

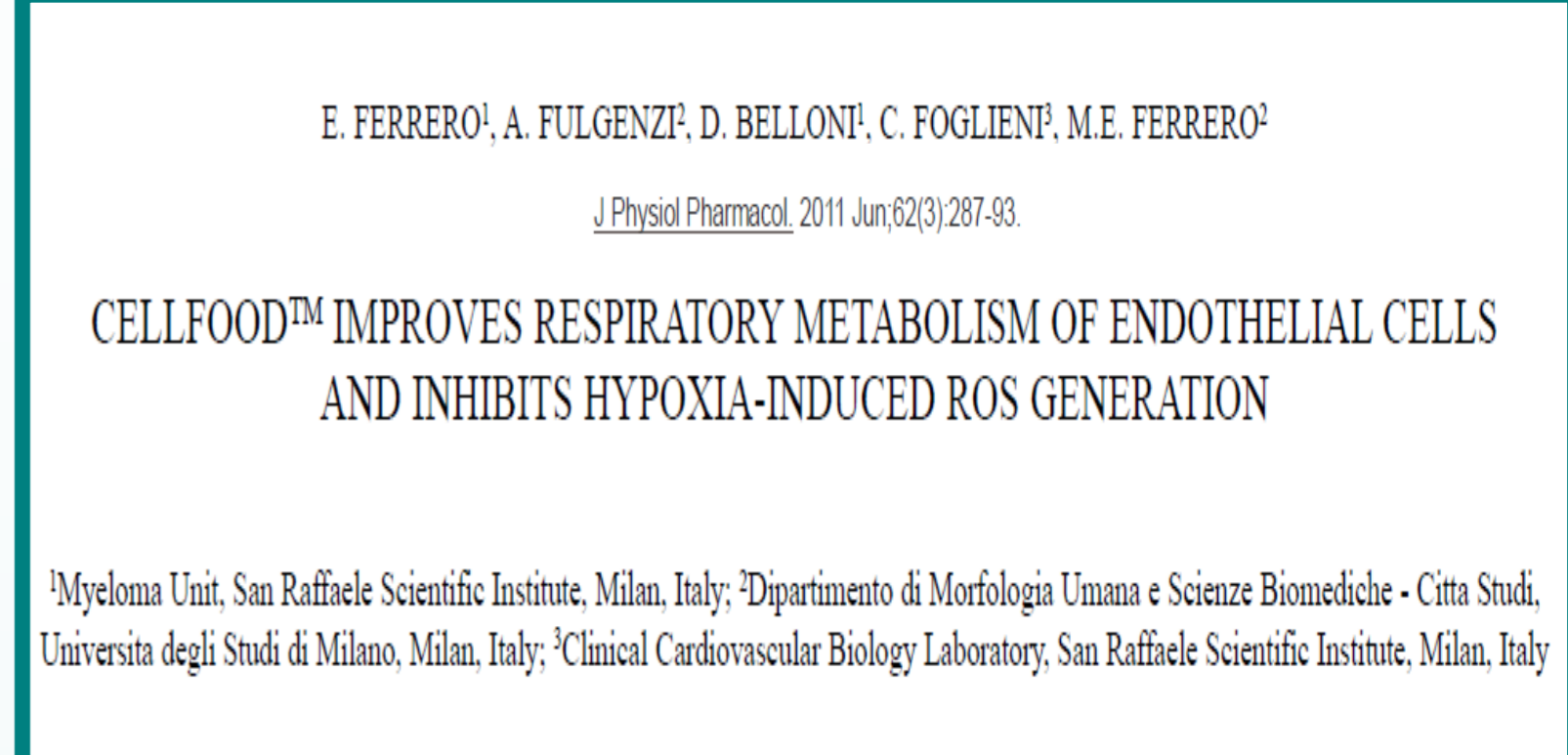
Serena Benedetti (a), Simona Catalani (a), Valentina Carbonaro (a), Francesco Palma (a), Marselina Arshakyan (a),  
Serafina Battistelli (a), Franco Canestrari (a), Barbara Nuvoli (b), Rossella Galati (b).

✉: [serena.benedetti@uniurb.it](mailto:serena.benedetti@uniurb.it)

(a) Dip.to Scienze Biomolecolari, Sez. Biochimica Clinica e Biologia Cellulare, Università di Urbino "Carlo Bo".  
(b) Area Medicina Molecolare, Istituto Nazionale Tumori "Regina Elena", Roma.

