



# NPT NUOVE PROSPETTIVE IN TERAPIA

**Comitato Scientifico:** Aulisa L, Bizzi B, Caione P, Calisti A, Chiozza ML, Cittadini A, Ferrara P, Formica MM, Ottaviano S, Pignataro L, Pitzus F, Pretolani E, Riccardi R, Salvatore S, Savi L, Sternieri E, Tortorolo G, Viceconte G  
Registro del Tribunale di Roma n. 337 dell'1/6/1991 · Poste Italiane S.p.A. - Spedizione in A.P. 70% - Roma  
Periodicità semestrale · ©2014 Mediprint S.r.l. a socio unico

## **Effetto antinfiammatorio del glicerofosfoinositolo su cheratinociti umani immortalizzati**

**T. Sisto, G. Calviello, S. Serini, L. Celleno**

*Università Cattolica, Roma  
Centro di Ricerca sulle Biotecnologie Applicate alla Cosmetologia (CRBAC)*

**NPT** NUOVE  
PROSPETTIVE  
IN TERAPIA

Anno XXIV - n. 00/2014 - mese-mese  
Reg. del Trib. di Roma n. 337 del 1/6/1991  
Poste Italiane S.p.A - Spedizione in A.P. 70% - Roma  
Pubblicazione semestrale

©2014 **MEDI**PRINT S.r.l. a socio unico - Cod. 28/14  
Direttore Editoriale: Antonio Guastella  
Via Cossignano, 26-28 - 00138 Roma  
tel. 06.8845351-2 - fax 06.8845354  
mediprint@mediprint.it • www.mediprint.it

Tutti i diritti sono riservati. Nessuna parte può essere riprodotta in  
alcun modo (comprese fotocopie), senza il permesso scritto dell'editore.

Condizioni di abbonamento anno 2014: € 22,00

Gli abbonamenti non disdetti entro il 31 dicembre di ogni anno si intendono tacitamente  
rinnovati per l'anno successivo.

Stampa: CSC Grafica Srl  
Via A. Meucci, 28 - 00012 Guidonia (RM)

Estratto finito di stampare nel mese di **marzo** 2014

## Effetto antinfiammatorio del glicerofosfoinositolo su cheratinociti umani immortalizzati

### Introduzione

Il glicerofosfoinositolo (GPI) sale di colina è un innovativo principio attivo di origine vegetale coperto da brevetto internazionale. La colina è un precursore della sintesi della fosfatidilcolina e della sfingomielina, a sua volta precursore della formazione delle ceramidi.

Il GPI è un precursore della sintesi dei fosfolipidi delle membrane cellulari. Legandosi agli acidi grassi, in particolare all'acido arachidonico (AA) in posizione 2, genera il fosfatidilinositolo. L'AA è un precursore della sintesi di importanti mediatori dell'infiammazione; il suo legame al GPI determina, quindi, un effetto antinfiammatorio.

Scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'azione antinfiammatoria del GPI in vitro, utilizzando un modello cellulare appropriato, attraverso l'analisi della modulazione della produzione cellulare di due citochine pro-infiammatorie MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) e IL-6 (Interleuchina-6), sia in condizioni basali che in seguito a stimolo pro-infiammatorio (trattamento con citochina TNF- $\alpha$ ).

### Materiali e metodi

L'efficacia antinfiammatoria del GPI sale di colina (soluzione acquosa al 10%, fornita da Valetudo srl - Divisione Biogena), è stata valutata in una linea di cheratinociti umani immortalizzati HaCaT. Le cellule sono state mantenute in terreno DMEM contenente glutammina (2 mM), antibiotici (100 U/ml penicillina e 100  $\mu$ g/ml streptomycina) e siero fetale bovino (10%) e sono state seminate alla densità di 5.000 cellule/pozzetto in piastre multi-well da 96 pozzetti.

Al raggiungimento della confluenza il terreno di coltura è stato rimosso e rimpiazzato con terreno fresco contenente il GPI a concentrazioni crescenti (0; 0,5; 1; 2 e 4 mg/ml), in presenza o in assenza della citochina pro-infiammatoria TNF- $\alpha$  (20 ng/ml). Dopo 24 ore di trattamento (6 ore di pretrattamento con TNF- $\alpha$  e ulteriori 16 ore di trattamento con il GPI), il sovrantante è sta-

