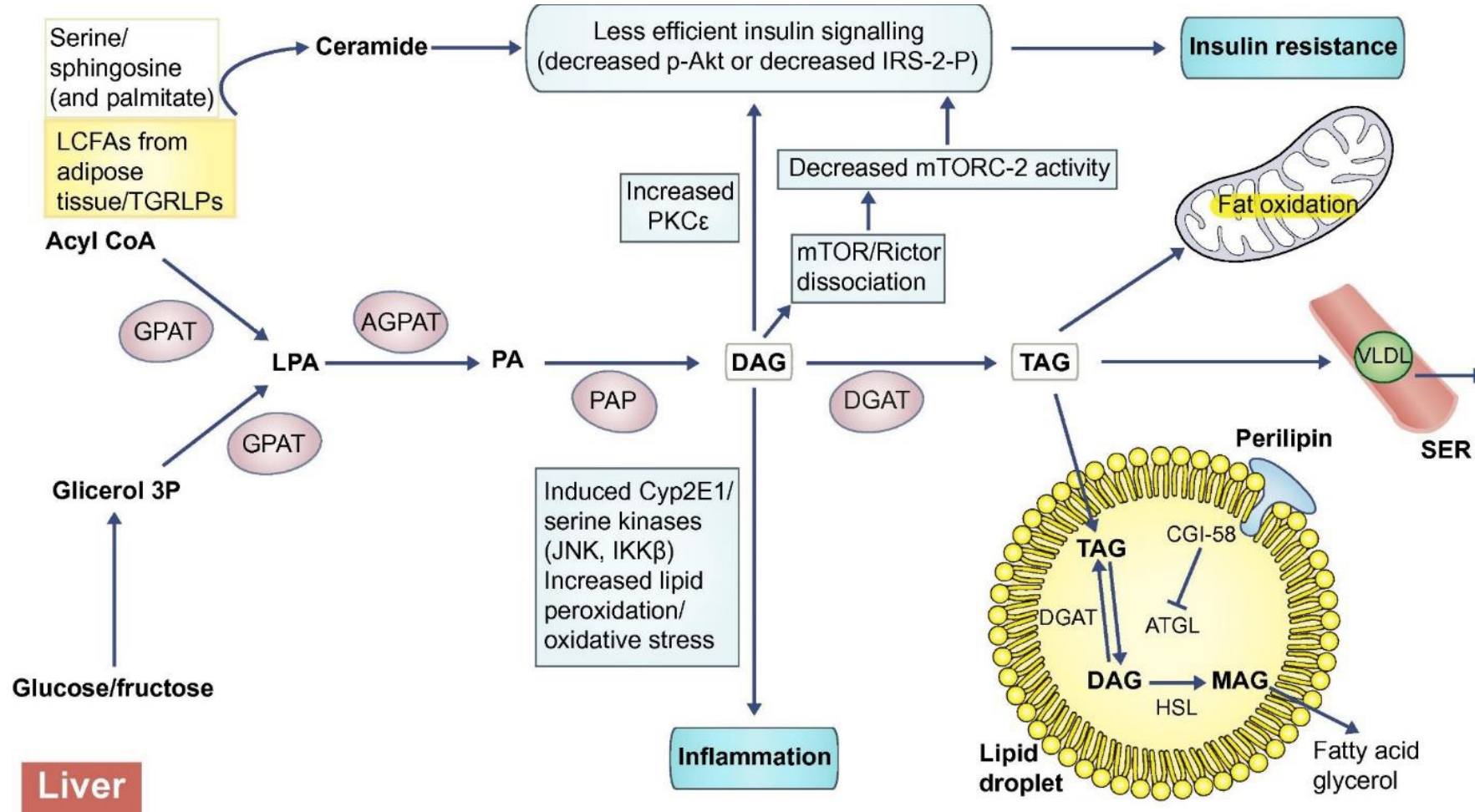
semplice steatosi → steatoepatite (NASH)

NASH → cirrosi → carcinoma epatocellulare

Oggi la NASH rappresenta la seconda indicazione più comune per il trapianto di fegato in Europa e negli Stati Uniti e si prevede che in breve tempo supererà l'epatite C.