## CELLFOOD™

Cellfood™ (CF, NuScience Corporation, CA, USA) è un integratore naturale contenente 78 oligoelementi, 34 enzimi e 17 amminoacidi, sospesi in una soluzione colloidale di solfato di deuterio (formula Everett Storey). E' stato evidenziato che CF ha attività antiossidante in vitro [Benedetti et al., 2011] e che aumenta il consumo di ossigeno e la produzione mitocondriale di ATP in cellule endoteliali in coltura [Ferrero et al., 2011].



## INTRODUZIONE

Circa il 60-90% dei tumori è caratterizzato da un profilo metabolico dipendente dalla glicolisi come principale fonte di energia, a prescindere dai livelli di ossigeno (effetto Warburg). Come conseguenza, le cellule tumorali up-regolano, tramite il fattore ipossico HIF-1, il trasportatore del glucosio GLUT-1, e convertono il piruvato (prodotto finale della glicolisi) in lattato ad opera dell'enzima lattato deidrogenasi (LDH), anziché ossidarli nei mitocondri [Hsu et al. *Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. Cell 2008, 134:703-707*].

## OBIETTIVI E METODI

CF è in grado di influenzare il metabolismo della cellula tumorale rendendola suscettibile all'apoptosi? A tal fine, l'attività antiproliferativa di CF (concentrazione 5 µl/ml, corrispondente a un dosaggio di 24 gocce in un bicchiere d'acqua) è stata valutata in diverse linee tumorali andando ad analizzare: la crescita e la vitalità cellulare, l'apoptosi (attivazione caspasi-3, frammentazione DNA, ciclo cellulare, espressione di proteine pro-apoptiche), la concentrazione di HIF-1α, l'espressione di GLUT-1 e il metabolismo cellulare (attività della LDH e rilascio di lattato). CF è stato gentilmente fornito da Eurodream srl (La Spezia, Italia).

## LINEE CELLULARI TUMORALI

Jurkat: leucemia linfoblastica acuta  
U937: leucemia mieloide acuta  
K562: leucemia mieloide cronica



M14: melanoma  
SKRB3: carcinoma della mammella  
HCT116: carcinoma del colon  
H1650, H1975: carcinoma del polmone  
MSTO, NCI, MPP89, Ist-Mes1 and 2: mesotelioma

## RISULTATI SULLE LINEE LEUCEMICHE

CF promuove una riduzione della proliferazione cellulare mediante induzione di apoptosi. Infatti, nelle linee leucemiche Jurkat, U937 e K562 la somministrazione di CF causa un aumento dell'attività della caspasi-3 e la frammentazione del DNA nucleare, i quali sono due marcatori biochimici del processo apoptotico. L'apoptosi è associata a una riduzione della concentrazione del fattore ipossico HIF-1α e a una riduzione dell'espressione del recettore per il glucosio GLUT-1. Le modificazioni del metabolismo energetico nelle tre linee leucemiche in presenza di CF sono state confermate anche dalla riduzione dell'attività dell'enzima glicolitico lattato deidrogenasi (LDH) e dalla riduzione del rilascio di lattato nel mezzo di coltura.