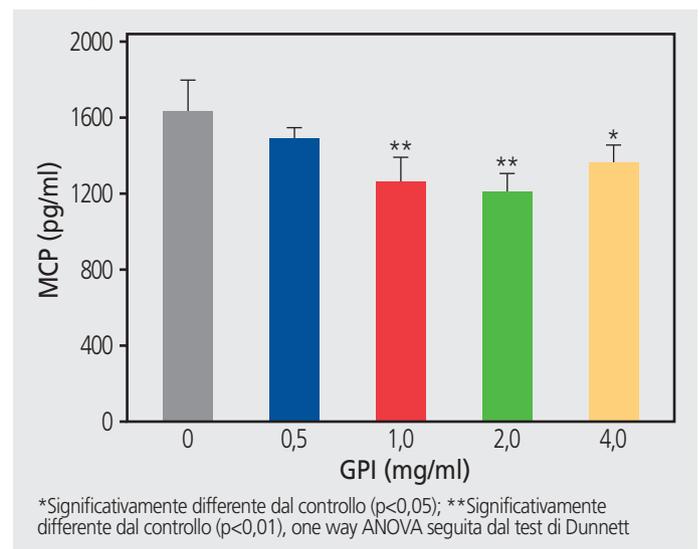
to prelevato e conservato a -20°C fino al momento della valutazione (effettuata non oltre 7 giorni). Abbiamo verificato, mediante esperimenti preliminari, che il GPI alle concentrazioni utilizzate nel presente studio non inducesse effetti citotossici sulle cellule (metodo di esclusione del Trypan blue). Infatti la vitalità risultava sempre superiore al 98% (dati non mostrati).

L'efficacia antinfiammatoria del composto in esame è stata valutata misurando la secrezione, da parte delle cellule HaCaT, nel terreno di coltura delle due citochine pro-infiammatorie: MCP-1 e l'IL-6, tramite un dosaggio immuno-enzimatico (ELISA), utilizzando kit commerciali (Biolegend). L'analisi statistica dei dati ottenuti è stata effettuata utilizzando il software GraphPadInStat 3.

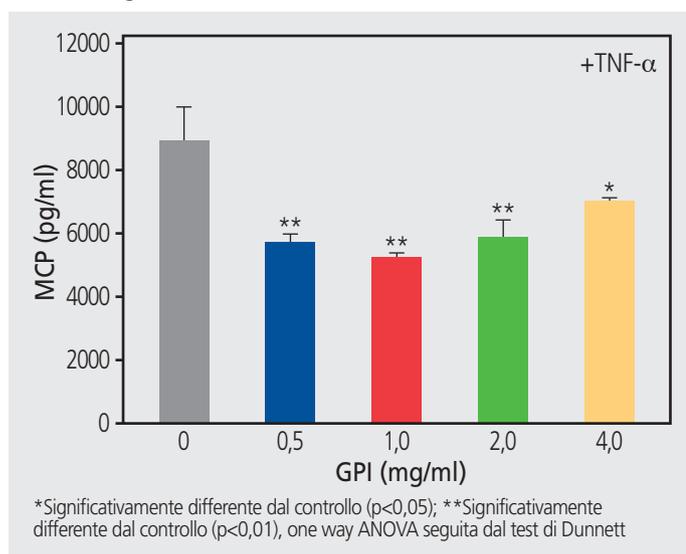
### Risultati

I risultati ottenuti hanno dimostrato che il GPI è in grado di inibire significativamente la produzione di MCP-1 sia in condizioni basali che dopo stimolazione con

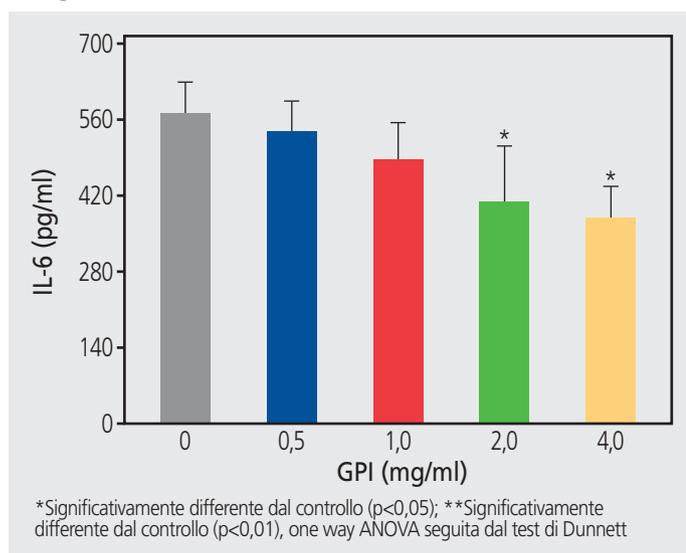
**Figura 1.** Inibizione della produzione della citochina MCP-1 nei cheratinociti HaCaT da parte del GPI. Le cellule sono state trattate per 24 ore con GPI a concentrazioni crescenti in assenza di 20 ng/ml TNF- $\alpha$ .