Insulino resistenza ed infiammazione epatica

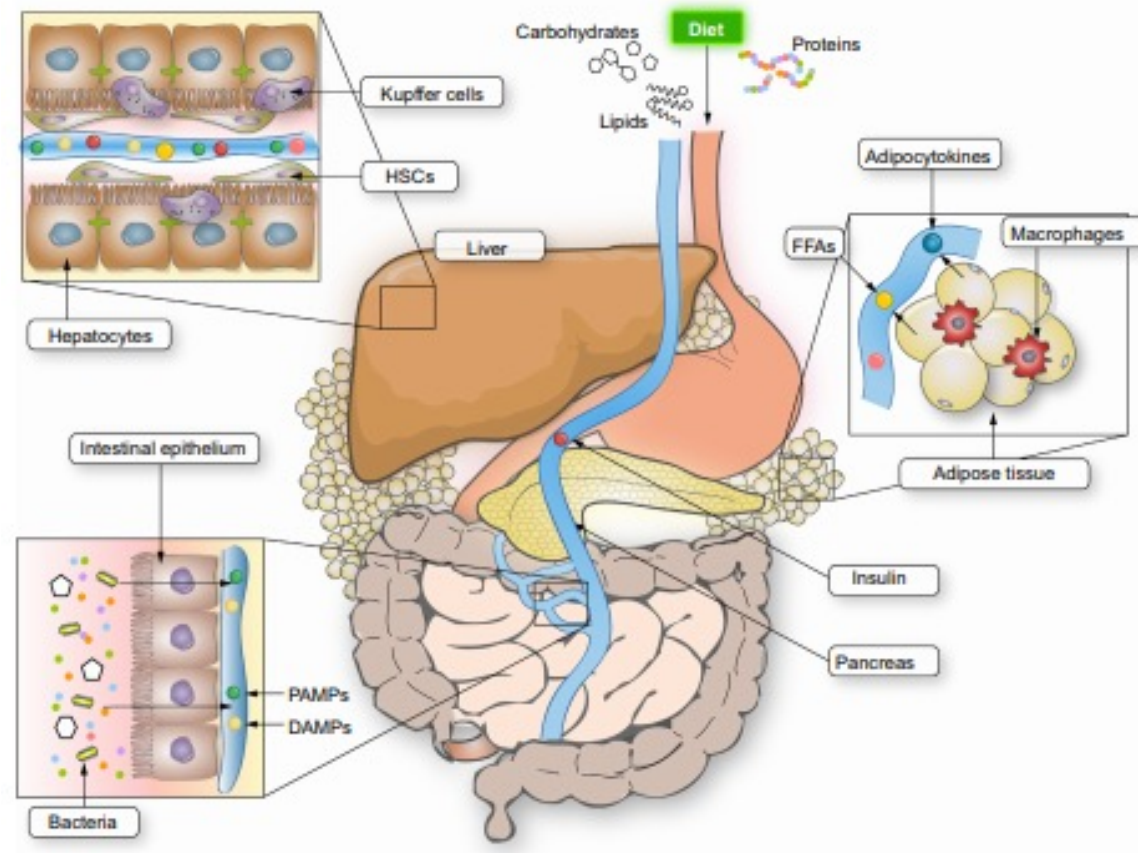


Patogenesi e crosstalk inter-organo



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

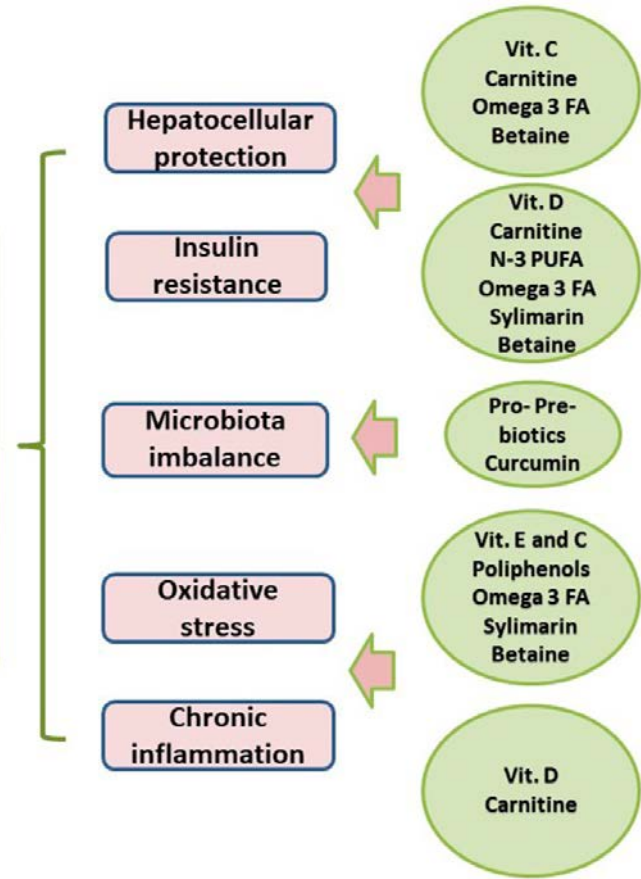
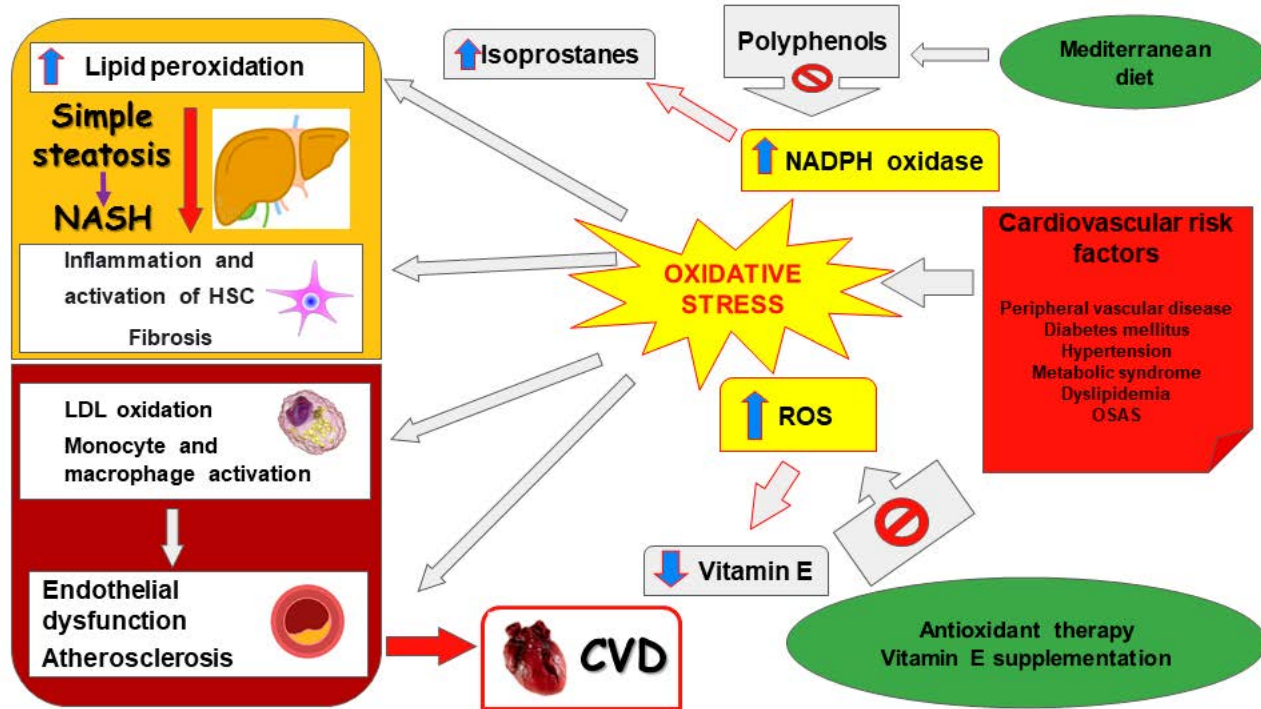
Tessuto adiposo, pancreas, intestino e fegato



NAFLD e dieta



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



NUTRACEUTICALS



Il ruolo di una dieta ricca in polifenoli sulla prevenzione e riduzione della steatosi epatica non alcolica



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



Cellina di Nardò presenta un maggiore contenuto di composti bioattivi, quali polifenoli (~2 mg/gr oliva), rispetto alle altre olive da tavola tipiche della territorio pugliese

Polyphenols	Bella di Cerignola		Termite di Bitetto		Cellina di Nardò	
	Commercial	+ Starter	Commercial	+ Starter	Commercial	+ Starter
	µg/g of FW					
Hydroxytyrosol	421.8 ± 30.7 ^d	472.4 ± 10.1 ^c	258.2 ± 12.1 ^e	266.3 ± 32.2 ^e	1393.3 ± 38 ^a	1325.1 ± 59.7 ^b
Tyrosol derivative	19.46 ± 2.5	96.7 ± 2 [*]	0.0	0.0	0.0	0.0
Tyrosol	80.5 ± 6.9 ^c	124 ± 2.1 ^c	28 ± 0.7 ^d	36.9 ± 1.2 ^d	353.5 ± 26.2 ^b	411.6 ± 9.9 ^a
Cyanidin-3-glucoside	0.0	0.0	0.0	0.0	64.9 ± 8.5	287.3 ± 49.2 [*]
Caffeic acid	0.59 ± 0.09 ^d	0.83 ± 0.05 ^b	0.73 ± 0.31 ^b	0.46 ± 0.04 ^e	2.57 ± 0.8 ^a	0.0
Vanillic acid	6.9 ± 1.8 ^b	12.8 ± 1.1 ^a	6.1 ± 0.8 ^b	7.6 ± 2.3 ^b	2.9 ± 0.3 ^c	3.5 ± 0.1 ^c
Hydroxytyrosol acetate	26.7 ± 0.9	61.4 ± 9.2 [*]	0.0	0.0	0.0	0.0
Verbascoside	15.7 ± 2.4 ^c	347.1 ± 10.3 ^a	31.4 ± 3.4 ^b	38.9 ± 0.8 ^b	22.4 ± 3.1 ^{bc}	0.0
Kaempferol derivative 2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	23.5 ± 0.4
Isoverbascoside	4.1 ± 0.7	43.8 ± 1.8 [*]	0.0	0.0	0.0	0.0
Kaempferol derivative 1	0.0	0.0	0.0	0.0	23.2 ± 0.4	0.0
Verbascoside derivative	0.0	0.0	0.0	0.0	12.2 ± 0.4	21.4 ± 1.6 [*]
Caffeoyl-6'-secologanoside	8.3 ± 1.1 ^b	30.9 ± 0.3 ^a	1.1 ± 0.1 ^c	0.9 ± 0.1 ^c	0.0	0.0
Comsologoside	7.4 ± 0.9	40.9 ± 0.2 [*]	0.0	0.0	0.0	0.0
Caffeic acid derivative	1.1 ± 0.9	3.2 ± 0.9 [†]	0.0	0.0	0.0	0.0
Quercetin	0.0	0.0	0.0	0.0	131.1 ± 6.7 [*]	114.1 ± 2.5
Luteolin	14.7 ± 1.1 ^d	19.4 ± 2.1 ^{cd}	24.2 ± 3.8 ^c	19.6 ± 0.9 ^{cd}	222.8 ± 9.1 ^a	145.4 ± 7.0 ^b
Apigenin	1.7 ± 0.21 ^c	1.6 ± 0.26 ^c	0.0	0.0	9.8 ± 0.4 [*]	6.3 ± 0.15 ^b
TOTAL	609.5 ± 38.1 ^d	1194 ± 19.9 ^c	349.6 ± 13.6 ^e	370.6 ± 8.3 ^e	2238.7 ± 24.1 ^b	2338.3 ± 32.5 ^a

Chemical characterization by HPLC-DAD of the main polyphenols in Italian table olive cultivars: *Bella di Cerignola*, *Termite di Bitetto* and *Cellina di Nardò*. Results as expressed as µg/g of fresh weight. Olive samples were commercially available (Commercial) or obtained by using selected starter cultures (+starter).