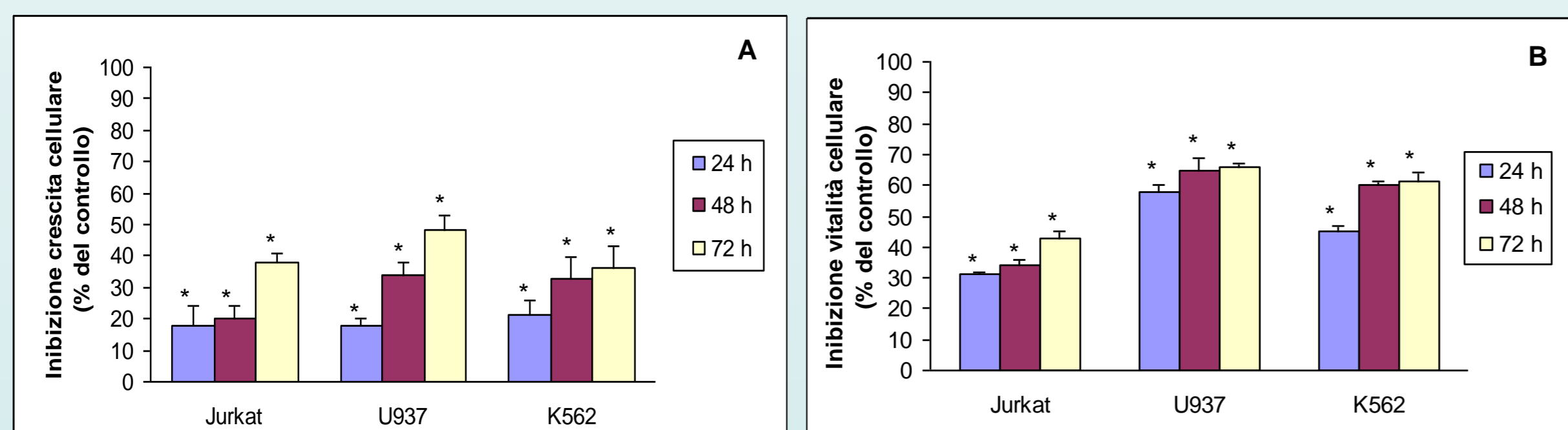


Figura 1: Inibizione significativa della proliferazione (A) e della vitalità cellulare (B) dopo trattamento con CF, valutate rispettivamente mediante conta al microscopio con trypan blue e analisi colorimetrica con il reagente WST-1. \*p<0.05 vs. cellule non trattate (controllo).

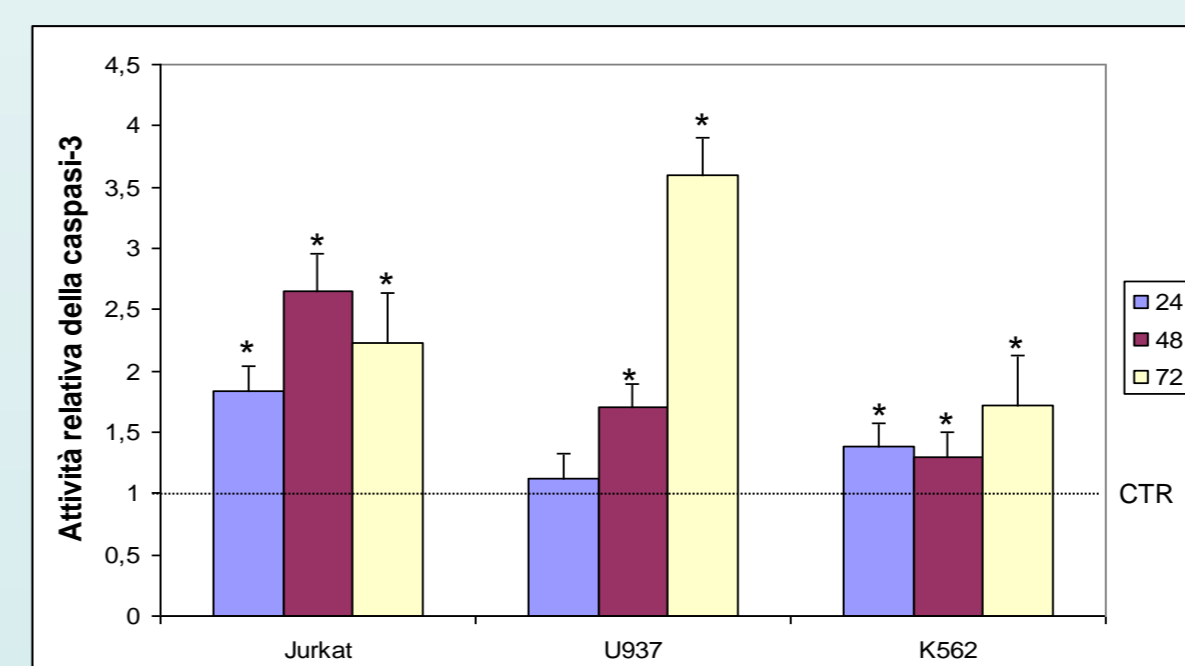


Figura 2: Incremento significativo dell'attività della caspasi-3 in cellule leucemiche dopo trattamento con CF. \*p<0.05 vs. cellule non trattate (CTR).