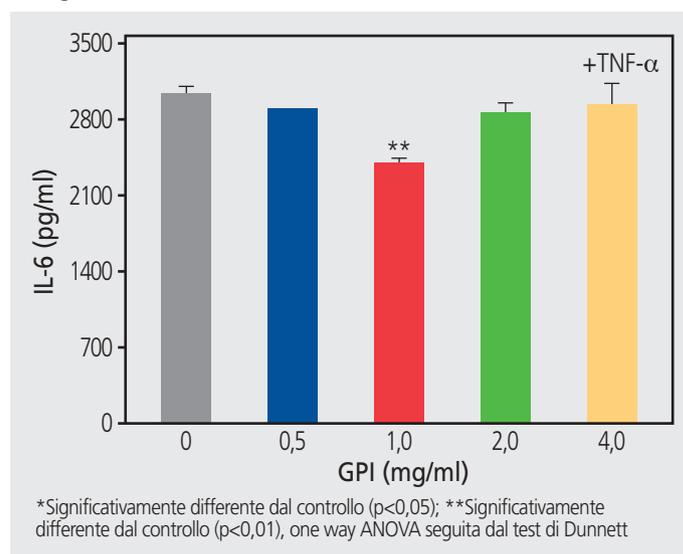
**Figura 2.** Inibizione della produzione della citochina MCP-1 nei cheratinociti HaCaT da parte del GPI. Le cellule sono state trattate per 24 ore con GPI a concentrazioni crescenti in presenza di 20 ng/ml TNF- $\alpha$ .



**Figura 3.** Inibizione della produzione della citochina IL-6 nei cheratinociti HaCaT da parte del GPI. Le cellule sono state trattate per 24 ore con GPI a concentrazioni crescenti in assenza di 20 ng/ml TNF- $\alpha$ .



**Figura 4.** Inibizione della produzione della citochina IL-6 nei cheratinociti HaCaT da parte del GPI. Le cellule sono state trattate per 24 ore con GPI a concentrazioni crescenti in presenza di 20 ng/ml TNF- $\alpha$ .



TNF- $\alpha$  a tutte le concentrazioni utilizzate (Figg. 1,2). Un effetto inibente è stato osservato anche sulla produzione di IL-6, in condizioni basali e utilizzando le concentrazioni più alte (2 e 4 mg/ml), anche se in misura minore (Figg. 3,4).

In condizioni pro-infiammatorie (in presenza di TNF- $\alpha$ ), solo la concentrazione pari a 1 mg/ml era in grado di inibire, in maniera significativa, la produzione di questa citochina nel modello cellulare utilizzato.

## Discussione

Il GPI sale di colina è un innovativo principio attivo di origine vegetale, purificato dalla lecitina di girasole, con copertura brevettuale internazionale (1); è un derivato semisintetico di un componente fisiologico, il GPI, appartenente a una famiglia di composti capaci di modulare e regolare negativamente l'attivazione dell'enzima fosfolipasi A2 citosolica (cPLA2). Tale enzima

è il maggior responsabile del rilascio di AA, precursore dei principali mediatori chimici pro- infiammatori, come prostaglandine, trombossani e leucotrieni, in grado di attivare e alimentare i processi cellulari flogistici e il danno tissutale (2).

Grazie alle sue proprietà antinfiammatorie il GPI sale di colina, in associazione all'estratto di Perilla, è stato utilizzato nel trattamento della dermatite atopica, dimostrando un'ottima tollerabilità e una buona azione lenitiva (3). Il GPI ha, inoltre, mostrato un effetto protettivo nei confronti dell'eritema cutaneo indotto da radiazioni UVB in volontari sani, con un effetto lenitivo dose-dipendente ed efficacia paragonabile a una formulazione a base di un cortisonico di media potenza (4).

L'applicazione di preparazioni topiche a base di GPI, studiate rispettivamente su soggetti affetti da dermatite seborroica e psoriasi (5) e dermatite allergica e irritativa, psoriasi, ittiosi volgare e dermatite da stasi degli arti inferiori (6), ne hanno confermato la capacità di controllo dei sintomi infiammatori, quali rossore, prurito e desquamazione cutanea.