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Food Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodchem

Fermented Apulian table olives: Effect of selected microbial starters on polyphenols composition, antioxidant activities and bioaccessibility

Isabella D'Antuono^a, Angelica Bruno^a, Vito Linsalata^a, Fiorenza Minervini^a, Antonella Garbetta^a, Maria Tufariello^b, Giovanni Mita^b, Antonio F. Logrieco^a, Gianluca Bleve^b, Angela Cardinali^{a,*}

^a Institute of Sciences of Food Production (ISPA), National Council of Research (CNR), Via G. Amendola, 122/O, 70126 Bari, Italy
^b Institute of Sciences of Food Production (ISPA), National Council of Research (CNR), Via Prov.le Lecce-Monteroni, 73100 Lecce, Italy



Oliva Cellina di Nardò



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

Estrazione di polifenoli



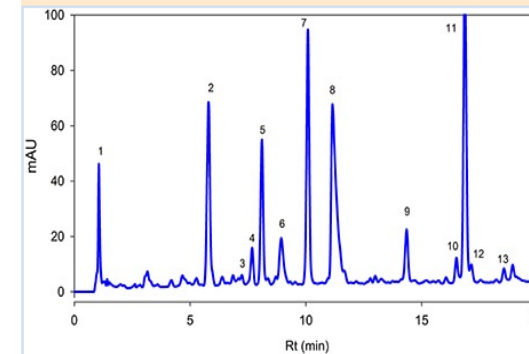
Estrazione idroalcolica mediante Ultrasuoni con Metanolo 80% + 0.1% TFA

Liofilizzazione estratto dopo aver allontanato metanolo

Caratterizzazione quali-quantitativa



Analisi cromatografica mediante HPLC-DAD



Estratto polifenolico di Oliva Cellina



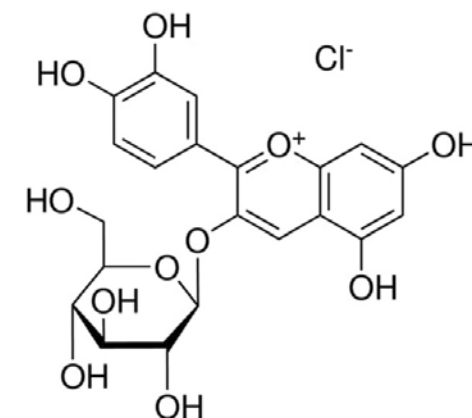
NUTRAGE

Consiglio Nazionale delle Ricerche

<i>Polifenoli</i>	<i>mg/kg peso fresco</i>	<i>mg/g estratto liofilizzato</i>
Idrossitirosole	816.80	7.35
Acido vanillico	11.85	0.14
Acido caffeico	16.78	0.15
Verbascoside	408.70	5.54
Ac. Caffeico derivato	11.54	0.12
Ac. Cumarico derivato	27.60	0.32
Luteolina derivato	46.27	0.58
Quercetina glicosilata	128.61	1.23
Luteolina glicosilata	22.49	0.18
Quercetina aglicone	52.61	0.55
Luteolina aglicone	156.86	1.20
Cianidina derivata	8.74	0.16
Cianidina 3-glucoside	114.67	3.71
Totali	1823.53	21.25

Idrossitirosole e **verbascoside** sono coinvolti nell'effetto benefico dell'olio di oliva, riconosciuto nell' health claim dell'EFSA (Regolamento 432/2012 dell'UE) di protezione delle LDL dal danno ossidativo.

Evidenze scientifiche supportano le seguenti attività health promoting della **C3G**: antiossidante, antinfiammatoria, chemiopreventiva, protezione contro malattie legate all'età, il diabete di tipo 2, malattie cardiovascolari, sindrome metabolica.



Cianidina 3-glucoside



AUTHORIZED

Sperimentazione *in vivo*



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

Il ruolo di una dieta ricca in polifenoli sulla prevenzione e riduzione della steatosi epatica non alcolica”

Autorizzazione n° 849/2019-PR



CNE EXTRACT / C3G STD

HIGH FAT DIET

Birth

6 wks

14 wks

22 wks



I.R.C.C.S. "S. de Bellis"
Ente Ospedaliero Specializzato in Gastroenterologia
Castellana Grotte (BA)

Consiglio Nazionale delle Ricerche
ISPA
ISTITUTO DI SCIENZE DELLE PRODUZIONI ALIMENTARI



Sperimentazione *in vivo*



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



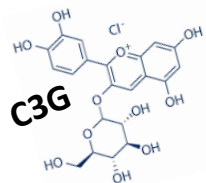
Somministrazione orale forzata
attraverso sonda oro-gastrica



Processamento dei campioni



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



8 settimane +
HFD



Parametri metabolici
&
Analisi del microbiota



Funzione
epatica



Biodisponibilità



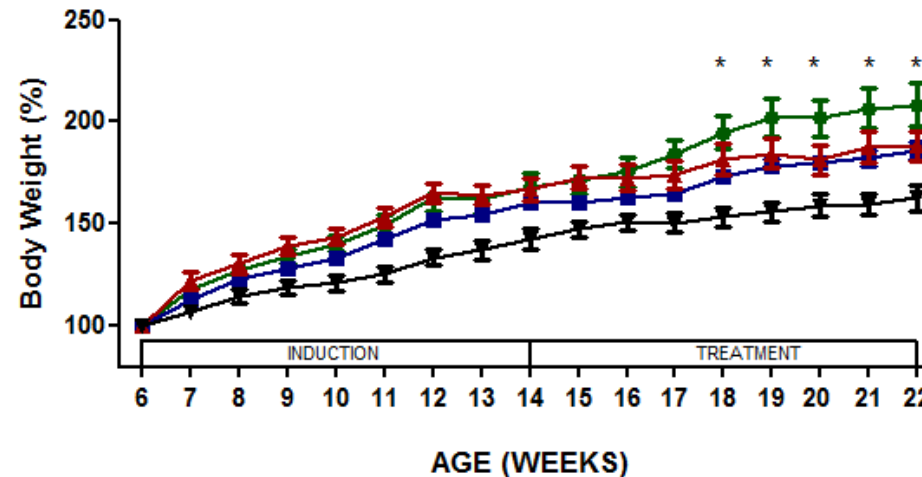
Monitoraggio della massa corporea



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

6W	14W	22W
INDUCTION	TREATMENT	
STANDARD	STANDARD	
HIGH FAT	HIGH FAT	
HIGH FAT	HIGH FAT + C3G	
HIGH FAT	HIGH FAT+CNE(E)	

- ▼ STANDARD
- ◆ HIGH FAT
- HIGH FAT+C3G
- ▲ HIGH FAT+CNE (E)



* HIGH FAT vs HIGH FAT+C3G

* p<0,05 (Two-way ANOVA)

