

COINVOLGIMENTO DELL'ASSE AMPK/SIRT-1 NELL'EFFETTO ANTIINFIAMMATORIO DI UN ESTRATTO DEL SUCCO DI CITRUS BERGAMIA RICCO IN FLAVONOIDI: UNO STUDIO IN SILICO, CELL-FREE ED IN VITRO

Maugeri A., Ferlazzo N., Cirimi S., Lombardo GE., Gitto R., De Luca L., Navarra M.

Chibiofarm, University of messina, Messina, Italy

Numerosi studi hanno dimostrato che i flavonoidi, metaboliti secondari di origine vegetale, possiedono importanti proprietà biologiche ed inducono rilevanti effetti farmacologici, alcuni dei quali sono anche sfruttati in terapia.

Recentemente, il succo di *Citrus bergamia* (bergamotto), pianta endemica del territorio calabrese, ha attirato l'attenzione della comunità scientifica per la sua attività ipolipidemizzante, antiossidante, antinfiammatoria ed anticancerogena. Inoltre, uno studio condotto dal nostro gruppo di ricerca ha suggerito che l'effetto antiinfiammatorio di un estratto del succo di bergamotto ricco in flavonoidi (BJe) è mediato dall'attivazione enzimatica di SIRT-1 (Risitano et al., 2014).

SIRT-1 è una deacetilasi istonica (HDAC) appartenente alla famiglia delle sirtuine umane, coinvolta in numerosi processi fisio-patologici come il metabolismo cellulare, l'infiammazione, l'immunità e l'oncogenesi. Inoltre, numerose evidenze scientifiche hanno dimostrato che AMPK, una chinasi importante per l'omeostasi energetica nella cellula, gioca un ruolo importante nell'attivazione di questa sirtuina.

Sulla base di queste osservazioni, la nostra attenzione si è focalizzata sul ruolo di SIRT-1 nell'effetto antinfiammatorio del BJe in cellule THP-1 esposte a lipopolisaccaride batterico (LPS), utilizzando tecniche computazionali (*in silico*), modelli abiotici ed *in vitro*.

L'analisi dei risultati del docking molecolare mostra che i flavonoidi quantitativamente più rappresentativi del BJe (neoesperidina, NHP; naringina, NRG; neoeriocitrina, NER; esperetina HSP; naringenina, NAR) sono in grado di interagire direttamente con l'enzima SIRT-1 in due siti allosterici differenti, il dominio di legame degli attivatori e quello degli inibitori. In particolare NAR e HSP interagiscono meglio con il sito degli inibitori, mentre i tre flavonoidi glicosilati (NHP, NRG, NER) sembrano avere un'affinità maggiore verso il sito allosterico degli attivatori. Allo scopo di meglio chiarire il loro ruolo di attivatori o inibitori, l'attività di questi flavonoidi è stata valutata in un modello *cell-free*, impiegando l'enzima ricombinante isolato. I risultati di questi studi indicano che il pool di flavonoidi presenti nel BJe, così come i singoli composti, inibiscono SIRT-1, seppur con efficacia differente.

Allo scopo di chiarire il conflittuale comportamento del BJe che abbiamo osservato nel modello *in silico* e nei saggi abiotici rispetto a quanto precedentemente riscontrato in Risitano et al., (2014), in una terza fase dello studio abbiamo utilizzato questo stesso modello sperimentale (Risitano et al., 2014) per valutare il ruolo dei flavonoidi nell'attivazione/inibizione di SIRT1.

Il trattamento delle cellule THP-1 con LPS 0.5 ng/ml per 3 h riduce l'attività di SIRT-1 in maniera statisticamente significativa, effetto che, però, viene annullato dalla pre-incubazione (30 min) con BJe o i suoi singoli componenti, indicando che nell'ambiente cellulare, questi composti attivano SIRT-1 indirettamente. Questi dati sono stati confermati da analisi real-time PCR. L'impiego di attivatori (5-amminoimidazol-4-carbossammide ribonucleotide; AICAR) ed inibitori (dorsomorfina) di AMPK, ci ha permesso di mettere in luce il coinvolgimento di questo enzima nell'attivazione di SIRT-1 indotta dal BJe e dai suoi principali componenti, in questo modello sperimentale.

In conclusione, i risultati del nostro studio indicano che BJe, al pari di NHP, NRG, NER, HSP e NAR, sono in grado di attivare o inibire SIRT-1 a seconda del modello sperimentale utilizzato, e che nella cellula intera, la loro azione è mediata dall'attivazione di AMPK. Il nostro studio suggerisce un possibile impiego del BJe e dei suoi principali costituenti nel trattamento di patologie in cui è implicato l'asse AMPK/SIRT-1.

Bibliografia

Risitano R, Currò M, Cirimi S, Ferlazzo N, Campiglia P, Caccamo D, Ientile R, Navarra M. Flavonoid fraction of Bergamot juice reduces LPS-induced inflammatory response through SIRT1-mediated NF- κ B inhibition in THP-1 monocytes. PLoS ONE. 2014;9(9):e107431.