

L. FERRARA¹, D. NAVIGLIO²

Impiego degli enzimi vegetali nell'alimentazione e nella terapia

PROGRESS IN NUTRITION

VOL. 11, N. 4, 217-226, 2009

TITLE

Use of plant enzymes in food and therapy

KEY WORDS

Nutritional biotherapy, vegetable enzymes, foods, diary integrators

PAROLE CHIAVE

Bioterapia nutrizionale, enzimi vegetali, alimenti, integratori alimentari

¹Dipartimento di Chimica Farmaceutica e Tossicologica - Facoltà di Farmacia-Università di Napoli Federico II, Napoli

²Dipartimento di Scienza degli Alimenti - Facoltà di Agraria, Università di Napoli Federico II, Portici (Napoli)

Indirizzo per corrispondenza:

Dr.ssa Lydia Ferrara,
Dipartimento di Chimica Farmaceutica e Tossicologica - Facoltà di Farmacia
Università di Napoli Federico II,
Via Domenico Montesano 49
80131 Napoli
E-mail: lyferrar@unina.it

Summary

The intake of foods rich in enzymes can improve our natural digestive capacity. The lack of enzyme which is present and because the food does not satisfy the characteristics of genuineness, and because processed or canned, either because too much or poorly cooked result in an increase of diseases related to malabsorption. Recent clinical studies also have shown beneficial effects in patients suffering from tumors with the use of proteolytic enzymes of plant origin that have fewer contra indications than animal origin and are good preventive remedies or natural coadjutants to medical therapy. In the field of nutritional biotherapy the use of vegetable enzymes as integrating compounds is a good practice to enhance the health of individual avoiding in this way serious pathologies.

Riassunto

L'assunzione di alimenti ricchi di enzimi permette di migliorare le nostre naturali capacità digestive. La carenza di enzimi che si riscontra attualmente perché gli alimenti non soddisfano ai caratteri di genuinità, sia perché trattati o inscatolati, sia perché cotti troppo o male, porta come conseguenza ad un aumento di patologie legate al malassorbimento. Recenti studi clinici inoltre hanno evidenziato numerosi benefici nei pazienti affetti da neoplasie trattati con enzimi proteolitici di origine vegetale che presentano minori controindicazioni rispetto a quelli animali e costituiscono degli ottimi rimedi preventivi o coadiuvanti naturali alle terapie mediche. Nell'ambito della bioterapia nutrizionale l'impiego degli enzimi vegetali, come sostanze integratrici alimentari costituisce un'ottima soluzione per migliorare lo stato di salute dell'individuo prevenendo anche importanti patologie.

Introduzione

Gli enzimi sono sostanze di natura proteica che svolgono l'importante ruolo di catalizzatori biologici, es-

sendo capaci di accelerare molte reazioni chimiche negli organismi viventi. Essi sono raggruppati in sei classi fondamentali, in base al tipo di reazione catalizzata: ossi-

doriduttasi, transferasi, idrolasi, liasi, isomerasi, ligasi o sintetasi. La loro funzione biologica, come parallelamente succede per i catalizzatori chimici, consiste nel ridurre l'energia di attivazione necessaria per compiere le trasformazioni metaboliche, permettendo lo svolgimento di attività chimiche cellulari che altrimenti richiederebbero consumi energetici molto elevati per l'organismo o potrebbero non avvenire in alcun modo. Benché i processi metabolici siano catalizzati da una grande varietà di enzimi, solo alcuni sono strettamente specifici per un determinato substrato. Vi sono alcuni enzimi, detti isoenzimi, che possono esistere in più forme e che differiscono per proprietà fisiche e per la velocità di reazione con i substrati, pur possedendo le stesse proprietà catalitiche fondamentali dell'enzima da cui derivano.