CNE: estratto di polifenoli dall'oliva da tavola *Cellina di Nardò*

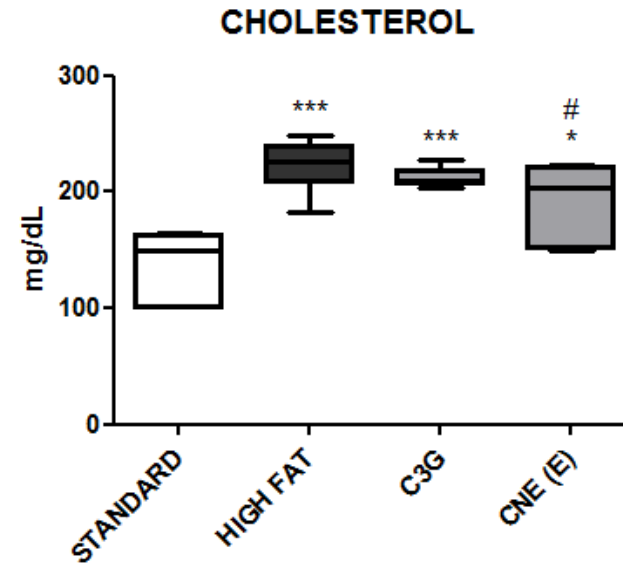
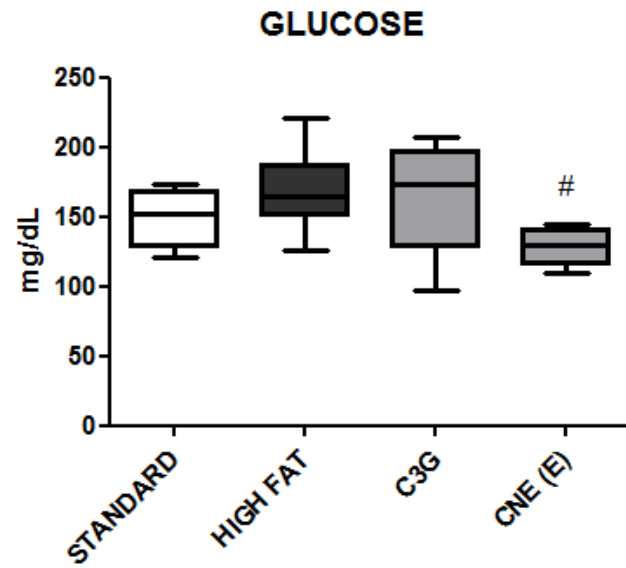
Aumento % del peso totale dell'animale a partire dall'inizio del trattamento con dieta (INDUCTION).
Dall'11^ settimana in poi, significativa differenza rispetto alla Standard Diet



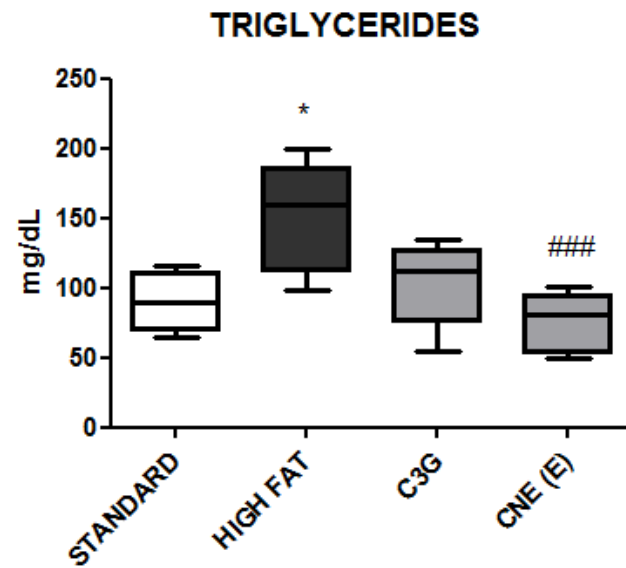
ANALISI SIERI AL SACRIFICIO



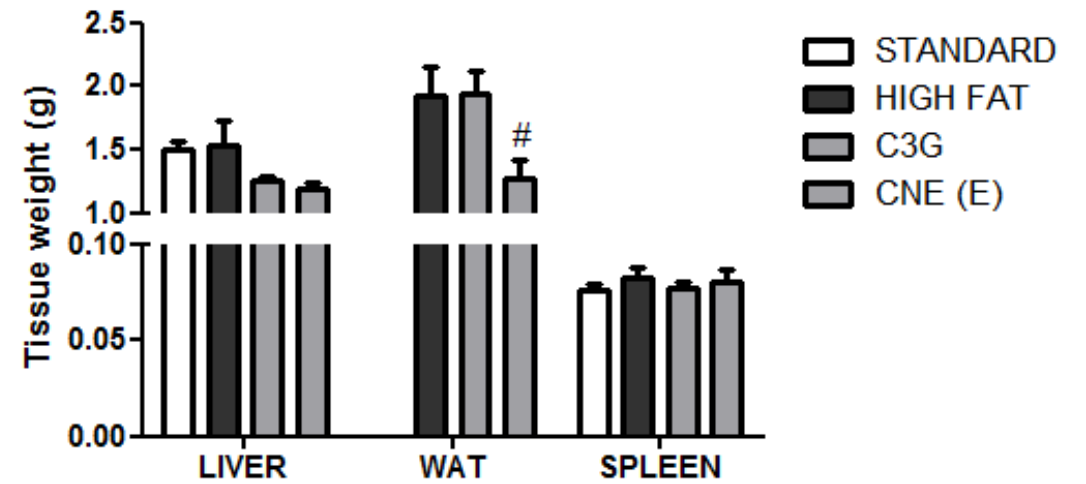
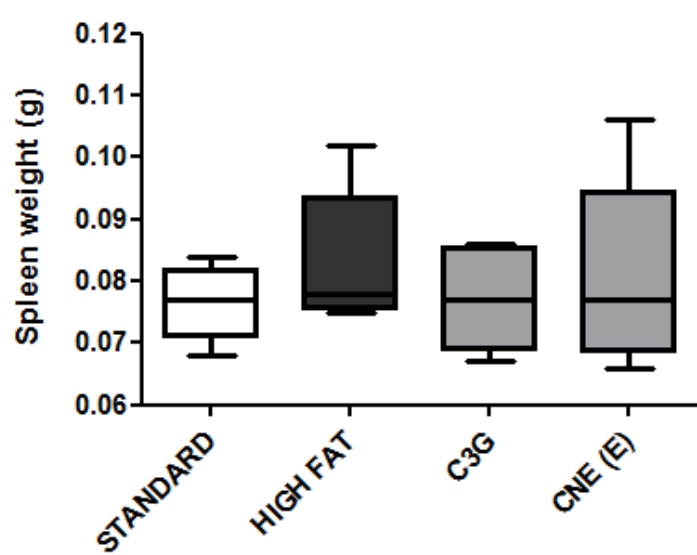
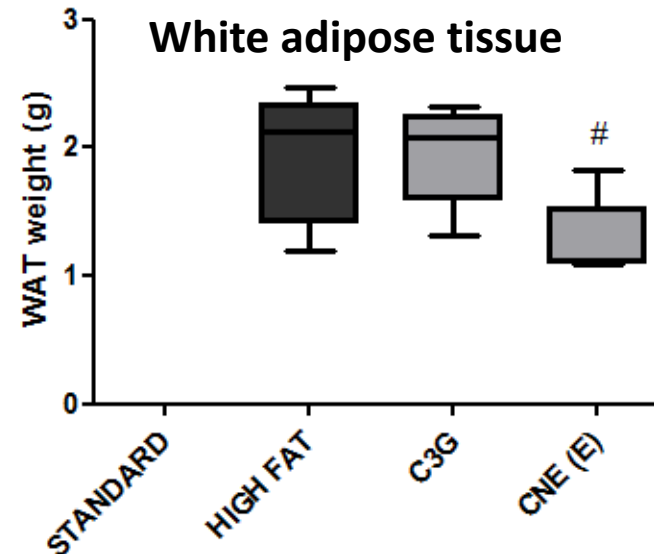
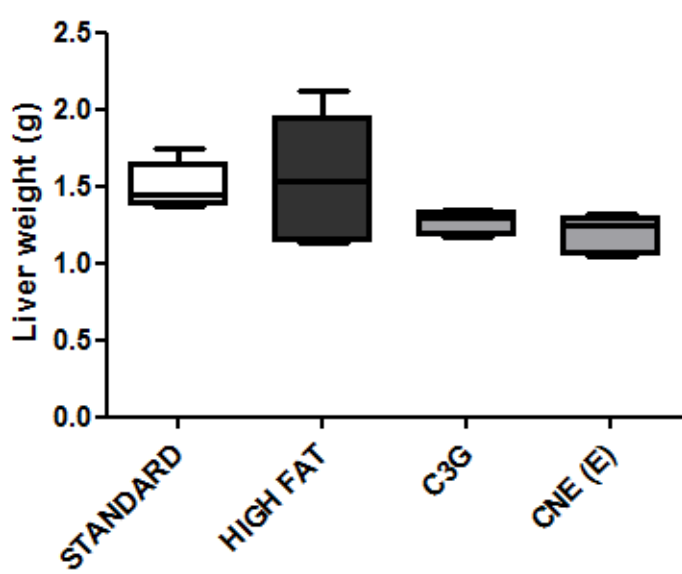
NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



