
MINERVA

MEDICA

V O L . 1 0 1 · S U P P L . 2 · N . 6 · D I C E M B R E 2 0 1 0

EFFETTI ANTI-INFIAMMATORI ED ANTI-OSSIDANTI DEI BIOFLAVONOIDI E DEI POLIFENOLI: L'ESEMPIO DELLA CURCUMINA

G. ORLANDO, P. DI COCCO, F. PISANI, A. FAMULARI, S. BENGMARK



E D I Z I O N I · M I N E R V A · M E D I C A

PUBBLICAZIONE PERIODICA BIMESTRALE - POSTE ITALIANE S.P.A. - SPED. IN A. P.D.L. 353/2003 (CONV. IN L. 27/02/2004 N° 46) ART. 1, COMMA 1, DCB/CN - ISSN 0026-4806 TAXE PERÇUE

MINERVA MEDICA

RIVISTA BIMESTRALE DI MEDICINA INTERNA,
INIZIATA NEL 1909 E RISORTA NEL 1921 A CURA DI GUGLIELMO OLIARO
ALBO D'ONORE: E. G. OLIARO, A. CECONI
F. MICHELI, O. UFFREDUZZI, A. M. DOGLIOTTI, T. OLIARO

CONSIGLIO DIRETTIVO

P. Arcangeli - F. Balsano - P. Boyle - G. Clemenzia - N. Dioguardi - G. Gasbarrini - P. Larizza - B. Magnani - M. Martelli
W. Montorsi - F. Rossi - G. Rotondo

EDITORIAL BOARD

H. E. Blum (Freiburg, Germany) - P. Boyle (Milan, Italy) - J. M. Delehanty (Rochester, USA)
A. Di Bisceglie (St. Louis, USA) - J. T. Grayhack (Chicago, USA) - S. T. Holgate (Southampton, UK)
D. R. Jr. Holmes (Rochester, USA) - A. Jörres (Berlin, Germany) - J. H. Lazarus (Cardiff, UK) - J. Marsh (London, UK)
E. E. Vokes (Chicago, USA)

REDATTORI

R. Bonardi - L. Bussi - G. Cariti - E. Concina - G. De Dominicis - P. A. Giudice - R. Pellicano - M. Porta - L. Premuda
M. Rapellino - G. Recchia - S. Rocchietta - M. L. Soranzo - W. Torretta

CORRISPONDENTI

F. Bianchi - A. Cerami - V. Fabbrocini - L. Luciani - A. Monti - R. Morgante
U. A. Pini - N. Simonetti - F. Tursi - V. Tursi

REDATTORE CAPO

M. L. Benzo

DIRETTORE RESPONSABILE

A. Oliaro



This journal is PEER REVIEWED and is indexed by Current Contents, Excerpta Medica/EMBASE, Index Medicus/MEDLINE, Science Citation Index Expanded/SciSearch

Direzione, redazione, ufficio grafico, ufficio pubblicità, fotocomposizione, amministrazione - Edizioni Minerva Medica - Corso Bramante 83-85 - 10126 Torino
Tel. (011) 67.82.82 - Fax (011) 67.45.02 - E-mail: minervamedica@minervamedica.it

Web Site: www.minervamedica.it

Stampa - Edizioni Minerva Medica - Tipografia di Saluzzo - Corso IV Novembre 29-31 - 12037 Saluzzo (CN) - Tel. (0175) 249405 - Fax (0175) 249407

Abbonamento annuo:

Italia - *Individuale*: Cartaceo € 100,00, Cartaceo+Online € 105,00; *Istituzionale*: Cartaceo € 135,00, Online (Small € 245,00, Medium € 275,00, Large € 320,00, Extra Large € 335,00), Cartaceo+Online (Small € 255,00, Medium € 290,00, Large € 335,00, Extra Large € 350,00); il fascicolo € 25,00.

Unione Europea - *Individuale*: Cartaceo € 175,00, Cartaceo+Online € 185,00; *Istituzionale*: Cartaceo € 240,00, Online (Small € 245,00, Medium € 275,00, Large € 320,00, Extra Large € 335,00), Cartaceo+Online (Small € 255,00, Medium € 290,00, Large € 335,00, Extra Large € 350,00); il fascicolo € 45,00.

Paesi extraeuropei - *Individuale*: Cartaceo € 195,00, Cartaceo+Online € 205,00; *Istituzionale*: Cartaceo € 265,00, Online (Small € 270,00, Medium € 305,00, Large € 355,00, Extra Large € 370,00), Cartaceo+Online (Small € 280,00, Medium € 320,00, Large € 370,00, Extra Large € 385,00); il fascicolo € 50,00.

Gli abbonati possono utilizzare le seguenti forme di pagamento: a) assegno bancario; b) bonifico bancario a: Edizioni Minerva Medica, INTESA SANPAOLO Agenzia n. 18 Torino. IBAN: IT45 K030 6909 2191 0000 0002 917 c) conto corrente postale 00279109 intestato a Edizioni Minerva Medica, Corso Bramante 83-85, 10126 Torino; d) carte di credito Diners Club International, Master Card, VISA, American Express

I cambi di indirizzo di spedizione, e-mail o di qualsiasi altro dato di abbonamento vanno segnalati tempestivamente inviando i nuovi e vecchi dati per posta, fax, e-mail o direttamente sul sito www.minervamedica.it alla sezione "I tuoi abbonamenti - Contatta ufficio abbonamenti".

I reclami per i fascicoli mancanti devono pervenire entro 6 mesi dalla data di pubblicazione del fascicolo.

I prezzi dei fascicoli e delle annate arretrati sono disponibili su richiesta.

© Edizioni Minerva Medica - Torino 2010

Tutti i diritti sono riservati. Nessuna parte di questa pubblicazione può essere riprodotta, trasmessa e memorizzata in qualsiasi forma e con qualsiasi mezzo. Pubblicazione bimestrale. Autorizzazione del Tribunale di Torino n. 274 del 30-6-1948. Iscrizione nel registro nazionale della stampa di cui alla legge 5-8-1981 n. 416 art. 11 con il numero 00 148 vol. 2 foglio 377 in data 18-8-1982. Pubblicazione periodica bimestrale - Poste Italiane S.p.A. - Sped. in a.p. - D. L. 353/2003 (conv. in L. 27/02/2004 N° 46) art. 1, comma 1, DCB/CN

Associata a



La Rivista aderisce al Codice di Autodisciplina degli Editori Medico Scientifici, associata a FARMAMEDIA e può essere oggetto di pianificazione pubblicitaria

Associata a

A.N.E.S.

Associazione Nazionale Editoria Specializzata

Effetti anti-infiammatori e anti-ossidanti dei bioflavonoidi e dei polifenoli: l'esempio della curcumina

G. ORLANDO ¹, P. DI COCCO ², F. PISANI ², A. FAMULARI ², S. BENGMARK ³

ANTI-INFLAMMATORY AND ANTI-OXIDANT EFFECT OF BIOFLAVONOIDS AND POLYPHENOLS: CURCUMIN

This review illustrates current knowledge about the effects of curcumin, a potent antioxidant and inhibitor of cyclooxygenase-2 (COX-2), lipoxygenase-5 (LOX), nuclear factor κ -B (NF- κ B), and AGE and ALE receptors. Despite the wealth of experimental evidence for the effectiveness of curcumin, the paucity of data from human studies does not yet allow for definitive conclusions. Administration of curcumin and its derivatives appears to enhance the effect of standard drug therapy in diseases such as Crohn's disease, cancer, hepatic cirrhosis, chronic obstructive pulmonary disease, diabetes mellitus, and Alzheimer's disease, as well as in the management of long-term hospitalized or intensive care patients.