L'analisi delle proteine enzimatiche mediante i raggi X ha mostrato che la conformazione molecolare è costituita da due elementi fondamentali: una parte principale di natura proteica, apoenzima, che si adatta al substrato, ed una parte di natura prostetica, detta coenzima, che possiede speciali raggruppamenti chimici con funzione catalitica, localizzati in posizioni circoscritte della molecola. In virtù di questa loro struttura gli enzimi hanno la capacità di riconoscere i substrati specifici, i quali, a loro

volta, possono entrare preferenzialmente nel sito attivo dell'enzima a causa della grandezza e della carica elettrica della loro molecola. L'efficienza catalitica di un enzima, detta anche "numero di turnover", è definita dal numero di volte che una reazione può ripetersi nel tempo prestabilito di un minuto, a livello dello stesso sito attivo.

Nell'organismo umano sono presenti diverse specie di enzimi che entrano in molti processi di elaborazione ed assimilazione degli alimenti permettendo di mantenere un buono stato di salute. Ruolo particolarmente importante è assunto dagli enzimi digestivi, la cui carenza provoca fenomeni di malassorbimento, nel qual caso è necessario somministrare composti enzimatici per prevenire e ridurre sintomi spiacevoli. Buoni risultati sono stati ottenuti somministrando enzimi nel trattamento del morbo celiaco, per ridurre la tossicità della gliadina sull'organismo o prevenire le pancreatiti spesso associate a questa malattia e nel Morbo di Crohn. L'apporto di enzimi esogeni, ed in particolare quelli di origine vegetale, può favorire il recupero dallo "stress", permettendo una migliore assimilazione degli alimenti come avviene nei casi sia di sovrappeso o di atteggiamenti compulsivi nei confronti del cibo, in quanto con l'attivazione dei recettori nervosi gastro-intestinali o cerebrali, viene

ridotto il senso di fame e migliorata la gestione delle energie da parte del corpo.

Nella tabella 1 viene riportata la classificazione internazionale degli enzimi.

La conoscenza e l'uso degli enzimi risale ai tempi dei Sumeri che utilizzavano bevande fermentate a base di orzo, da cui sarebbe derivato il processo di fermentazione della attuale birra. Gli studi moderni sull'attività degli enzimi risalgono ai primi decenni del secolo scorso e molte scuole mediche soprattutto tedesche hanno utilizzato gli enzimi alimentari a scopi terapeutici.

In un primo tempo sono stati utilizzati enzimi di origine animale come pepsina, tripsina, pancreaticina, mentre in seguito maggiore importanza hanno assunto gli enzimi di origine vegetale e fungale. Questi ultimi pur essendo ad ampio spettro, di facile produzione ed economicamente vantaggiosi, presentano lo svantaggio di essere poco sicuri dal punto di vista della purezza.

Gli enzimi sono necessari per l'attivazione del sistema immunitario. Il nostro metabolismo è sostenuto dall'attività degli enzimi e l'utilizzazione dei minerali e delle vitamine dipende da essi in quanto svolgono un ruolo essenziale soprattutto nei periodi di malattia, di infezioni virali, di febbri, per cui è necessario mantenere

Tabella 1 - Classificazione internazionale degli enzimi

Classe	Tipo di reazione
Ossidoriduttasi	Trasferimento di elettroni (ioni idruro o atomi di idrogeno)
Transferasi	Reazioni di trasferimento di gruppi funzionali
Idrolasi	Reazioni di idrolisi
Liasi	Addizione di gruppi a legami doppi o formazione di doppi legami mediante rimozione di gruppi
Isomerasi	Trasferimento di gruppi all'interno di molecole per formare isomeri
Ligasi	Formazione di legami C-C, C-S, C-O e C-N mediante reazioni di condensazione accoppiate alla scissione di ATP

sempre costante il loro livello nell'organismo (1).