* vs STANDARD
vs HIGH FAT
1-way ANOVA



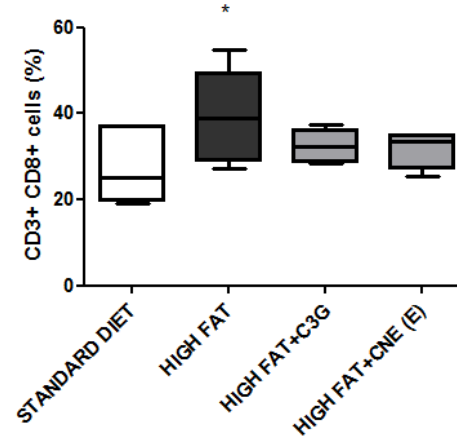
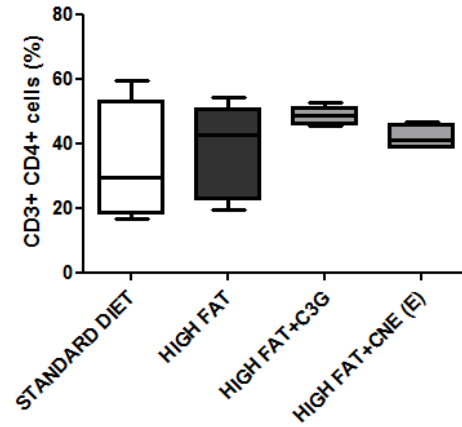
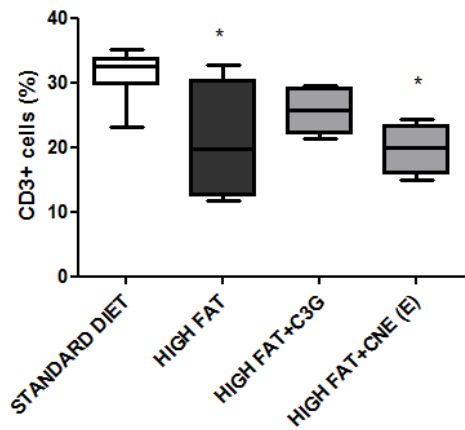
PESO TESSUTI AL SACRIFICIO



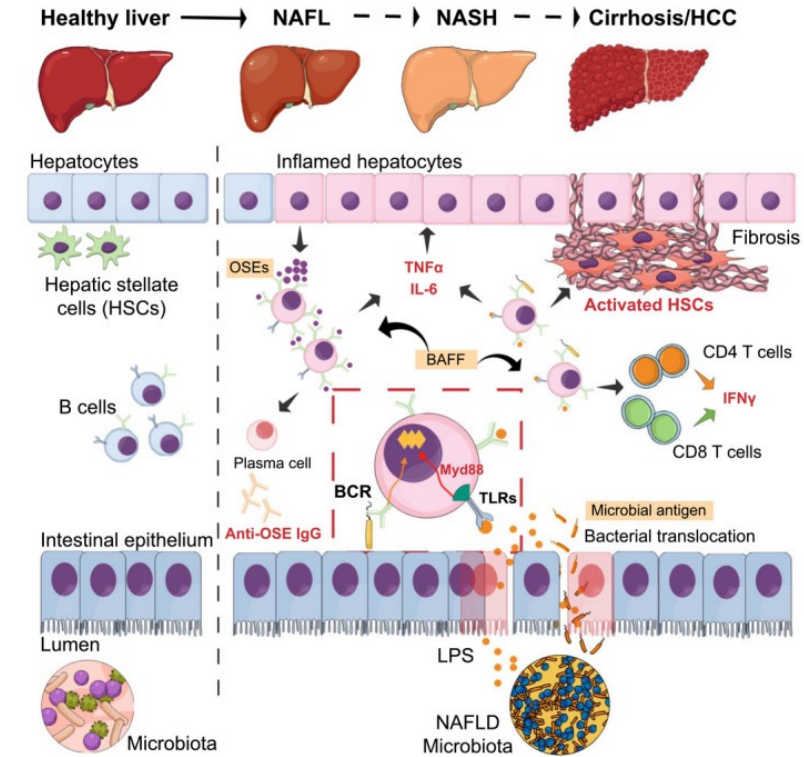
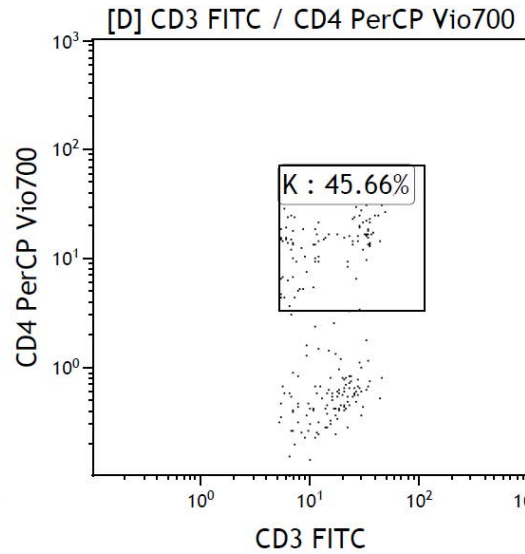
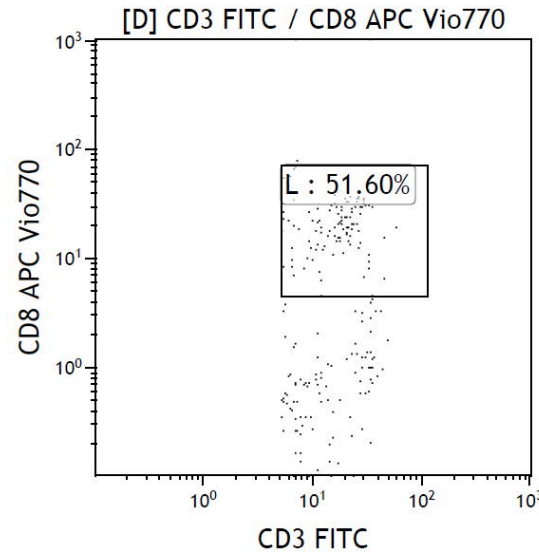
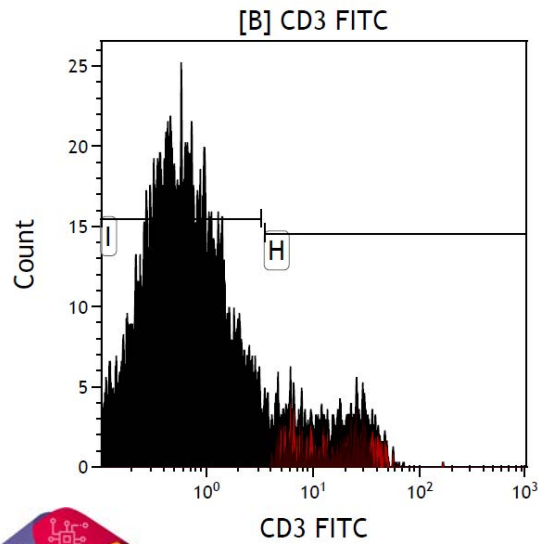
ANALISI FACS (Fluorescence activated cell sorting)