Key words: **Flavonoids - Phenols - Curcumin.**

Corpus

Epidemia di malattie croniche

La medicina moderna non è in grado di controllare adeguatamente le malattie acute e croniche (MC). Nel caso di patologie acute come l'infarto miocardico, l'ictus cerebri e la pancreatite acuta, i tassi di mortalità e morbilità sono ancora inaccettabilmente elevati. Inoltre, il mondo è afflitto da un'epi-

demia di MC come mai prima nella storia dell'umanità, soprattutto nei paesi in via di sviluppo. Le malattie cardiovascolari, respiratorie o neurodegenerative, il diabete, l'ictus e le neoplasie, sono responsabili del 46% dei ricoveri e costituiscono la causa del 59% dei decessi. Circa 35 milioni di individui muoiono ogni anno per cause correlate alle MC, e tale numero è in progressivo e costante aumento ¹. La morbilità correlata ai trattamenti altamente specializzati e alle emergenze medico-chirurgiche mostra altresì un incremento significativo, soprattutto sotto forma di complicanze infettive. La sepsi rappresenta la più frequente complicanza delle terapie mediche e chirurgiche, e la decima causa di morte nel mondo occidentale. Negli Stati Uniti, per esempio, si registrano 751000 casi di sepsi l'anno, responsabili di 215000 decessi (corrispondenti al 29% delle morti totali) ^{2,3}. Un motivo di preoccupazione è il dato secondo cui la mortalità e la morbilità dei

¹Department of Surgery
University of Oxford, Oxford, UK

²Cattedra di Chirurgia Sostitutiva
e dei Trapianti d'Organo
Dipartimento di Chirurgia

Università di L'Aquila, L'Aquila

³Institute of Hepatology, University College
London Medical School, London, UK

Autore di contatto: S. Bengmark, MD, 185 Barrier Point Road, Royal Docks, London E16 2SE, Regno Unito. E-mail: s.bengmark@ucl.ac.uk

pazienti critici e/o settici, sta aumentando rapidamente, con un incremento annuo dell'1,5%, destinato — sembra — a raddoppiare nei prossimi 50-60 anni.

Malattie legate allo stile di vita

Lo stile di vita incide sullo sviluppo delle MC. Stress, sedentarietà, tabagismo, etilismo, consumo di alimenti raffinati, ipercalorici e trattati ad alte temperature, nonché di latticini non freschi, zuccheri raffinati e derivati dell'amido, sono tutti fattori favorevoli le MC, alla cui insorgenza contribuisce anche il ridotto apporto di fibre e antiossidanti derivati da piante. Si stima, infatti, che il consumo pro-capite di zuccheri raffinati sia aumentato da 0,5 kg persona/anno del 1850, a quasi 50 kg persona/anno del 2000, e che la produzione di latte per ogni singola mucca sia passata da 2 a 50 litri/*die*. I latticini, e in particolar modo il latte munto da mucche incinte, sono ricchi in sostanze proinfiammatorie, quali gli estrogeni e i fattori di crescita come il fattore di crescita insulino-simile. Il consumo di latte bovino determina il rilascio di mediatori dell'infiammazione, l'aumento della permeabilità intestinale, e la perdita di albumina e acido ialuronico. La pastorizzazione del latte e soprattutto la produzione e conservazione del latte in polvere, generano una grande quantità di (*advanced glycation end-product*, AGE) e (*advanced lipid peroxidation end products*, ALE) ⁴. Questi dati sono di grande importanza, poiché alimenti quali i gelati, le soluzioni per nutrizione enterale e le formulazioni per bambini si basano sul latte in polvere. Anche il pane, soprattutto quello prodotto a partire da farina contenente glutine, è ricco in molecole con documentata attività proinfiammatoria; non a caso, la crosta di pane è utilizzata in laboratorio per indurre l'infiammazione ⁵⁻⁷.

Effetto protettivo delle piante

Le MC sono sottese da uno stato subinfiammatorio, determinato dallo stile di vita occidentale. Ormai sappiamo che le sostanze derivanti dalle piante esercitano un'azione antinfiammatoria molto efficace detta chemopreventiva, sono poco costose e facilmente reperibili, e posseggono una tossicità

minima o nulla. I fenoli, i curcumenoidi e molte altre sostanze più o meno caratterizzate, sono in grado di rallentare i processi che determinano l'invecchiamento cellulare e di prevenire le alterazioni degenerative degli organi, azioni che — in ultima analisi — proteggono dall'insorgenza delle MC e/o ne rallentano la progressione.

Questa review tratterà della CU (o 1,7-bis[4-idrossi-3-metossifenolo]-1,6-eptadiene-3,5-dione) e dei suoi effetti. Sebbene conosciuta da secoli, solo recentemente è stata rivalutata, parallelamente alla preoccupazione generata dai pesanti effetti collaterali degli inibitori della COX-2 (farmaci antinfiammatori non-steroidi). La maggior parte degli studi sulla CU consultabili in letteratura sono di natura sperimentale, mentre le applicazioni cliniche sono state sporadiche.

La CU – un potente antiossidante e inibitore di NF-κB, COX-2, LOX e ossido nitricosintetasi inducibile (iNOS)

L'NF-κB è una proteina complessa che gioca un ruolo chiave in molti processi di trascrizione del segnale coinvolti nella genesi di MC quali l'asma bronchiale e l'artrite, nonché di alcuni tumori ^{8,9}. L'attivazione dell'NF-κB è coinvolta nelle diverse fasi della morte cellulare programmata di tipo apoptotico; a seconda del tipo di cellula e dello stadio del ciclo cellulare, esso può contribuire all'induzione o all'inibizione dell'apoptosi. L'NF-κB regola l'espressione di geni quali la COX-2, la metalloproteinasi-9 della matrice (MMP-9), l'iNOS, il fattore di necrosi tumorale, l'interleuchina-8, l'eotassina, le molecole di adesione presenti sulla superficie cellulare e le proteine anti-apoptotiche ¹⁰. La COX-2 è un enzima inducibile, difficilmente dosabile in condizioni fisiologiche, ma la cui concentrazione aumenta rapidamente – pur se in maniera transitoria in risposta a stimoli infiammatori e mitogeni, quali le citochine, le endotossine, i fattori di crescita, gli oncogeni e gli esteri forbolici. La COX-2 sintetizza le prostaglandine di serie 2 PGE₂ e PGF₂-α, coinvolte nella reazione infiammatoria, e responsabili della produzione di edema e

della generazione del dolore. La PGE2 inibisce la sintesi di interleuchina-12 (IL-12), mentre stimola quella di interleuchina-10, una potente citochina ad azione immunosoppressiva prodotta da linfociti e macrofagi¹¹. L'iNOS viene attivata dall'NF- κ B e agisce in sinergia con la COX-2 come mediatore dell'infiammazione.

I turmerici - approvati come additivi alimentari

La CU un PF presente in gran quantità nel turmerico viene estratta dai rizomi essiccati di una pianta perenne, la *Curcuma longa* Linn, membro della famiglia dello zenzero. Il turmerico è principalmente conosciuto per la sua capacità di conservazione degli alimenti e, pertanto, è impiegato come additivo alimentare nei paesi occidentali. Viene prodotto in diversi paesi asiatici e sudamericani, laddove è stato usato nel corso dei secoli anche dalla medicina tradizionale, nel trattamento di diverse affezioni a carattere infiammatorio quali l'artrite, le coliti e le epatiti. Solo in India, se ne producono ogni anno circa 500000 tonnellate, delle quali circa la metà è destinata all'esportazione.