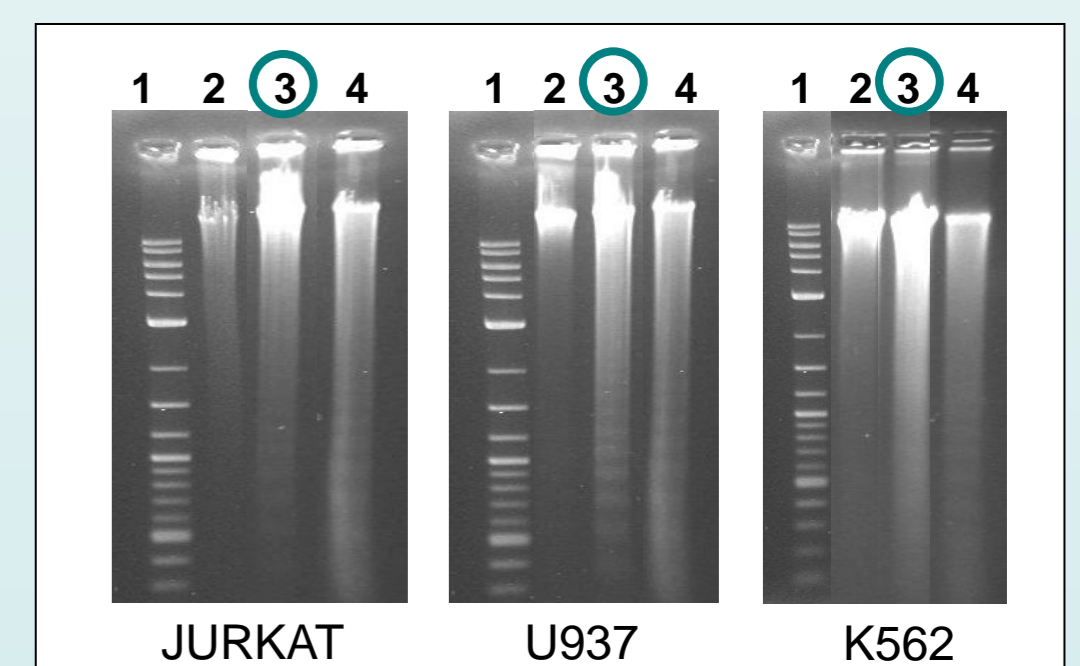


Figura 3: Frammentazione del DNA (laddering) in cellule leucemiche dopo 72 h di incubazione con CF (analisi qualitativa mediante elettroforesi su gel di agaroso). 1: marcatore di DNA (1 kb); 2: controllo negativo (cellule non trattate); 3: cellule trattate con CF; 4: controllo positivo (etoposide).