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



* vs STANDARD DIET
vs HIGH FAT



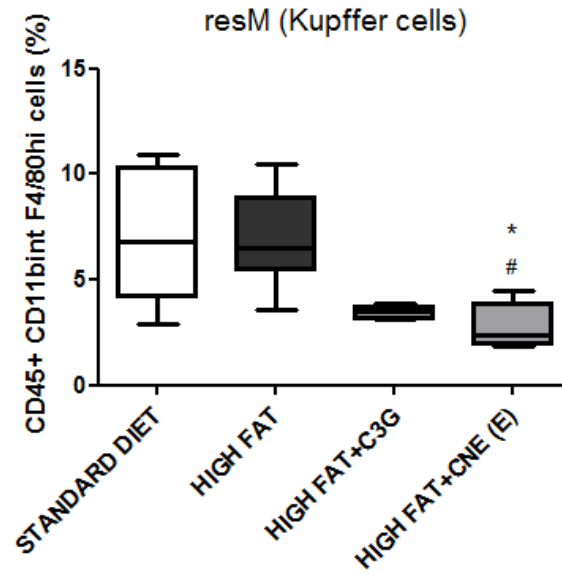
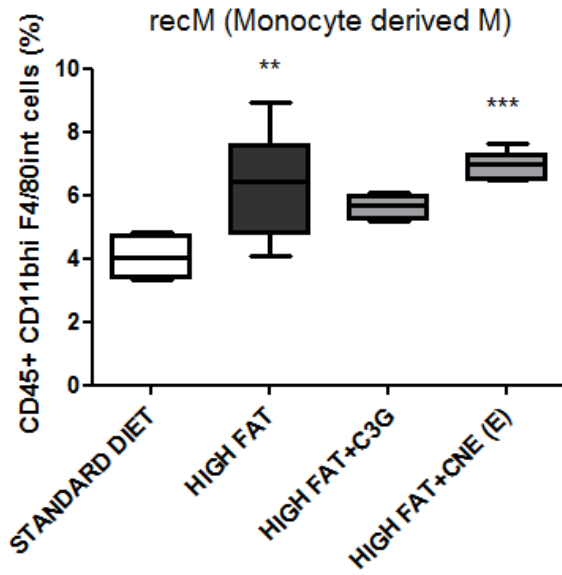
[10.1002/hep.31889](https://doi.org/10.1002/hep.31889)



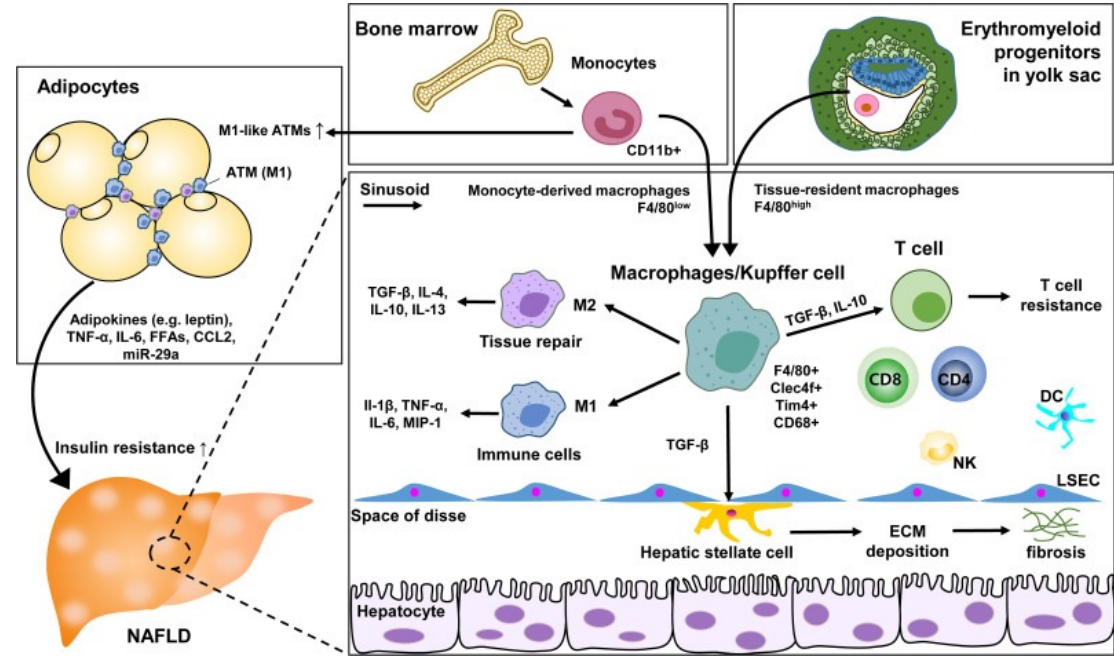
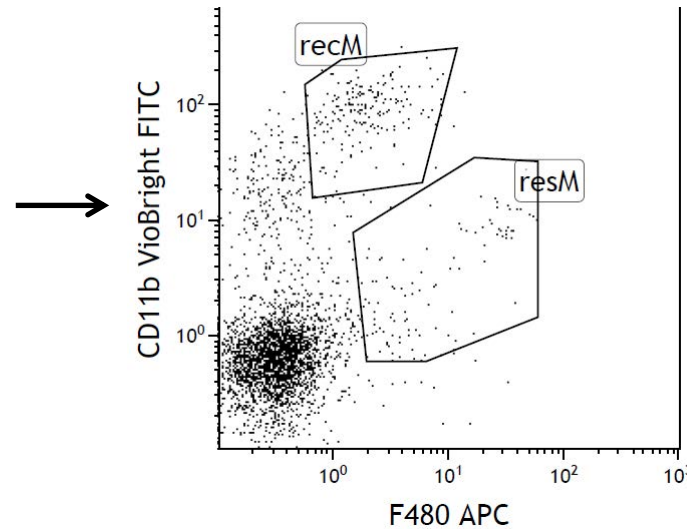
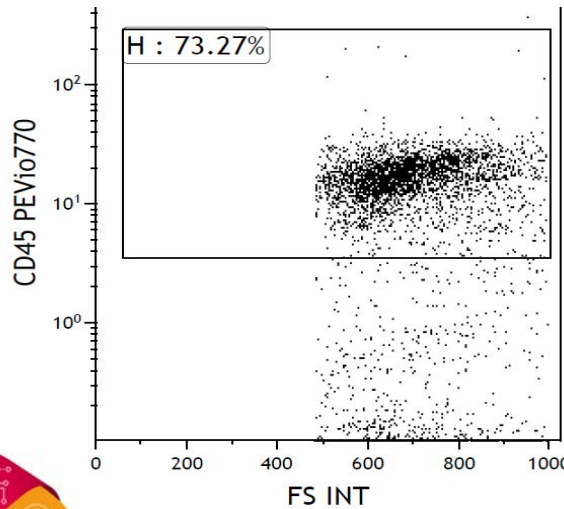
ANALISI FACS (Fluorescence activated cell sorting)



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



* vs STANDARD DIET
vs HIGH FAT



[10.3389/fendo.2023.1150118](https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1150118)