La molecola della CU ricorda quella degli ubiquinoli e di altri fenoli, sostanze con riconosciute proprietà antiossidanti. Quando somministrata *per os*, la sua biodisponibilità è bassa, ma può essere aumentata sciogliendola in solventi ambivalenti (glicerolo, etanolo, dimetilsolfossido)¹². Inoltre, la contemporanea ingestione di peperina (presente nel pepe nero) consente un incremento significativo del suo assorbimento¹³. Diversi studi riportano assenza di tossicità, anche quando sia somministrata a dosi molto alte^{14, 15}. Nell'uomo, la somministrazione di CU per 3 mesi, alla dose di 8 g/*die*, non ha prodotto effetti collaterali significativi¹⁵. Si calcola che gli indiani adulti consumino giornalmente da 80 a 200 mg di CU¹⁶. La dose terapeutica di CU è di 400-600 mg tre volte al giorno, corrispondente a più di 60 grammi di radice fresca di turmerico, e a circa 15 grammi di turmerico in polvere. Il contenuto di CU nel turmerico è solitamente del 4-5%.

Efficacia della CU contro l'infiammazione indotta dallo stress

La CU non è solo un efficace inibitore della COX-2 e della iNOS¹⁷, ma è anche un potente induttore delle *heat-shock proteins* e un citoprotettore^{18, 19}. La CU inibisce la COX-2, la LOX e i leucotrieni come il leucotriene B4 e l'acido-5-idrossieicosatetraenoico, soprattutto quando legata a micelle di fosfatidilcolina^{20, 21}. Inoltre, sembra sia in grado di inibire anche l'isoenzima citocromo P450 e quindi l'attivazione dei carcinogeni²². La CU ha la capacità di intercettare e neutralizzare due potenti agenti pro-ossidanti e carcinogeni, quali i radicali liberi (superossidi, radicali perossilici ed idrossilici) e l'ossido nitrico-sintetasi²³. Inoltre, poiché inibisce molto efficacemente il *transforming growth factor- β* e la fibrogenesi²⁴, potrebbe essere utilizzata nel trattamento della fibrosi renale e polmonare, nella cirrosi epatica, nella malattia di Crohn, nonché nella prevenzione dell'insorgenza di aderenze postoperatorie²⁵. Infine, tramite l'inibizione della sintesi di IL-12, la CU potrebbe risultare utile anche contro le malattie autoimmuni mediate dai linfociti Th1²⁶.

La CU, oltre a esercitare effetti benefici propri, è in grado di aumentare la biodisponibilità della vitamina E, nonché di ridurre il livello di colesterolo nel siero. Studi sperimentali hanno dimostrato che la CU aumenta la concentrazione di alfa-tocoferolo nei tessuti polmonari e diminuisce il tasso plasmatico di colesterolo²⁷⁻²⁹. I PF, gli isotiocianati come la CU, e i flavonoidi come il resveratrolo, in seguito a processi di digestione e fermentazione da parte della flora microbica residente nell'intestino, sono assorbiti dalle cellule intestinali e da altri tessuti dell'organismo³⁰.

La CU nel trattamento delle patologie acute e croniche

Aterosclerosi

L'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità (*low density lipoprotein*, LDL) gioca un

ruolo centrale nello sviluppo dell'aterosclerosi, e i prodotti dell'ossidazione delle LDL sono tossici per diversi tipi di cellule, incluse gli endotelioцити. La CU previene la perossidazione lipidica, stabilizza le membrane cellulari, e inibisce la proliferazione delle cellule muscolari lisce e l'aggregazione piastrinica. In uno studio in cui si è valutata la capacità di inibire le fasi di inizio e propagazione dell'ossidazione delle LDL di 4 sostanze considerate antiossidanti – l'idrossianisolo butilato, la CU, la quercetina e la capsaisina, la CU e la quercetina sono risultate, rispettivamente, la più e la meno efficace³¹. Nei ratti alimentati con diete ricche in colesterolo, la somministrazione di CU ma anche di capsaisina e allucina si è dimostrata in grado di prevenire l'aumento di colesterolo nelle membrane e l'incremento della fragilità degli eritrociti³². Altresì, nei conigli sottoposti a diete aterogene, la CU ha ridotto le lesioni aterosclerotiche precoci a carico dell'aorta toracica e addominale, aumentando nel contempo i livelli plasmatici di coenzima Q, retinolo e alfa-tocoferolo, e riducendo quelli delle LDL e delle HDL, segno di processo ossidativo in corso³³.

Cancro

Esistono più di 100 tipi di tumori, caratterizzati da una replicazione cellulare incontrollata, dall'invasione tissutale e dalla possibilità di originare ripetizioni a distanza³⁴. L'insorgenza dei tumori è favorita dall'esposizione ai carcinogeni, sostanze in grado di determinare un danno genetico potenzialmente irreversibile, se non riparato. Negli ultimi 50 anni, si è tentato di scoprire o sintetizzare molecole in grado di contrastare o prevenire tale fenomeno, definite chemiopreventive. Le neoplasie, in generale, sono meno frequenti nei cosiddetti paesi in via di sviluppo, in cui è minore l'esposizione ai cancerogeni ambientali, e maggiore l'apporto di agenti naturali chemiopreventivi. Per esempio, l'incidenza dei seguenti tumori negli USA è considerevolmente più alta rispetto all'India: cancro della prostata (23/100000), melanoma (maschi 14/100 000, femmine 9/100000), cancro coloretale (maschi

11/100 000, femmine 10/100000), cancro endometriale (9/100000), cancro del polmone (maschi 7/100000, femmine 17/100000), cancro della vescica (maschi 7/100000, femmine 8/100000), cancro della mammella (5/100000), cancro renale (maschi 9/100000, femmine 12/100000)³⁵. Bisogna notare che, non solo il consumo di cibi ricchi in zuccheri semplici e grassi saturi è inferiore nei paesi asiatici rispetto al mondo occidentale, ma anche il consumo di vegetali ad alto contenuto di sostanze chemiopreventive è significativamente più alto. Per esempio, nei paesi asiatici il consumo di CU è stato per secoli di circa 100 mg/die³⁶. *In vitro*, la CU è in grado di indurre l'apoptosi di diverse linee di cellule tumorali, sia primitive (mammella^{36, 37}, polmone³⁸, melanoma³⁹, mieloma⁴⁰, leucemia⁴¹, neuroblastoma⁴², mucosa orale⁴³ e prostata⁴⁴⁻⁴⁷), che secondarie (metastasi epatiche)⁴⁸. Eppure, a tutt'oggi, non sono ancora stati condotti trial controllati sull'applicazione clinica di tali evidenze sperimentali. Un recente studio clinico di fase I – il cui obiettivo principale era dimostrare che la CU assunta alla dose di 8 g/die per 3 mesi non ha effetti tossici ha riportato il miglioramento del quadro istologico di lesioni precancerose in 1 su 2 pazienti con tumore vescicale operato, in 2 su 7 con leucoplachia orale, in 1 su 6 con metaplasia intestinale a carico dello stomaco, e infine in 2 su 6 con malattia di Bowen⁴⁹.

Diabete mellito

In un recente studio sperimentale condotto su ratti affetti da diabete mellito indotto con allossano, il turmerico e la CU sono stati somministrati per 3 settimane alle dosi – rispettivamente di 1 g/kg e 0,08 g/kg, allo scopo di osservare l'effetto sul metabolismo glucidico; i dati ottenuti nel campione in studio sono stati confrontati con quelli di una popolazione di ratti di controllo, che non avevano ricevuto né turmerico, né CU⁵⁰. I risultati sono stati incoraggianti, poiché si è osservato un netto miglioramento della glicemia e dell'emoglobina glicosilata, nelle cavie trattate con turmerico o CU. Altresì, sono risultate statisticamente significative le

differenze in termini di livelli di TBARS e di glutatione, nel tessuto epatico e nel plasma. È stato inoltre osservato che l'attività della sorbitolo deidrogenasi che catalizza la conversione del sorbitolo in fruttosio è stata significativamente ridotta dal trattamento con turmerico o con CU.