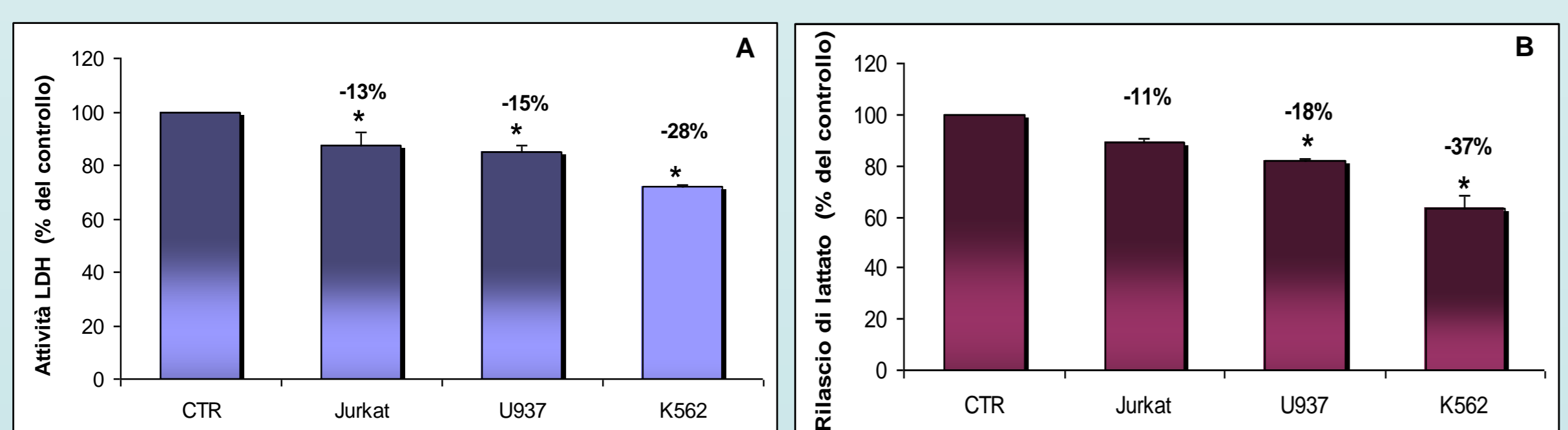


Figura 4: Attività della LDH (A) e rilascio di lattato nel terreno di coltura (B) in cellule leucemiche dopo 72 h di incubazione con CF rispetto alle cellule di controllo non trattate. \*p<0.05 vs. controllo.

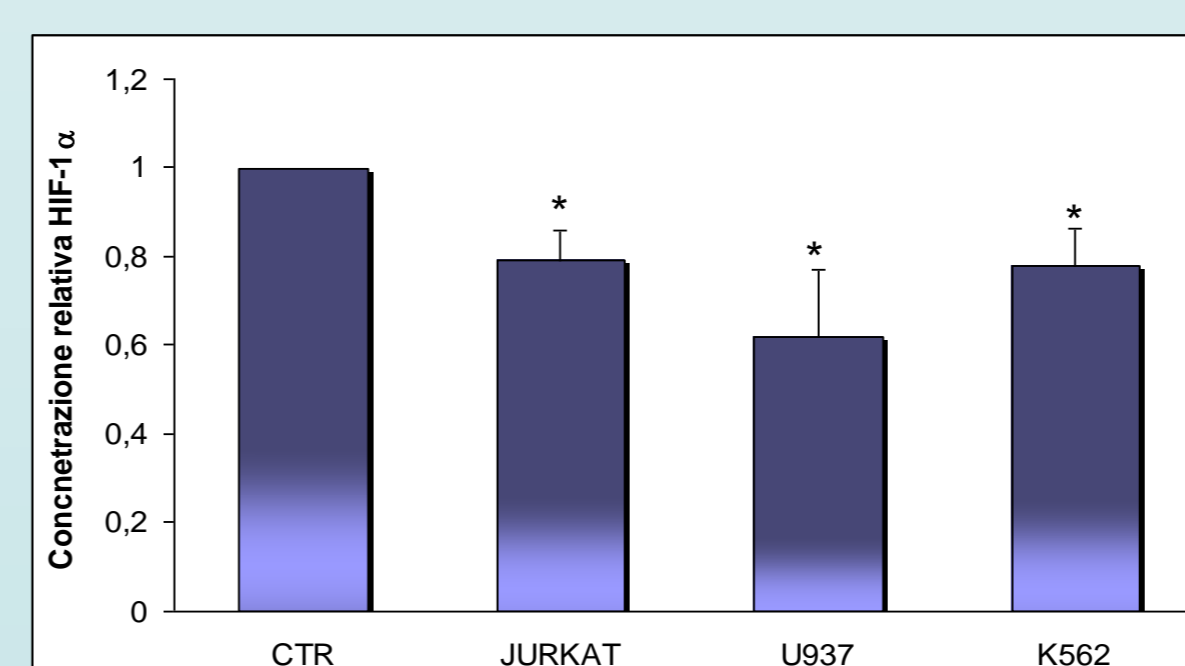


Figura 5: Riduzione significativa della concentrazione di HIF-1α dopo 72 h di trattamento con CF. \*p<0.05 vs. cellule non trattate.