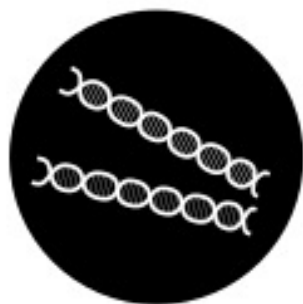
Analisi del microbiota fecale



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



Sample
Collection
& Storage



DNA
Extraction



Library
Preparation



Sequencing



Bioinformatics



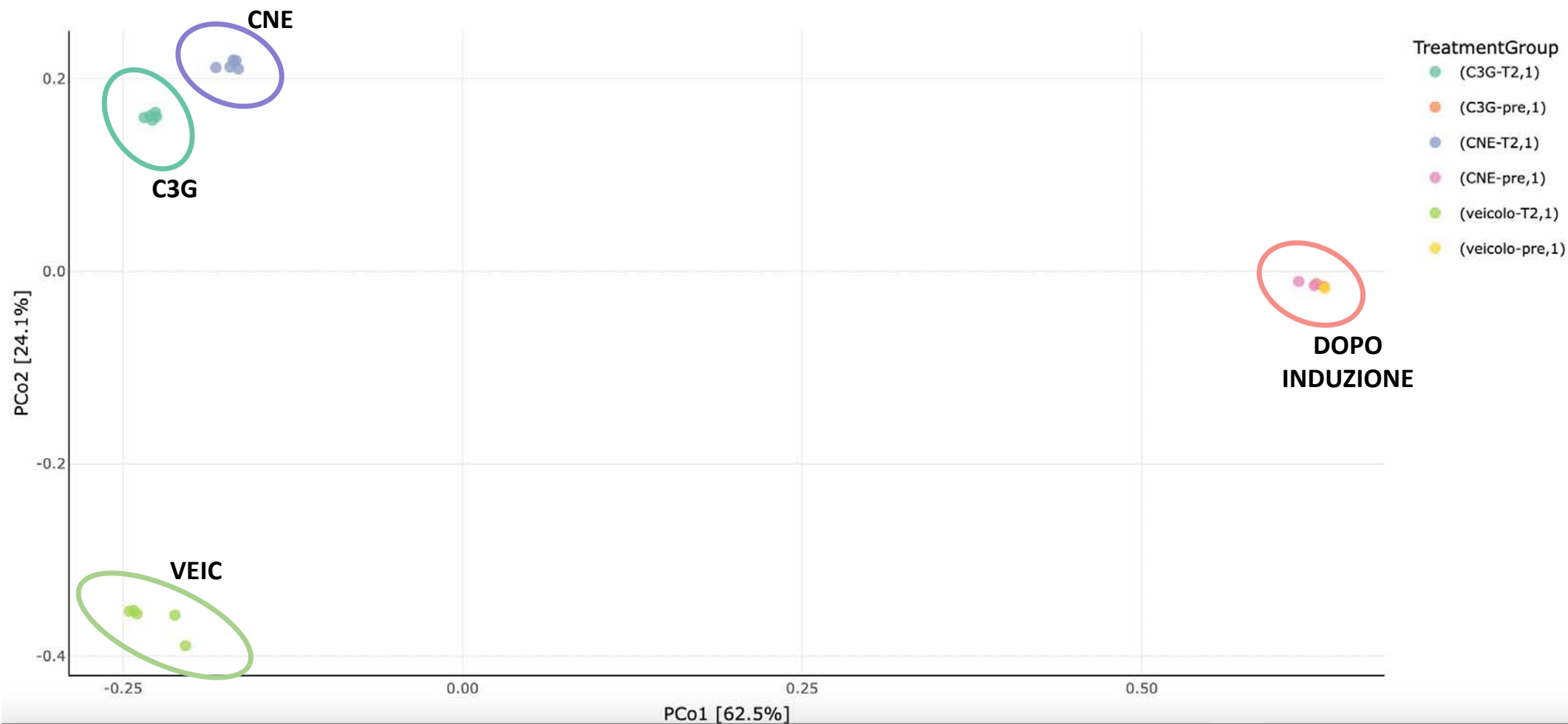
Analysis
& Reports



Analisi del microbiota fecale



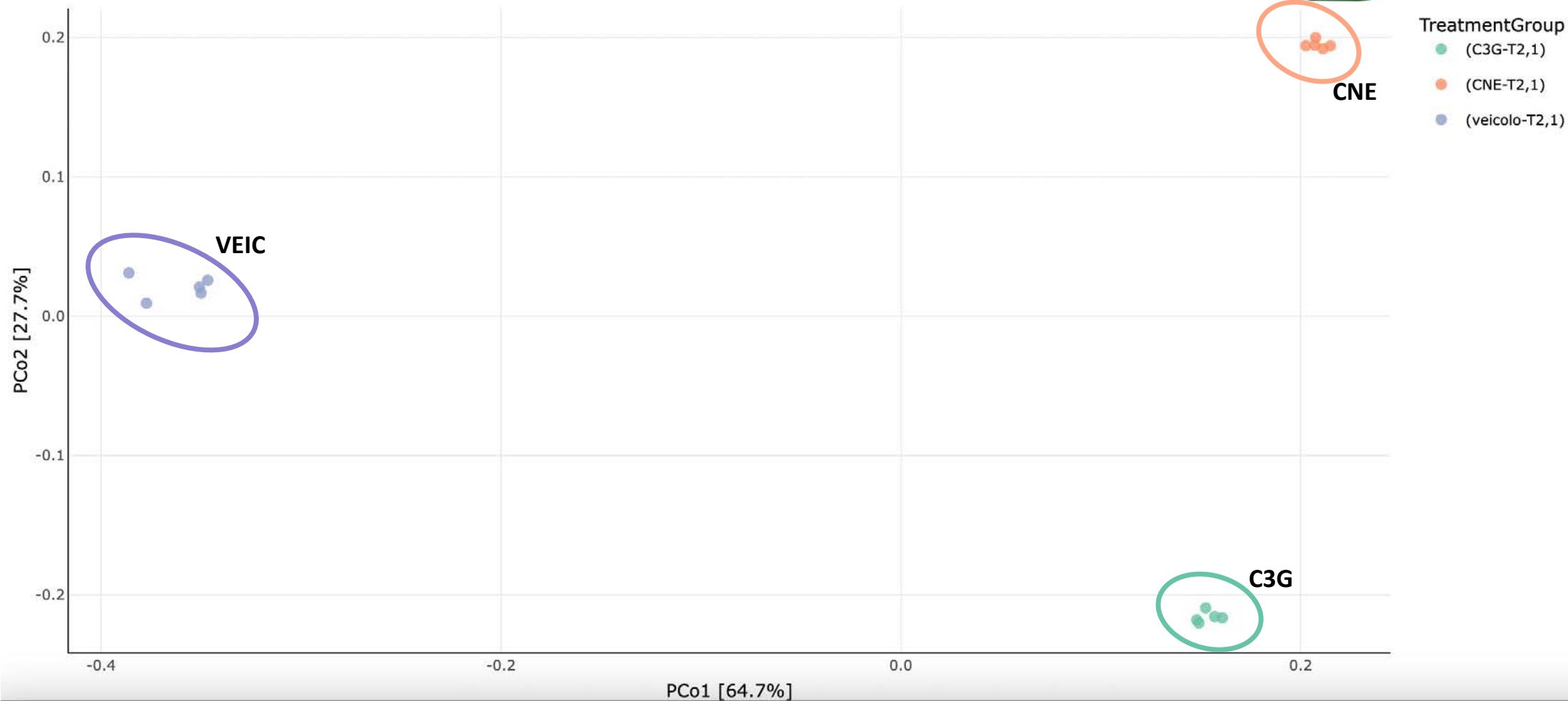
NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