Gli enzimi vegetali in alimentazione

Secondo studi effettuati a livello mondiale oltre l'80% della popolazione soffre per carenza di sostanze vitali ed enzimi. I primi sintomi di questo malessere sono stanchezza, debolezza di concentrazione, predisposizione alle infezioni, problemi cutanei, svogliatezza generale e disturbi alimentari. In questo stadio possono già insorgere danni alle cellule e ai tessuti che negli anni successivi produrranno necessariamente gravissime malat-

tie. Una dieta, in generale, anche se è equilibrata, non sempre assicura la quantità idonea di enzimi essendo questi ultimi particolarmente sensibili all'ambiente in cui vengono a trovarsi ed al calore.

La carenza di enzimi nell'alimentazione può essere infatti attribuita a raccolti precoci, tempi di conservazione molto lunghi, lavorazione dei cibi nelle odierne fabbriche di generi alimentari tramite tecniche di radiazione, riscaldamento, sterilizzazione, vari metodi di conservazione che sono responsabili di perdite non trascurabili di enzimi ed altre sostanze attive d'importanza vitale.

L'industria alimentare utilizza gli enzimi sia nella preparazione di

diversi alimenti, quali bevande fermentate, formaggio, aceto e pane, sia nella produzione di alimenti non fermentati come succhi di frutta, emulsionanti e dolcificanti. Essi possono migliorare la consistenza, l'aspetto, il valore nutritivo e possono sviluppare sapori e aromi molto gradevoli. Alcuni enzimi intervengono nel processo di maturazione dei frutti e sono responsabili del fenomeno del rammollimento della polpa. È stato isolato infatti nelle ciliegie mature un enzima a prevalente attività beta-glucosidasi ma anche galattosidasi, che aumenta durante il processo di maturazione ed è presumibilmente coinvolto come causa di ammorbidimento della polpa di questi frutti. Questi tipi di studi assumono notevole importanza ai fini di migliorare le caratteristiche organolettiche degli alimenti durante la loro conservazione.

Gli enzimi, data la loro natura proteica, sono estremamente sensibili alle variazioni di conservazione: essi vengono disattivati già a temperature comprese tra i 40 e 55°C in quanto cambia la loro struttura ternaria e/o quaternaria; mentre il tempo che intercorre dopo la preparazione degli alimenti oppure le condizioni di conservazione possono modificare il loro contenuto.

È da tenere presente che alcuni enzimi catalizzano reazioni di formazione di sostanze di elevato va-

lore nutrizionale: la formazione dell'amido, ad esempio, è catalizzata da un enzima chiamato amido sintasi. L'amido è il carboidrato di riserva delle piante, nelle quali viene immagazzinato come fonte energetica, dopo essere stato prodotto per via enzimatica a partire da singole molecole di glucosio ottenute a loro volta dalla fotosintesi clorofilliana. Questo polisaccaride si ritrova nei frutti, nei semi e nei tuberi delle piante ed è il costituente principale dei cereali e delle patate, alimenti di largo consumo; inoltre esso riveste particolare importanza nell'industria alimentare quale agente addensante ricoprendo, in tal caso, un ruolo funzionale e non nutrizionale.

L'assimilazione dell'azoto inorganico, presente come ione ammonio, nelle piante superiori avviene tramite l'azione combinata di due enzimi, la glutammina sintasi e la glutammato sintasi, che provvedono a trasformarlo in glutammina e glutammato rispettivamente. La glutammina ed il glutammato così formati vengono impiegati come donatori di gruppi amminici in numerose reazioni quali la sintesi di amminoacidi, di acidi nucleici, di clorofilla e di altri composti azotati necessari al metabolismo dei vegetali. L'asparagina sintasi a sua volta cede il gruppo amminico all'acido aspartico per formare asparagina: questi tre amminoacidi, glutammina, acido glutammico

ed asparagina rappresentano la fonte principale di trasporto dell'azoto dalle radici verso il fusto.

L'azoto è indispensabile per la formazione di amminoacidi e proteine le quali oltre al valore nutrizionale presentano spesso anche attività farmacologica.