Gastropatie

In vitro, la CU inibisce 19 ceppi diversi di *Helicobacter pylori*, inclusi 5 ceppi cagA⁺ (cagA è il ceppo specifico di *H. pylori* presente nelle lesioni precancerose e francamente maligne)⁵¹. Studi successivi hanno dimostrato che la CU contrasta l'infezione e l'infiammazione delle cellule della mucosa gastrica, attraverso l'inibizione dell'NF-κB, della degradazione dell'IκBα, del legame dell'NF-κB al DNA, e dell'attività delle chinasi IκB α e β. Non sono stati osservati effetti della CU sulla protein-chinasi mitogeno-attivata, sulla chinasi extracellulare regolata dal segnale (ERK 1 e 2) e sulla protein-chinasi attivata dal mitogeno p38 (p38 MAPK). La risposta mitogena dell'*H. pylori* sembra essere bloccata completamente dalla CU⁵². Infine, sono stati descritti effetti inibitori della CU su varie specie fungine in grado di colonizzare il tratto digestivo superiore⁵³.

Epatopatie

Nei ratti, l'aggiunta di curcuminoidi alla dieta ordinaria aumenta la produzione epatica di acetyl-CoA e previene l'accumulo di grassi negli adipociti e negli epatociti, anche in presenza di diete iperlipidiche⁵⁴. Un'altra dimostrazione degli effetti benefici della CU proviene da studi nell'ambito della steatosi indotta da etanolo, che sappiamo essere aggravata dal consumo di oli vegetali ricchi in acidi grassi polinsaturi, ossidati con il calore. Cavie sottoposte per 45 giorni a un regime alimentare a base di etanolo (20%) e olio di girasole (15%) trattato a 180° per 30', hanno sviluppato marcate alterazioni istologiche del parenchima epatico (degenerazione focale, colestasi, micronecrosi e steatosi di grado severo) e renale (flogosi e steatosi); queste lesioni sono state prevenute dalla somministrazione profilattica di CU semplice o foto-

irradiata cioè esposta alla luce solare per 5 ore, somministrate alla dose di 80 mg/kg⁵⁵. Le CU hanno, inoltre, limitato gli aumenti dei valori ematici di fosfatasi alcalina e di γ-glutamyl transferasi, nonché l'accumulo epatico di colesterolo, trigliceridi, acidi grassi liberi e fosfolipidi. In uno studio simile, ratti alimentati per 4 settimane con olio di pesce ed etanolo hanno sviluppato steatosi, necrosi e flogosi del parenchima epatico, mentre la somministrazione di CU alla dose di 75 mg/kg/*die* ha permesso di prevenire la formazione di tali lesioni⁵⁶. La CU sopprime parzialmente la trascrizione dei geni dipendenti da NF-κB, blocca l'attivazione di NF-κB mediata dalle endotossine e l'espressione di citochine, chemochine, COX-2 e iNOS nelle cellule di Kupffer. Effetti analoghi sono stati osservati anche nel caso di lesioni prodotte dal tetracloruro di carbonio; il trattamento con CU 100 mg/kg/*die* per 4 giorni, prima dell'iniezione intraperitoneale della sostanza, ha limitato significativamente l'accumulo di TBARS ed idrossiprolina nel tessuto epatico, nonché l'aumento dei valori ematici di alanina aminotransferasi e aspartato aminotransferasi⁵⁷.

Malattie dell'intestino

La CU, somministrata alla dose di 50 mg/kg/*die* per 10 giorni e prima della instillazione di acido trinitrobenzen-sulfonico eseguita al fine di provocare una colite massiva, ha determinato una netta riduzione del danno istologico, degli infiltrati neutrofili (misurati come riduzione dell'attività mieloperossidasi), della perossidazione lipidica (misurata come riduzione dell'attività della malonaldeide) e dell'attività serino-proteasica, rispetto ai controlli non trattati con CU⁵⁸. Inoltre, si sono osservate una netta riduzione dell'attivazione dell'NF-κB e dei livelli di NO, nonché una marcata inibizione delle funzioni Th1 mediate, sostanziate in una riduzione della produzione di interferone γ e dell'RNA messaggero dell'IL-12p40. In un altro studio, l'aggiunta di CU alla dieta 5 giorni prima dell'induzione di colite da acido trinitrobenzen-sulfonico, ha favorito una significativa riduzione dell'attività mieloperossi-

dasica e l'attenuazione della produzione di interleuchina-1 β indotta da acido trinitrobenzen-sulfonico ⁵⁹. Il Western blotting ha altresì rilevato una riduzione dell'attivazione della p38-MAPK. Infine, la somministrazione di CU e fenetilestere dell'acido caffeico, ad animali trattati con farmaci citostatici (citosina arabinoside, Ara-C, e metotressato, MTX), ha prevenuto il danno a carico della barriera mucosa indotto da NF- κ B, e ha aumentato la suscettibilità *in vitro* delle cellule non trasformate dell'intestino tenue di ratto IEC-6 agli agenti citostatici ⁵⁹.

Malattie neurodegenerative

La tossicità da radicali liberi, le mutazioni indotte dai radicali stessi, le alterazioni degli enzimi ossidativi e la disfunzione mitocondriale favoriscono l'insorgenza di malattie neurodegenerative (MND). Il danno ossidativo si osserva in MND quali il morbo di Alzheimer (MA), laddove provoca la deposizione extracellulare di β -amiloide sotto forma di placche senili. I farmaci anti-infiammatori non steroidei come l'ibuprofene sono in grado di prevenire il MA in modelli animali ⁶⁰, ma la loro tossicità gastrointestinale ed epatorenale dovuta all'inibizione della COX-1 ne preclude l'uso cronico ⁶¹. Il trattamento con antiossidanti come la vitamina E (o α -tocoferolo), anche a dosi molto alte, non si è dimostrato efficace ⁶². La vitamina E ha una azione diversa da quella del γ -tocoferolo, che esercita un'azione di scavenger dei radicali liberi dell'ossido inefficace. La CU, invece, è molto più potente della vitamina E come scavenger in senso lato ⁶³, oltre ad avere una specifica azione sui radicali liberi dell'ossido ⁶⁴. In modelli murini di MA, la CU è riduce significativamente il danno ossidativo, la deposizione di amiloide e il deficit di memoria, alla dose di 24 mg/kg, ma non a dosi > 30 volte più alte (750 mg/kg) ⁶⁵. Risultati analoghi sono stati ottenuti in ratti di ceppo Sprague Dawley ⁶⁶. La prevalenza, stratificata per età, di MA ⁶⁷ e di malattia di Parkinson in India ⁶⁸ paese in cui è maggiore l'apporto di curcuma è apparsa molto più bassa rispetto ai paesi occidentali, soprattutto gli USA. Comunque, l'effetto preventivo del consu-

mo di curcuma può essere raggiunto anche con frutta e vegetali ricchi in PF, in quantità sufficiente. Mirilli, fragole e spinaci a dosi di 18,6, 14,8 e 9,1 g (peso secco)/kg (peso corporeo), sembrano ridurre gli effetti legati all'invecchiamento, sia a livello neuronale che cognitivo ⁶⁹. In uno studio randomizzato condotto nel 1999, ratti alimentati con etanolo sono stati trattati con 80 mg/kg di CU o con placebo, e comparati con ratti normali non intossicati ⁷⁰. Il grado di alterazioni istopatologiche, i livelli di TBARS, di colesterolo, di fosfolipidi, e di acidi grassi liberi nel tessuto cerebrale sono migliorati in maniera significativa dopo trattamento con CU.