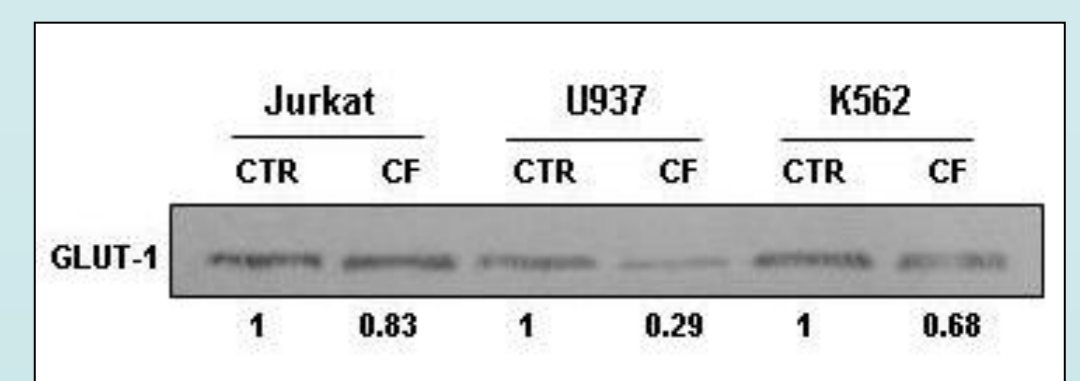


Figura 6: Western Blotting del recettore GLUT-1 in cellule leucemiche dopo 72 ore di incubazione con CF. L'analisi densitometrica delle bande rivela una ridotta espressione di GLUT-1 nelle cellule trattate con CF rispetto al controllo non trattato.

## RISULTATI SULLE LINEE TUMORALI IN ADESIONE

CF mostra attività antiproliferativa e induce apoptosi anche su linee cellulari di tumori solidi. Come esempio, l'analisi del ciclo cellulare nella linea di mesotelioma MSTO ha evidenziato un incremento della fase sub-G1 e un decremento della fase G1 dopo trattamento con CF. La valutazione dell'espressione di alcune proteine pro-apoptiche ha confermato la presenza di morte cellulare per apoptosi; infatti, dopo supplementazione con CF si sono evidenziati l'attivazione della caspasi-3, il cleavage di PARP e un aumento di p21 e p27.