Grande importanza assume l'enzima ribulosio difosfato carbossilasi che nel "Ciclo di Calvin" noto come "la fase oscura della fotosintesi clorofilliana" interviene nella sintesi del saccarosio dalla cui scissione si ottiene glucosio e fruttosio.

Recentemente molta attenzione è stata rivolta al resveratrolo identificato in un numero limitato di piante, arachide, pinoli ed uva. Il resveratrolo, abbondante nell'uva nera e nel vino rosso, è fattore di prevenzione importante per diverse patologie umane poiché inibisce l'aggregazione piastrinica e la coagulazione, modula il metabolismo di glicoproteine, influenza la struttura del collagene. Il composto è il prodotto della reazione tra una molecola di 4-coumaroil-CoA e tre di malonyl-CoA ad opera dell'enzima stilbene sintasi (2).

Gli enzimi utilizzati nell'industria alimentare sono soprattutto di tipo idrolitico e vengono impiegati principalmente nella trasformazione di materie prime vegetali ed animali e nella produzione di bevande. Gli enzimi più importanti per l'industria alimentare sono: alfa-amilasi, glucoamilasi, glucosio

isomerasi per la lavorazione di materie prime amidacee e zuccherine; la chimasi vegetale viene estratta dal lattice di fico o dal carciofo selvatico ed utilizzata nei processi di caseificazione del latte; la papaina e la pectinasi trovano impiego nella chiarificazione di bevande ricavate da frutta; le lipasi nella degradazione dei grassi; e l' α -galattosidasi viene utilizzata per la trasformazione dello zucchero del latte, il lattosio, nei suoi componenti di base, rendendo così il latte adatto al consumo anche per gli individui intolleranti al lattosio.

La lipossigenasi e l'idroperossidasi sono due enzimi-liasi presenti nelle olive la cui importanza risiede nel fatto che essi sono responsabili delle caratteristiche organolettiche dell'olio d'oliva. L'attività di tali enzimi può variare in dipendenza della cultivar, del periodo di maturazione, della temperatura e delle condizioni tecnologiche di produzione dell'olio stesso. L'aroma ed altre caratteristiche sensoriali sono dovute a molecole volatili a basso peso molecolare ottenute per degradazione degli acidi grassi polinsaturi ad opera degli enzimi lipossigenasi che sono presenti nella polpa delle olive e svolgono la loro azione durante le fasi della macinazione e della gramolatura. Gli enzimi agiscono prevalentemente sugli acidi linoleico e linolenico rilasciati dai fosfolipidi e dai

trigliceridi originando le sostanze volatili caratterizzanti l'aroma dell'olio. Ricerche scientifiche hanno dimostrato che sia il tempo impiegato nelle operazioni di frangitura e gramolatura, sia la temperatura influenzano l'attività enzimatica e di conseguenza incidono sull'aroma e sul sapore dell'olio.

Gli enzimi α -galattosidasi sono presenti in semi, frutti, foglie e soprattutto nei tuberi e vengono classificati come acidi o basi in dipendenza del pH ottimale richiesto per assolvere alle loro funzioni, in quanto essi possono esplicare funzioni diverse proprio in dipendenza dell'acidità del mezzo in cui si trovano. Durante la germinazione dei semi di leguminose le α -galattosidasi svolgono un ruolo importante nella mobilitazione del galattosio presente negli oligosaccaridi della famiglia del raffinose (stachiosio e verbascosio) e nel raffinose stesso. Tali oligosaccaridi sono presenti nei semi come riserva energetica e durante la fase germinativa le α -galattosidasi, idrolizzando i legami, forniscono l'energia necessaria per lo sviluppo della futura pianta a scapito degli oligosaccaridi che diminuiscono dopo l'imbibizione dei semi.

Gli enzimi α -galattosidasi svolgono anche un ruolo importante nei semi di caffè essendo responsabili dell'aroma e della degradazione degli oligosaccaridi del raffinose durante la germinazione.