Malattie oculari

La cataratta è la principale causa di cecità nel mondo con 20 milioni di nuovi casi l'anno ⁷¹. I principali fattori di rischio per l'insorgenza di questa oftalmopatia sono i deficit nutrizionali specialmente un apporto insufficiente di antiossidanti, il diabete mellito, l'esposizione prolungata alla luce solare e il fumo di sigaretta ⁷². È interessante il dato secondo cui, in India, la prevalenza della cataratta stratificata per età è 3 volte maggiore rispetto agli Stati Uniti, nonostante la CU si sia dimostrata in grado di prevenire l'insorgenza di cataratta indotta da naftalene, galattosio e selenio ⁷³⁻⁷⁶.

Malattie pancreatiche

La capacità della CU di ridurre il danno pancreatico è stato studiato in due diversi modelli sperimentali: la pancreatite indotta da ceruleina o da etanolo+colecistochinina pancreozimina ⁷⁷. La CU è stata somministrata per via endovenosa alla dose totale di 200 mg/kg in 6 ore, contemporaneamente all'induzione della pancreatite. Il trattamento con CU ha ridotto significativamente il danno istologico (vacuolizzazione delle cellule acinose e infiltrazione neutrofila a carico del parenchima), l'attivazione intrapancreatica di tripsina, l'iperamilasemia, l'iperlipasemia, l'attivazione dell'NF- κ B, la degradazione del I- κ B-chinasi, l'attivazione della proteina attivatrice-1 e il rilascio di molecole infiammatorie come l'interleuchina-6, il

fattore di necrosi tumorale- α , la chemochina KC, l'iNOS e la fosfoproteina acida ribosomiale. La CU in entrambe i modelli ha stimolato in maniera significativa l'attivazione pancreatica della caspasi-3.

Malattie dell'apparato respiratorio

Poiché la CU è un potente inibitore del TGF- β e della fibrinogenesi²⁵, si ritiene che possa avere effetti benefici sul decorso delle malattie fibrosanti a carico di rene, fegato, intestino (malattia di Crohn), cavità peritoneale (prevenzione della formazione di briglie aderenziali) e polmone, fra cui la fibrosi cistica¹⁹. Quest'ultima appare di particolare interesse, perché associata soprattutto alla deficienza di glutazione. In recenti studi su ratti, è stato valutato l'effetto della CU sulla fibrosi polmonare indotta da amiodarone⁷⁸. La somministrazione di CU alla dose di 200 mg/kg, in associazione con instillazioni intratracheali di amiodarone alla dose di 6,25 mg/kg, garantisce una significativa riduzione dell'attività della lattico deidrogenasi, degli infiltrati di neutrofili, eosinofili e macrofagi nei tessuti polmonari, del rilascio del fattore di necrosi tumorale- α indotto dal lipopolisaccaride, della produzione di superossido stimolata dal forbolo acetato miristato, dell'attività della mieloperossidasi e del fattore di crescita TGF- β 1, del contenuto polmonare di idrossiprolina, e dell'espressione di collagene di tipo I e della proteina c-Jun. La CU presenta analogie strutturali con gli isoflavonoidi, per cui si legherebbe direttamente alla proteina regolatrice della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR), alterandone le proprietà di canale⁷⁹. Egan – che precedentemente aveva dimostrato che la CU inibisce una pompa del calcio presente nel reticolo endoplasmatico⁸⁰ – ha ipotizzato che la riduzione dei livelli di calcio potrebbe liberare la proteina CFTR mutante, consentendole di raggiungere la superficie cellulare⁸¹. La mutazione $\Delta F508$, causa più frequente di fibrosi cistica, determina nel reticolo endoplasmatico la mutazione di un gene che codifica per la CFTR. Topi omozigoti per la mutazione $\Delta F508$, ma alimentati con CU, hanno mostrato un aumento significativo della

sopravvivenza, e la normalizzazione del trasporto di cloro mediato dall'AMP-ciclico attraverso l'epitelio nasale e gastrointestinale⁷⁹. Non essendo ancora disponibili dati sull'uomo, non è possibile dire se la CU sia in grado di far regredire o rallentare il danno polmonare nei pazienti con fibrosi cistica. Eppure, un effetto antiasmatico della CU è stato recentemente dimostrato nei maiali di tipo Guinea, sensibilizzati mediante inalazioni di ovalbumina; in essi, si è osservato un miglioramento marcato del broncospasmo e della iperreattività delle vie aeree all'istamina⁸².

Tabagismo

Il tabagismo è responsabile del 20% dei decessi in senso lato, e del 30% dei decessi per cancro. Il fumo di sigaretta contiene migliaia di composti, dei quali circa 100 sono riconosciuti come sostanze cancerogene, co-cancerogene, mutageni o promotori tumorali. Ogni boccata di sigaretta contiene oltre 10 miliardi di radicali liberi. Nei fumatori sono significativamente ridotti i livelli ematici di antiossidanti. L'attivazione dell'NF- κ B è stata implicata nel processo della carcinogenesi chimica, attraverso l'attivazione di diversi geni quali quelli che codificano per la COX-2, iNOS, le MMP, l'interleuchina-8, le proteine anti-apoptotiche, le molecole di adesione alla superficie cellulare ed altre. Un recente studio ha riportato che la CU inibisce l'attivazione dell'NF- κ B, il che si associa all'inibizione dell'espressione di COX-2, MMP-9 e ciclina D1, nelle cellule epiteliali polmonari⁸³.

Antiossidanti derivati dalle piante - rilascio dalla flora microbica gastrointestinale

Tutte le MC sono accomunate da uno status subinfiammatorio cronico⁸⁴. Il consumo regolare di sostanze antiossidanti come la CU previene e/o rallenta lo sviluppo e la progressione. Le sostanze antiossidanti vengono prodotte dalla fermentazione delle piante effettuata dalla flora microbica residente nel tratto gastrointestinale. Nei paesi occidentali la flora microbica è alterata e al contempo

è ridotto significativamente l'apporto di probiotici, complementari alla normale flora commensale intestinale. Ad esempio, la riduzione del numero totale dei microrganismi e delle loro specie sottende MC quali le malattie infiammatorie croniche dell'intestino⁸⁵. Uno studio condotto nel 1983 ha dimostrato che il *Lactobacillus plantarum* un microrganismo in grado di fermentare le fibre è presente solo nel 25% degli americani, mentre si isola nei 2/3 dei vegetariani⁸⁶. Altresì, le diverse popolazioni della specie umana si possono differenziare in base sia al numero totale, sia all'eterogeneità (*i.e.*, numero di specie) dei microrganismi costituenti la flora intestinale. Per esempio, nei bambini scandinavi, la flora intestinale è meno ricca rispetto ai coetanei pachistani⁸⁷. Gli astronauti, al ritorno da missioni spaziali, hanno perso la maggior parte della flora commensale, incluse le diverse specie di *Lactobacillus* come il *plantarum* e il *casei* (-100%), il *fermentum* (-43%), l'*acidophilus* (-27%), il *salivarius* (-22%) e il *brevis* (-12%)⁸⁸; ciò è attribuibile a un inadeguato regime alimentare (cibi essiccati, assenza di frutta e verdura fresche, ridotto apporto in fibre e antiossidanti), allo stress psico-fisico e alla sedentarietà. Gli occidentali conducono uno stile di vita simile a quello degli astronauti (*astronaut-like lifestyle*), caratterizzato da un consumo di frutta e verdure fresche insoddisfacente, eccessivo stress e scarsa attività fisica. Inoltre, la flora microbica sembra non tollerare l'esposizione a sostanze chimiche, fra cui molti farmaci comuni. Ciò è stato dimostrato nei pazienti critici, che frequentemente perdono l'intera flora di *Lactobacilli*⁸⁹. Un recente studio scandinavo ha dimostrato che i *Lactobacilli plantarum*, *rhamnosus* e *paracasei* presenti nelle popolazioni con uno stile di vita di tipo rurale, si riscontrano nelle popolazioni con stile di vita di tipo occidentale solo nel 52%, 26% e 17% dei casi, rispettivamente⁹⁰. La mancanza o penuria di *Lactobacilli* è indesiderabile, poiché essi sono fra i pochi commensali in grado di fermentare fibre quali l'inulina e la fleina altrimenti resistenti alla fermentazione espletata da altri ceppi⁹¹ e sono molto efficaci nell'eliminazione di microrganismi patogeni quali il *Clostridium difficile*⁹².