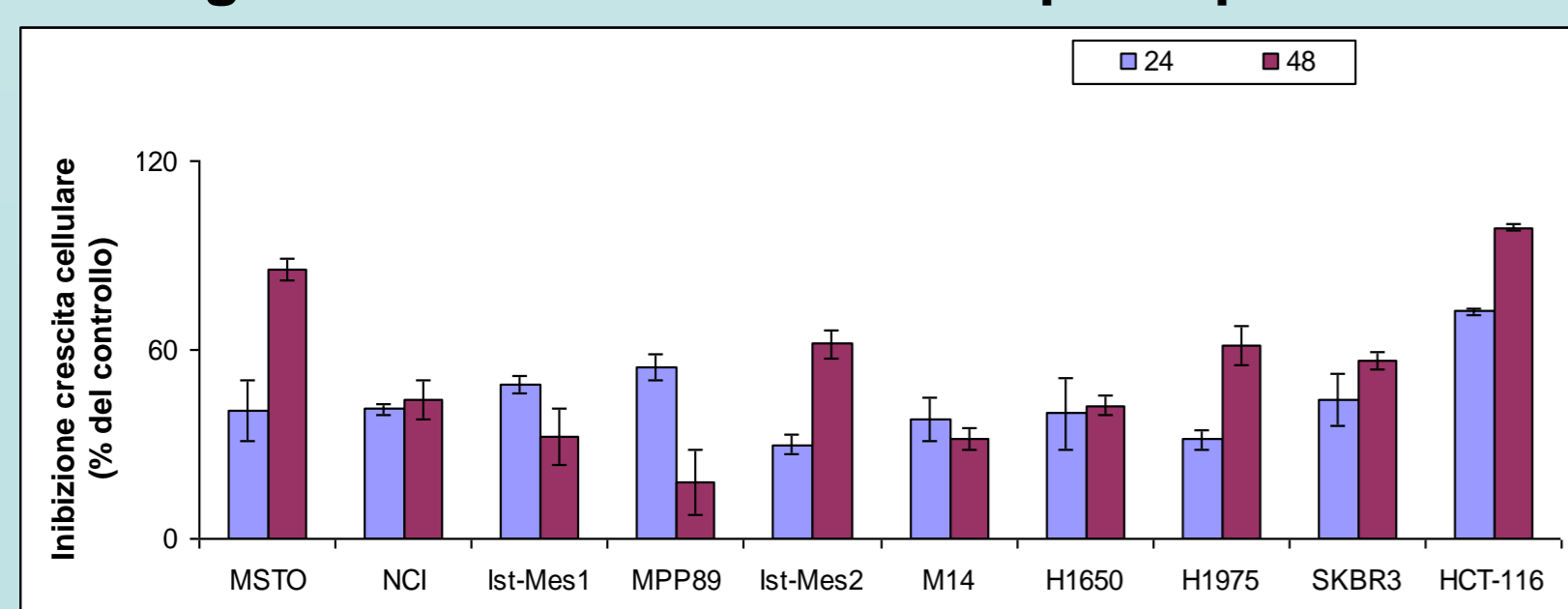


Figura 7: Inibizione significativa della proliferazione cellulare dopo 24 e 48 ore di incubazione con CF rispetto al controllo non trattato. Valutazione mediante analisi colorimetrica con il reagente XTT.

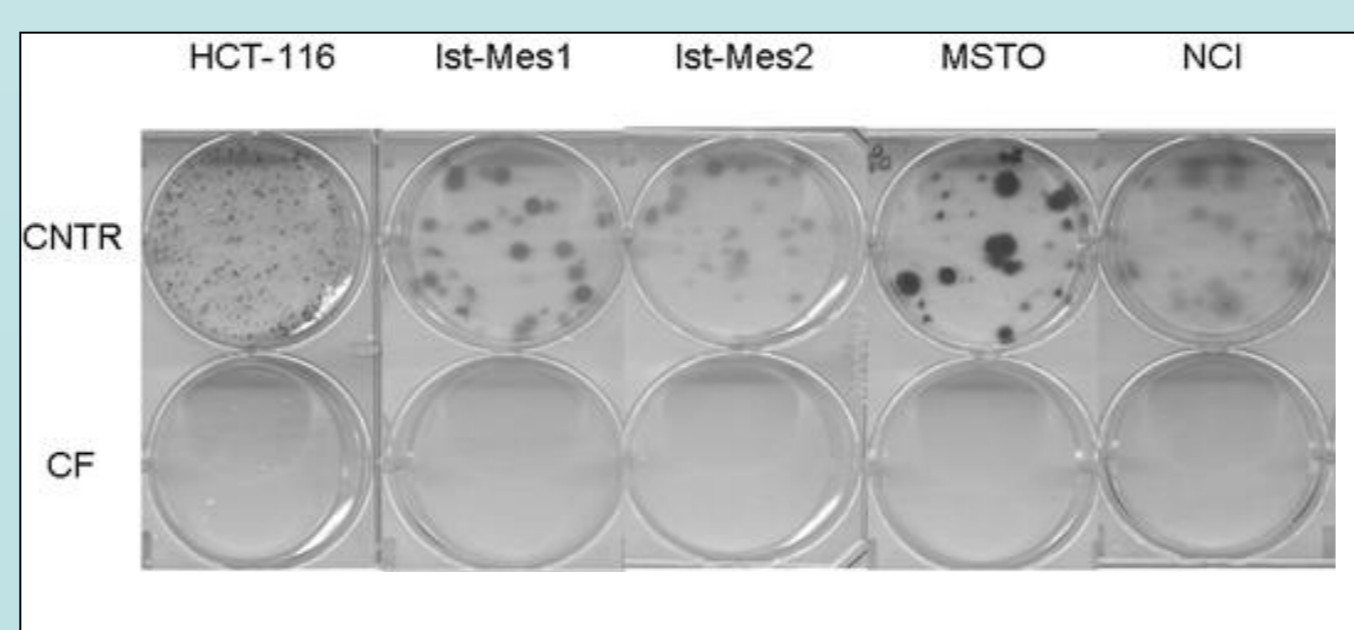


Figura 8: Inibizione della formazione di colonie in diverse linee tumorali dopo 10-14 giorni dalla supplementazione con CF rispetto a cellule non trattate (valutazione mediante test clonogenico).