Nel settore biotecnologico, grazie alla loro capacità di idrolizzare raffinose tali enzimi sono impiegati durante la lavorazione della melassa di barbabietola da zucchero per facilitare la cristallizzazione e, di conseguenza, migliorare la resa di saccarosio. È stato proposto l'impiego delle α -galattosidasi per abbattere gli oligosaccaridi del raffinose nel latte di soia ed in altri prodotti alimentari derivati da leguminose essendo tale oligosaccaride causa di disturbi intestinali e per ridurre l'assorbimento di sostanze nutritive sia negli uomini che in tutti gli animali monogastrici.

Attività idrolitiche di varia natura sono operate da enzimi quali beta-galattosidasi, beta-mannosidasi e alfa-glucosidasi, che risultano molto utili in diverse applicazioni nel settore farmaceutico. In special modo la beta-galattosidasi si è rivelata utile non solo per la modifica strutturale di alcuni farmaci antivirali ma anche per l'idrolisi selettiva di alcuni legami beta-galattosidici (in particolare legami beta-1,3) in molecole naturali. Allo stesso modo la beta-mannosidasi e l'alfa-glucosidasi sono capaci di formare e scindere i legami di questi zuccheri. La beta-mannosidasi potrebbe trovare applicazioni interessanti per il trattamento di scarti vegetali a base di mannani mentre l'alfa-glucosidasi ha caratteristiche di efficienza particolari per la sin-

tesi del trisaccaride panosio (componente di probiotici) a partire dal disaccaride maltosio e per la modifica strutturale della vitamina B6 e di altri prodotti naturali come la naringina, responsabile del gusto amaro del succo di pompelmo.

Le fitasi sono enzimi appartenenti al gruppo delle fosfatasi che catalizzano l'idrolisi dell'acido fitico generalmente a monofosfato inorganico ed esteri fosforici, talvolta a mio-inositolo monofosfato libero. L'acido fitico è il maggior componente degli alimenti di origine vegetale ed assolve a numerosi ruoli fisiologici essendo una fonte di riserva di fosforo per le piante, competitore di ATP, regolatore del livello di fosfato inorganico, fonte di cationi e di mio-inositolo. Caratteristica negativa ai fini nutrizionali è la sua attività complessante nei confronti di minerali e proteine impedendone l'assimilazione (3). Le fitasi sono presenti nei chicchi, nei semi e nel polline di molte piante quali cereali, legumi, semi oleosi, noci, ed in piccole quantità nelle radici delle piante. La fitasi presente nei semi e nel polline agisce degradando il fitato durante la fase di germinazione in modo da rendere disponibile il fosfato, i sali minerali, ed il mio-inositolo per la crescita e lo sviluppo della pianta. Nelle radici le fitasi determinano un aumento della disponibilità di fosforo per il terreno (4). La degradazione del fitato

assume un'importante valenza nutrizionale poichè la rimozione dei gruppi fosforici dall'anello dell'inositolo comporta una minore attrazione del fitato verso i minerali con aumento della loro solubilità e quindi della biodisponibilità. È stata dimostrata l'efficacia dell'aggiunta di fitasi nei cereali e legumi in relazione all'aumento di concentrazione di fosforo, calcio, magnesio e ferro nel plasma e nelle ossa; miglioramenti tecnologici sono stati riscontrati per aggiunta di fitasi durante la preparazione del pane o di isolati proteici vegetali nel processo di frazionamento della crusca (5).

La laccasi è un enzima ossido-riduttasi contenente rame (0,33%) isolata la prima volta dalla cortecchia di *Rhus vernicifera*, ma presente anche nelle patate, nelle mele, nei funghi e svolge un ruolo importante nella produzione di pigmenti e negli scambi respiratori delle piante. Questo enzima ha la proprietà di catalizzare l'ossidazione di molti substrati aromatici riducendo contemporaneamente l'ossigeno molecolare ad acqua.