Conclusioni

L'uso delle piante medicinali e dei loro componenti biologicamente attivi si sta rivelando un approccio efficace e attraente, nei pazienti con disturbi infiammatori che non rispondano alle terapie standard, o che si rifiutino di assumerle. I derivati alimentari quali la *Curcuma longa* e la CU hanno il vantaggio di non essere tossici. Qualora si imposti un trattamento a base di fibre quali la *Curcuma longa*, eventuali supplementi con probiotici ne aumentano l'efficacia.

Diete ricche in grassi aumentano la reazione infiammatoria nell'organismo, che è invece ridotta qualora il regime alimentare sia ricco in fibre⁹³. Una dieta ricca di grassi e povera di fibre favorisce le MC⁹⁴, la cui insorgenza è invece contrastata da supplementi di frutta e vegetali⁹⁵. L'attenzione è oggi rivolta agli elementi biologicamente attivi e ad azione antiossidanti e antinfiammatoria contenuti nelle fibre vegetali come la CU piuttosto che alle fibre in sé.

Sostanze in grado di ridurre l'infiammazione e proteggere dalle MC sono contenute non solo nella CU e nel turmerico, ma anche in numerosi altri vegetali. Esistono migliaia di agenti chemiopreventivi derivati dalle piante, PF e molti altri ancora non conosciuti, in grado di contrastare l'infiammazione, l'invecchiamento, le alterazioni degenerative a carico degli organi e lo sviluppo delle MC. Tra questi gli isotiocianati, presenti nei vegetali cruciferi, gli antociani e gli acidi idrossicinnamici nelle ciliege, l'epigallocatechina-3-gallato nel tè verde, l'acido clorogenico e caffeico nel caffè e nelle foglie di tabacco, la capsaicina nei peperoncini, i calcioni nelle mele, gli euginoli nei chiodi di garofano, l'acido gallico nel rabarbaro, l'esperidina e la naringenina negli agrumi, il kempferolo nei cavoli, la miricetina nelle bacche, la rutina e la quercetina nelle mele e nelle cipolle, il resveratrolo e altri dimeri procianidinici nel vino rosso e nelle arachidi, i diversi curcuminoidi, pigmento giallo, nei cibi al curry, e il daidzein e il genistein nelle piante di soia. Questi composti esercitano azioni differenti, ma complementari tra loro.

Le piante contengono molti PF, di cui sono

stati dimostrati l'effetto antinfiammatorio e la capacità di aumentare la resistenza alle malattie. Alcuni esempi di PF sono gli isotiocianati presenti nei cavoli e nei broccoli, la epigallocatechina nel tè verde, la caisapcina nel peperoncino, i caloni, la rutina e la naringenina nelle mele, il resveratrolo nel vino rosso e nelle arachidi fresche, e i curcumenoidi – di cui la CU è il componente più conosciuto e utilizzato nel turmerico. La maggior parte delle malattie è sottesa da un processo infiammatorio subdolo, ma persistente. È emerso che l'efficacia del trattamento di queste malattie può essere incrementata tramite la riduzione dell'apporto di sostanze proinfiammatorie quali i prodotti terminali della glicazione (AGE) o della lipossidazione avanzata (ALE), e l'aumento dell'introito di sostanze antinfiammatorie di derivazione vegetale.

Riassunto

Scopo di questa review è illustrare le conoscenze attuali sugli effetti della CU, che si è dimostrata un formidabile antiossidante e inibitore della ciclossigenasi-2 (COX-2), della lipossigenasi-5 (LOX), del fattore nucleare κ -B (NF- κ B), e dei recettori di AGE e ALE. Nonostante il gran numero di evidenze sperimentali circa l'efficacia della CU, i pochi studi sull'uomo pubblicati non consentono ancora di giungere a conclusioni definitive. Sembra che la somministrazione della CU e dei suoi derivati potenzi gli effetti della terapia farmacologica standard utilizzata in malattie quali il morbo di Crohn, i tumori, la cirrosi epatica, la pneumopatia cronica ostruttiva, il diabete mellito e l'Alzheimer, nonché nella gestione dei pazienti lungodegenti o ricoverati nei reparti di rianimazione.

Parole chiave: Key words: Flavonoidi - Fenoli - Curcumina.

Bibliografia

- World Health Organization. Process for a global strategy on diet, physical activity and health. Geneva: WHO; 2003.
- Arias E, Smith BL. Deaths: preliminary data for 2001. Natl Vital Stat Rep 2003;51:1-44.
- Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome and associated costs of care. Crit Care Med 2001;29:1303-10.
- Baptista JAB, Carvalho RCB. Indirect determination of Amadori compounds in milk-based products by HPLC/ELSD/UV as an index of protein deterioration. Food Res Intern 2004;37:739-47.
- Bengmark S. Acute and "chronic" phase response – a mother of disease. Clin Nutr 2004;23:1256-66.
- Bengmark S. Bio-ecological control of the gastrointestinal tract: the role of flora and supplemented pro- and synbiotics. Gastroenterol Clin North Am 2005;34:413-36.
- Bengmark S. Impact of nutrition on ageing and disease. Curr Opin Nutr Metab Care 2006;9:2-7.
- Bernes PJ, Karin M. Nuclear factor- κ B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. N Engl J Med 1997;336:1066-71.
- Amit S, Ben-Neriah Y. NF- κ B activation in cancer: a challenge for ubiquitination- and proteasome-based therapeutic approach. Semin Cancer Biol 2003;13:15-28.
- Pahl HL. Activators and target genes of Rel/ NF- κ B transcription factors. Oncogene 1999;18:6853-66.
- Stolina M, Sharma S, Lin Y, Dohadwala M, Gardner B, Luo J *et al*. Specific inhibition of cyclooxygenase-2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis. J Immunol 2000;164:361-70.
- Sharma RA, Ireson CR, Verschöyle RD, Hill KA, Williams ML, Leuratti C *et al*. Effects of dietary curcumin on glutathione S-transferase and malonaldehyde-DNA adducts in rat liver and colonic mucosa: relationship with drug levels. Clin Cancer Res 2001;7:1452-8.
- Shoba G, Joy D, Joseph T, Majeed M, Rajendran R, Srinivas PS. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. Planta Med 1998;64:1167-72.
- Shankar TN, Shantha NV, Ramesh HP, Murthy IA, Murthy VS. Toxicity studies on Turmeric (Curcuma longa): acute toxicity studies in rats, guinea pigs and monkeys. Indina J Exp Biol 1980;18:73-5.
- Chainani Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of turmeric (Curcuma Longa). J Altern Complement Med 2003;9:161-8.
- Grant KL, Schneider CD. Turmeric. Am J Health-Syst Pharm 2000;57:1121-2.
- Surh Y-J, Chun K-S, Cha H-H *et al*. Molecular mechanisms underlying chemo-preventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: downregulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF- κ B activation. Mutation Research 2001;480-481:243-68.
- Dunsmore KE, Chen PG, Wong HR. Curcumin, a medicinal herbal compound capable of inducing the heat shock response. Crit Care Med 2001;29:2199-204.
- Chang D-M. Curcumin: a heat shock response inducer and potential cytoprotector. Crit Care Med 2001;29:2231-2.
- Wallace JM. Nutritional and botanical modulation of the inflammatory cascade – eicosanoids, cyclooxygenases and lipooxygenases – as an adjunct in cancer therapy. Integr Cancer Ther 2002;1:7-37.
- Began G, Sudharshan E, Udaya Sankar K, Appu Rao AG. Interaction of curcumin with phosphatidylcholine: a spectrofluorometric study. J Agric Food Chem 1999;47:4992-7.
- Thapliyal R, Maru GB. Inhibition of cytochrome P450 isoenzymes by curcumins in vitro and *in vivo*. Food Chem Toxicol 2001;39:541-7.
- Jovanovic SV, Boone CW, Steenken S, Trinoga M, Kaskey RB. How curcumin preferentially works with water soluble antioxidants. J Am Chem Soc 2001;123:3064-8.
- Gaedeke J, Noble NA, Border WA. Curcumin blocks multiple sites of the TGF- β signaling cascade in renal cells. Kidney Int 2004;66:112-120.
- Srinisan P, Libbus B. Mining MEDLINE for implicit links between dietary substances and diseases. Bioinformatics 2004;20(Suppl 1):1290-6.