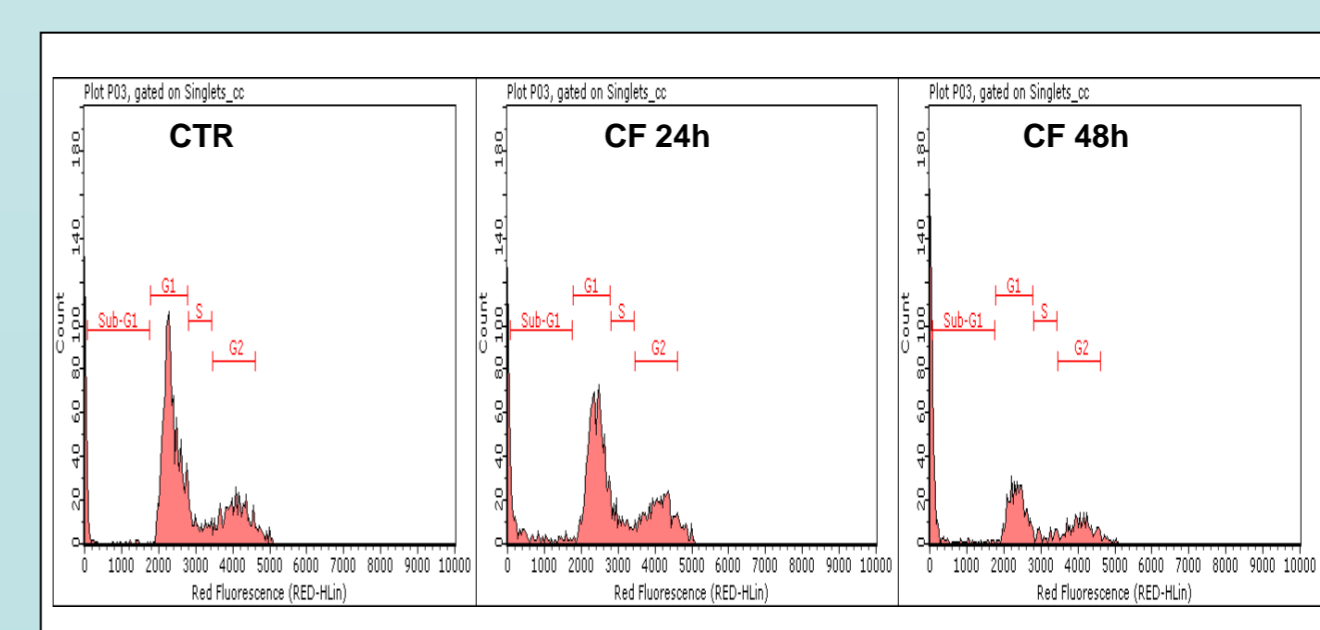


Figura 9: Analisi del ciclo cellulare nella linea di mesotelioma MSTO dopo 24 e 48 ore di supplementazione con CF rispetto a cellule non trattate (valutazione mediante citofluorimetro).

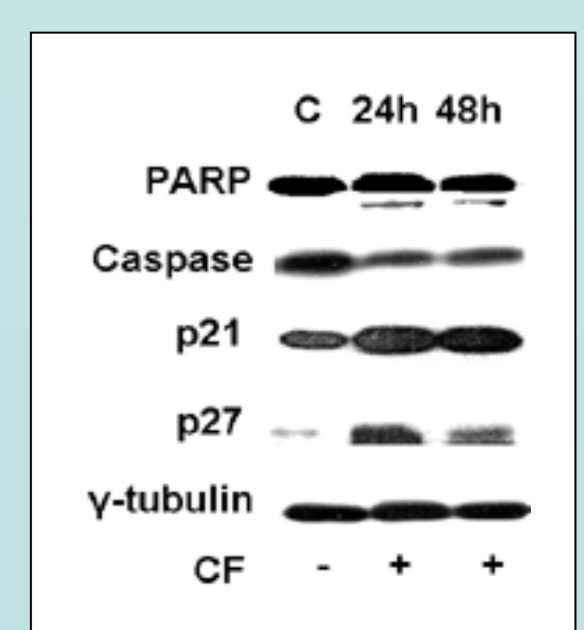


Figura 10: Espressione di proteine pro-apoptiche dopo 24 e 48 di trattamento con CF.

## CONCLUSIONI

La modulazione dei meccanismi apoptotici e del metabolismo cellulare da parte di composti nutraceutici può fornire nuove opportunità nella prevenzione e nel trattamento dei tumori. Il nutraceutico Cellfood™ è capace di inibire la crescita di cellule tumorali in coltura alterandone il metabolismo cellulare e inducendo apoptosi. Grazie alle sue proprietà antiossidanti e pro-apoptiche, CF può essere un utile strumento nella prevenzione del cancro e può apportare benefici clinici in associazione con le terapie antineoplastiche standard.