Le proprietà dimostrate dal GPI, a livello cutaneo, rendono ragione di un'azione a più ampio spettro, che comprende, tra l'altro, il controllo della proliferazione delle cellule tiroidee e l'organizzazione dell'actina del citoscheletro di fibroblasti e linfociti (7). Recentemente è emerso che anche le cellule immunitarie sono target dell'attività biologica del GPI, in particolare i linfociti T, e che il GPI è prodotto dai macrofagi in risposta a stimoli proinfiammatori (8). In aggiunta a queste funzioni il GPI ha mostrato capacità antime-tastatiche (9).

L'inibizione della produzione di MCP-1 e IL-6, da noi documentata, convalida l'effetto antinfiammatorio del GPI evidenziato nei precedenti studi condotti a livello cutaneo. Queste due citochine, infatti, sono maggiormente espresse nel corso di patologie infiammatorie croniche della cute, come la psoriasi: la MCP-1 è in grado di attivare la migrazione tissutale dei monociti circolanti nei siti d'infiammazione e l'IL-6 stimola l'abnorme proliferazione e differenziazione cheratinocitaria e induce la sintesi delle proteine della fase acuta.

Grazie allo specifico meccanismo d'azione, il GPI sale di colina risulta un ingrediente valido per il controllo dei sintomi di alterazioni dermatologiche a base infiammatoria, quali eritema, prurito e desquamazione. Poiché si tratta prevalentemente di affezioni croniche, il suo utilizzo, in sostituzione o in associazione a cortisonici topici, consentirebbe di ridurre l'uso del farmaco topico, evitando o limitando l'insorgenza di effetti collaterali ad esso correlati.

## Conclusioni

Alla luce dei presenti risultati l'utilizzo del GPI sale di colina, quale principio attivo di preparazioni topiche, appare molto indicato per prodotti volti a mantenere il benessere della cute e a prevenire e/o attenuare patologie cutanee con una più o meno spiccata componente flogistica. Il suo impiego può essere proposto sia nel trattamento delle dermatosi lievi, sia nella fase di mantenimento di patologie più rilevanti, quali la dermatite atopica e la psoriasi.

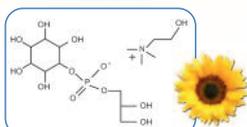
## Bibliografia

1. Corda D, Dal Toso R, Bonvento G, Marcolongo G, Dal Monte R. Glycerophosphoinositol derivatives as modulators of cytosolic A2 phospholipase. 2005 EP 1 332 149 B1.
2. Amandi-Burgermeister E, Tibes U, Kaiser BM, Friebe WG, Scheuer Wv. Suppression of cytokine synthesis, integrin expression and chronic inflammation by inhibitors of cytosolic phospholipase A2. *Eur J Pharmacol* 1997;326(2-3):237-250.
3. Celleno L. Valutazione in laboratorio di un coadiuvante cosmetico ad attività lenitiva per la dermatite atopica. *Med Space* 2011;(Suppl. X IV-III):1-11.
4. Dal Toso R, Melandri F, Copetti S. Sali di glicerofosfoinositolo. Un'alternativa cosmetica ai cortisonici topici. Parte I. Eritema cutaneo. *Cosmetic Technol* 2012;15(2):25-29.
5. Dal Toso R, Melandri F, Copetti S. Sali di glicerofosfoinositolo. Un'alternativa cosmetica ai cortisonici topici. Parte 2. Dermatite seborroica e psoriasi. *Cosmetic Technol* 2012;15(4):17-21.
6. Motolese A, Simonelli M. Effetti del glicerofosfoinositolo sale di colina crema 1% in pazienti affetti da dermatiti infiammatorie e allergiche di grado lieve-moderato. *Esperienze Dermatol* 2008;10(3):135-140.
7. Corda D, Zizza P, Varone A, Bruzik, Mariggì S. The glycerophosphoinositols and their cellular functions. *Biochem Soc Trans* 2012;40(1):101-107.
8. Patrussi L, Mariggì S, Corda D, Baldari CT. The glycerophosphoinositols: from lipid metabolites to modulators of T-cell signaling. *Front Immunol* 2013;4:213-219.
9. Buccione R, Baldassarre M, Trapani V et al. Glycerophosphoinositols inhibit the ability of tumour cells to invade the extracellular matrix. *Eur J Cancer* 2005;41(3):470-476.



**IL PRIMO TRATTAMENTO COADIUVANTE PROATTIVO**  
che agisce su entrambi i fattori della Dermatite Atopica

Per agire contro arrossamenti e prurito  
Per promuovere e mantenere l'integrità cutanea



Glicerofosfositolato (GPI)



**osmin  
TOP**  
UNGUENTO



**osmin  
TOP**  
CREMA



**osmin  
TOP**  
GEL DETERGENTE