26. Kang BY, Song YJ, Kim KM, Choe YK, Hwang SY, Kim TS. Curcumin inhibits Th1 cytokine profile in CD4+ T cells by suppressing interleukin-12 production in macrophages. *Br J Pharmacol* 1999;128:380-4.
27. Fugh-Berman A. Herb-drug interactions. *Lancet* 2000;355:134-8.
28. Groten JP, Butler W, Feron VJ, Kozianowski G, Renwick AG, Walker R. An analysis of the possibility for health implications of joint actions and interactions between food additives. *Reg Toxicol Pharmacol* 2000;31:77-91.
29. Kamal-Eldin A, Frank J, Razdan A, Tengblad S, Basu S, Vessby B. Effects of dietary phenolic compounds on tocopherol, cholesterol and fatty acids in rats. *Lipids* 2000;35:427-35.
30. Shapiro TA, Fahey JW, Wade KL, Stephenson KK, Talalay P. Human metabolism and excretion of cancer chemoprotective glucosinolates and isothiocyanates of cruciferous vegetables. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:1091-100.
31. Akhilender Naidu K, Thippeswamy NB. Inhibition of human low density lipoprotein oxidation by active principles from spices. *Mol Cell Biochem* 2002;229:19-23.
32. Kempaiah RK, Srinivasan K. Integrity of erythrocytes of hypercholesterolemic rats during spices treatment. *Mol Cell Biochem* 2002;236:155-61.
33. Quiles JL, Mesa MD, Ramirez-Tortosa CL, Aguilera CM, Battino M, Gil A *et al.* Curcuma longa extract supplementation reduces oxidative stress and attenuates aortic fatty streak development in rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1225-31.
34. Levi MS, Borne RF, Williamson JS. A review of cancer chemopreventive agents. *Current Medicinal Chemistry* 2001;8:1349-62.
35. Anderson SR, McDonald SS, Greenwald P. Cancer risk and diet in India. *J Postgrad Med* 2003;49:222-228.
36. Choudhuri T, Pal S, Aggarwal ML, Das T, Sa G. Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction. *FEBS Letters* 2002;512:334-40.
37. Shao ZM, Shen ZZ, Liu CH, Sartippour MR, Go VL, Heber D *et al.* Curcumin exerts multiple suppressive effects on human breast carcinoma cells. *Int J Cancer* 2002;98:2002.
38. Radhakrishna Pillai G, Srivastava AS, Hassanein TI, Chauhan DP, Carrier E. Induction of apoptosis in human lung cancer cells by curcumin. *Cancer Letters* 2004;208:163-70.
39. Zheng M, Ekmekcioglu S, Walch ET, Tang CH, Grimm EA. Inhibition of nuclear factor- κ B and nitric oxide by curcumin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis in human melanoma cells. *Melanoma Res* 2004;14:165-71.
40. Han S-S, Keum Y-S, Seo H-J, Surh Y-J. Curcumin suppresses activation of NF- κ B and AP-1 induced by phorbol ester in cultured human promyelocytic leukaemia cells. *J Biochem Molec Biol* 2002;35:337-42.
41. Bharti AC, Shishodia S, Reuben JM, Weber D, Alexanian R, Raj-Vadhan S *et al.* Nuclear factor- κ B and STAT3 are constitutively active in CD138+ cells derived from myeloma patients and suppression of these transcription factors leads to apoptosis. *Blood* 2004;103:3175-84.
42. Lontas A, Yeger H. Curcumin and resveratrol induce apoptosis and nuclear translocation and activation of p53 in human neuroblastoma. *Anticancer Res* 2004;24:987-98.
43. Elattar TMA, Virji AS. The inhibitory effect of curcumin, Genistein, quercetin and cisplatin on the growth of oral cancer cells in vitro. *Anticancer Res* 2000;20:1733-8.
44. Mukhopadhyay A, Bueso-Ramos C, Chatterjee D, Pantazis P, Aggarwal BB. Curcumin downregulates cell survival mechanisms in human prostate cancer cell lines. *Oncogene* 2001;20:7597-609.
45. Nakamura K, Yasunaga Y, Segawa T, Ko D, Moul JW, Srivastava S *et al.* Curcumin down-regulates AR gene expression in prostate cancer cell lines. *Int J Oncol* 2002;21:825-30.
46. Hour TC, Chen J, Huang CY, Guan JY, Lu SH, Pu YS. Curcumin enhances cytotoxicity of chemotherapeutic agents in prostate cancer cells by inducing p21WAF1/CIP1 and C/EBP, expressions and suppressing NF- κ B activation. *Prostate* 2002;51:211-8.
47. Deeb D, Jiang H, Gao X, Hafner MS, Wong H, Divine G *et al.* Curcumin sensitizes prostate cancer cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo2L by inhibiting nuclear factor- κ B through suppression of I κ B phosphorylation. *Mol Cancer Ther* 2004;3:803-12.
48. Ohashi Y, Tsuchiya Y, Koizumi K, Sakurai H, Saiki I. Prevention of intrahepatic metastasis by curcumin in an orthotopic implantation model. *Oncology* 2003;65:250-8.
49. Cheng AL, Hsu CH, Lin JK, Hsu MM, Ho YF, Shen TS *et al.* Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Res* 2001;21:2895-900.
50. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, Gooren LJ, Asscheman H, Stehouwer CD. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. Letter to the Editor. *Atherosclerosis* 1998;139:197-8.
51. Mahady GB, Pendland SL, Yun G, Lu ZZ. Turmeric (*Curcuma longa*) and curcumin inhibit the growth of *Helicobacter pylori*, a group 1 carcinogen. *Anticancer Res* 2002;22:4179-82.
52. Foryst-Ludwig A, Neumann M, Schneider-Brachert W, Naumann M. Curcumin blocks NF- κ B and the mitogenic response in *Helicobacter pylori*-infected epithelial cells. *Biochem Biophys Res Com* 2004;316:1065-72.
53. Kim M-K, Choi G-J, Lee H-S. Fungal property of *Curcuma longa* rhizome-derived curcumin against phytopathogenic fungi in greenhouse. *J Agr Food Chem* 2003;51:1578-81.
54. Asai A, Miyazawa T. Dietary curcuminoids prevent high-fat diet-induced lipid accumulation in rat liver and epididymal adipose tissue. *J Nutr* 2001;131:2932-5.
55. Rukkumani R, Balasubashini S, Vishwanathan P, Menon VP. Comparative effects of curcumin and photo-irradiated curcumin on alcohol- and polyunsaturated fatty acid-induced hyperlipidemia. *Pharmacol Res* 2002;46:257-64.
56. Nanji AA, Jokelainen K, Tipoe GL, Rahemtulla A, Thomas P, Dannenberg AJ. Curcumin prevents alcohol-induced liver disease in rats by inhibiting the expression of NF- κ B-dependent genes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:G321-G7.
57. Park EJ, Jeon CH, Ko G, Kim J, Sohn DH. Protective effect of curcumin in rat liver injury induced by carbon tetrachloride. *J Pharm Pharmacol* 2000;52:437-40.
58. Ukil A, Maity S, Karmakar S, Datta N, Vedasiromoni JR, Das PK. Curcumin, the major component of food flavour turmeric reduces mucosal injury in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. *Br J Pharmacol* 2003;139:209-18.
59. van't Land B, Blijlevens NM, Martijn J, Timal S, Donnelly JP, de Witte TJ *et al.* Role of curcumin and the inhibition of NF- κ B in the onset of chemotherapy-induced mucosal barrier injury. *Leukemia* 2004;18:276-84.
60. Lim GP, Yang F, Chu T, Chen P, Beech W, Teter B *et al.* Ibuprofen suppresses plaque pathology and inflam-