Analisi del microbiota fecale



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

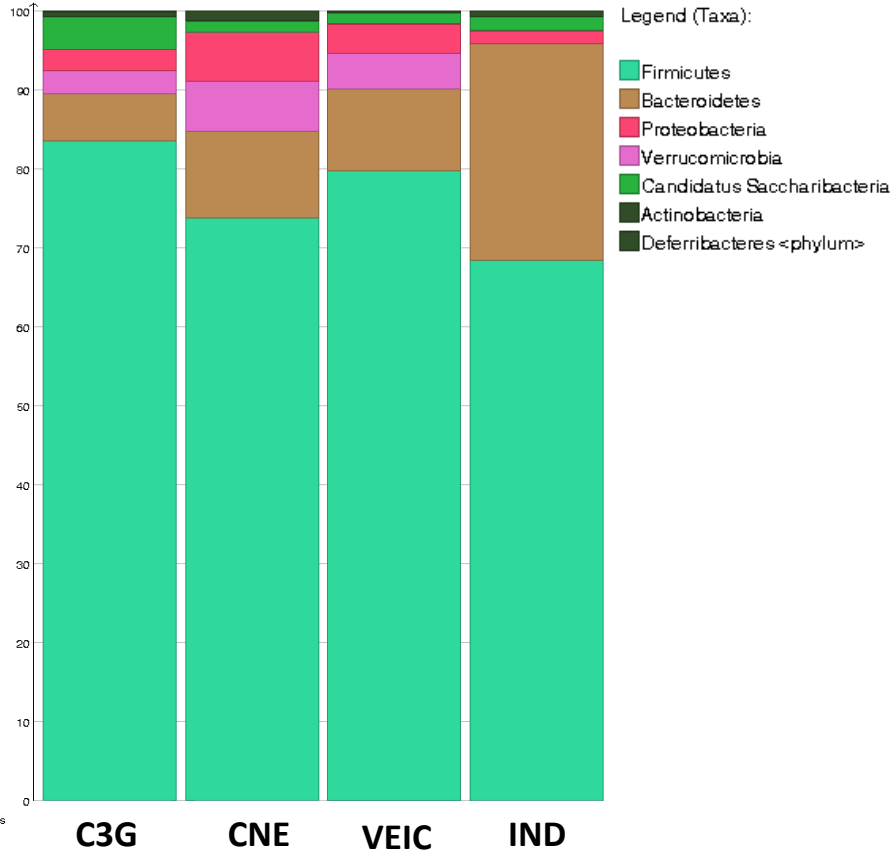


Analisi del microbiota fecale

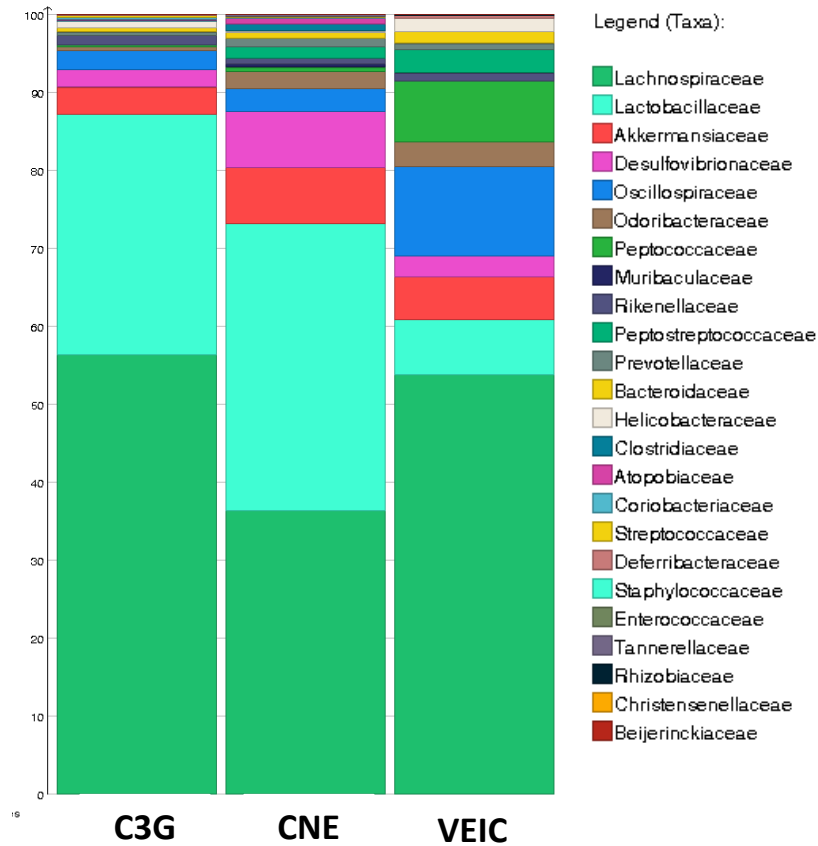


NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

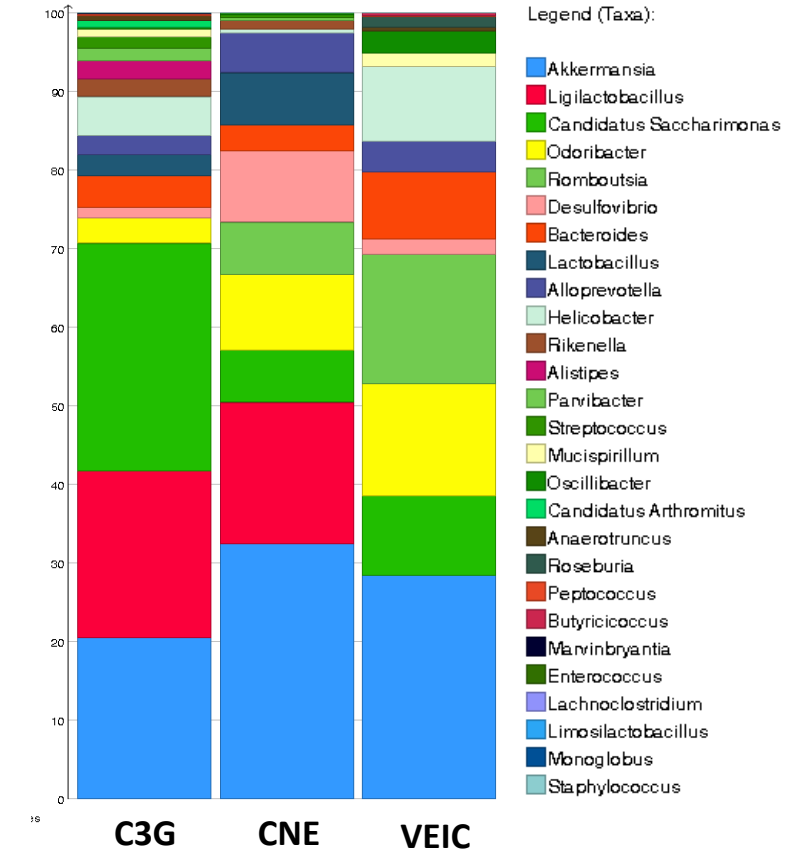
phylum level



family level



genus level



Analisi metabolomica del siero



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

I campioni di siero, prelevati dai singoli animali, sono stati estratti con metanolo, centrifugati, filtrati e sono in corso le analisi mediante sistema UPLC-MS per la determinazione della biodisponibilità dei polifenoli ed eventuali metaboliti.



Conclusioni



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche

I risultati preliminari indicano che:

- L'arricchimento con CNE e C3G riduce gli effetti negativi relativi alla dieta High-Fat
 - L'arricchimento con CNE e C3G è in grado di modulare positivamente il microbiota intestinale
- ❑ Ulteriori analisi sono in corso per confermare queste prime evidenze sperimentali**



Ringraziamenti



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche



Cardinali Angela
D'Antuono Isabella
Ferrara Massimo
Mulè Giuseppina



Tafaro Angela
Bianco Giusy