- mation in a mouse model for Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2000;20:5709-14.
61. Björkman D. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated toxicity of liver, lower gastrointestinal tract, and esophagus. *Am J Med* 1998;105:S17-S21.
 62. Sano M, Ernesto C, Thomas RG, Klauber MR, Schafer K, Grundman M *et al*. A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer disease. The Alzheimer disease cooperative study. *N Engl J Med* 1997;336:1216-22.
 63. Zhao BL, Li XJ, He RG, Cheng SJ, Xin WJ. Scavenger effects of green tea and natural antioxidants on active oxygen radicals. *Cell Biophys* 1989;14:175-85.
 64. Sreejavan N, Rao MNA. Nitric oxide scavenging by curcumenoids. *J Pharm Pharmacol* 1997;49:105-7.
 65. Lim GP, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy SA, Cole GM. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *J Neurosci* 2001;21:8370-7.
 66. Frautschy SA, Hu W, Kim P, Miller SA, Chu T, Harris-White ME *et al*. Phenolic anti-inflammatory antioxidant reversal of A β -induced cognitive deficits and neuropathology. *Neurobiol Aging* 2001;22:993-1005.
 67. Ganguli M, Chandra V, Kamboh MI, Johnston JM, Dodge HH, Thelma BK *et al*. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer disease: the Ino-US cross-national dementia study. *Arch Neurol* 2000;57:824-30.
 68. Muthane U, Yasha TC, Shankar SK. Low numbers and no loss of melanized nigral neurons with increasing age in normal human brains from India. *Ann Neurol* 1998;43:283-7.
 69. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Denisova NA, Bielinski D, Martin A, McEwen JJ *et al*. Reversal of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive and motor behavioural deficits with blueberry, spinach and strawberry dietary supplementation. *J Neurosci* 1999;19:8114-21.
 70. Rajakrishnan V, Viswanathan P, Rajasekharan N, Menon VP. Neuroprotective role of curcumin from *Curcuma longa* on ethanol-induced brain damage. *Phytother Res* 1999;13:571-4.
 71. Thylefors B. Prevention of blindness – WHO's mission for vision. *World Health Forum* 1998;19:53-9.
 72. Ughade SN, Zodpey SP, Khanolkar VA. Risk factors for cataract: a case control study. *Indian J Ophthalmol* 1998;46:221-7.
 73. Brian G, Taylor H. Cataract blindness – challenges for the 21st century. *Bull World Health Organ* 2001;79:249-56.
 74. Pandya U, Saini MK, Jin GF, Awasthi S, Godley BF, Awasthi YC. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. *Toxicol Lett* 2000;115:195-204.
 75. Suryanarayana P, Krishnaswamy K, Redde B. Effects on galactose-induced cataractogenesis in rats. *Mol Vis* 2003;9:223-30.
 76. Padmaja S, Raju TN. Antioxidant effects in selenium induced cataract of Wistar rats. *Ind J Exp Biol* 2004;42:601-3.
 77. Gukovsky I, Reyes CN, Vaquero EC, Gukovskaya AS, Pandol SJ. Curcumin ameliorates ethanol and nonethanol experimental pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:G85-G95.
 78. Punithavathi DP, Venkatesan N, Babu M. Protective effects of curcumin against amiodarone-induced pulmonary fibrosis in rats. *Br J Pharmacol* 2003;139:1342-50.
 79. Illek B, Lizarzaburu ME, Lee V, Nantz MH, Kurth MJ, Fischer H. Structural determinants for activation and block of CFTR-mediated chloride currents by apigenin. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000;279:C1838-C44.
 80. Egan ME, Pearson M, Weiner SA, Rajendran V, Rubin D, Glöckner-Pagel J *et al*. Curcumin, a major constituent of turmeric, corrects cystic fibrosis defects. *Science* 2004;304:600-2.
 81. Zeitlin P. Can curcumin cure cystic fibrosis? *N Engl J Med* 2004;351:606-8.
 82. Ram A, Das M, Ghosh B. Curcumin attenuates allergen-induced hyperresponsiveness in sensitized guinea pigs. *Biol Pharm Bull* 2003;26:1021-4.
 83. Shishodia S, Potdar P, Gairola CG, Aggarwal BB. Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates cigarette smoke-induced NF- κ B activation through inhibition of I κ B-kinase in human lung cancer epithelial cells: correlation with suppression of COX-2, MM-9, cyclin D1. *Carcinogenesis* 2003;7:1269-79.
 84. Bengmark S. Acute and "chronic" phase response – a mother of disease. *Clin Nutr* 2004;23:1256-66.
 85. Ott SJ, Musfeldt M, Wenderoth DF, Hampe J, Brant O, Fölsch UR *et al*. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut* 2004;53:685-93.
 86. Finegold SM, Sutter VL, Mathisen GE. Normal indigenous intestinal flora. In: Hentges DJ, editor. *Human intestinal microflora in health and disease*. London: Academic Press; 1983. p. 3-31.
 87. Adlerberth I, Carlsson B, de Man P, Jalil F, Khan SR, Larsson P *et al*. Intestinal colonization with Enterobacteriaceae in Parkistani and Swedish hospital-delivered infants. *Acta Paediatr Scand* 1991;80:602-10.
 88. Lencner AA, Lencner CP, Mikelsaar ME, Tjuri ME, Toom MA, Väljaots ME *et al*. Die quantitative Zusammensetzung der Lactoflora des Verdauungstrakts vor und nach kosmischen Flügen unterschiedlicher Dauer. *Nahrung* 1984;28:607-13.
 89. Knight DJW, Ala'Aldeen D, Bengmark S, Girling KJ. The effect of synbiotics on gastrointestinal flora in the critically ill. Abstract. *Br J Anaesth* 2004;92:307P-8P.
 90. Ahrné S, Nobaek S, Jeppsson B, Adlerberth I, Wold AE, Molin G. The normal lactobacillus flora in healthy human rectal and oral mucosa. *J Appl Microbiol* 1998;85:88-94.
 91. Müller M, Lier D. Fermentation of fructans by epiphytic lactic acid bacteria. *J Appl Bact* 1994;76:406-11.
 92. Naaber P, Smidt I, Stsepelova J, Brilene T, Annuk H, Mikelsaar M. Inhibition of *Clostridium difficile* strains by intestinal *Lactobacillus* species. *Med Microbiol* 2004;53:551-4.
 93. King DE, Egan BM, Geesey ME. Relation of dietary fat and fiber to elevation of C-reactive protein. *Am J Cardiol* 2003;92:1335-9.
 94. Campbell TC, Junchi C. Diet and chronic degenerative diseases: perspective from China. *Am J Clin Nutr* 1994;59(Suppl):S1153-S63.
 95. Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R, Rissanen H, Heliövaara M, Reunanen A *et al*. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr* 2002;76:560-8.