In questi ultimi anni si è avuto un crescente impiego delle laccasi, per la degradazione e la decolorazione di coloranti sintetici: i substrati delle laccasi sono i fenoli che vengono ossidati a chinoni, meno mutagenici e carcinogenici dei loro corrispondenti fenoli (6). Le laccasi possono però anche essere im-

piegate, oltre alla degradazione dei coloranti, anche per degradare pesticidi e le ligno-cellulose, per risanare le acque reflue industriali e, poichè i prodotti di degradazione sono derivati polifenolici, essendo insolubili in acqua sono facilmente eliminabili mediante filtrazione e/o sedimentazione (7).

La rimozione selettiva di fenolo derivati è necessaria anche per la stabilizzazione delle bevande, come succhi di frutta, vino e birra, anche se l'aggiunta di enzimi come additivi non è stata ancora approvata dalla normativa vigente. Di recente è stata messa in commercio una laccasi per il trattamento dei tappi di sughero destinato alla tenuta delle bottiglie di vino, in cui l'enzima agisce attenuando il caratteristico sapore di tappo e di astringente che è spesso impartito al vino in bottiglia di età compresa tra 12 e 13 anni (8).

Gli enzimi vegetali in terapia

L'uso di enzimi in medicina è cominciato utilizzando sostanze di origine animale per facilitare i processi digestivi o, come terapia sostitutiva, nel trattamento dell'insufficienza pancreatica. Gli enzimi vegetali hanno attirato l'attenzione perché risultano più attivi di quelli animali e svolgono importanti azioni di predigestione degli alimenti.

Estratti vegetali con un elevato contenuto di enzimi proteolitici, sono stati utilizzati per lungo tempo nella medicina tradizionale: la proteasi, ad esempio, quando viene assorbita, opera un'azione selettiva e modulatrice sui complessi immunitari circolanti che sono al contempo responsabili dell'attivazione immunitaria e dei processi infiammatori e allergici. L'azione della proteasi su tali complessi può produrre significativi giovamenti nelle patologie allergiche e autoimmuni come il "lupus", la sclerosi multipla, l'artrite reumatoide, la colite ulcerativa e il morbo di Crohn.

Le ricerche hanno dimostrato come l'assunzione di enzimi proteolitici oralmente o per via endovenosa, aumentava la produzione di macrofagi e pertanto la terapia enzimatica determinava una risposta di regolazione immunitaria alle malattie autoimmuni. Fu osservato, inoltre, che gli enzimi miglioravano anche la circolazione sanguigna, inducevano la riparazione dei tessuti e favorivano la rimozione delle tossine e dei prodotti di scarto metabolico con una migliore assimilazione e trasporto dei nutrienti, aumentando la forza e la resistenza del corpo.

La bromelina è, tra le fonti vegetali, l'enzima certamente più conosciuto. Esso è un enzima proteolitico estratto dal fusto dell'ananas; possiede un'attività fibrinolitica

(anticoagulante e antiaggregante delle piastrine) ed antinfiammatoria. La bromomelina agisce sui mediatori dell'infiammazione, inducendo la produzione di citochine, un elemento chiave del sistema immunitario.

Anche la papaina, un altro enzima di origine vegetale, ha assunto notevole fama in questi ultimi anni; essa viene estratta dalla polpa del frutto della papaya e coadiuva la funzione digestiva alleviando il lavoro del fegato e riducendo la produzione di metaboliti, cioè di quelle sostanze parzialmente digerite che rallentano il transito intestinale. La papaina possiede in aggiunta anche proprietà antinfiammatorie simili alla bromelina dell'ananas.

Di minore interesse farmacologico sono la ficina, enzima estratto dal Fico (*Ficus carica* L.), l'actinidina, enzima estratto dal frutto acerbo del Kiwi (*Actinidia chinensis* Planch.) o altri enzimi congeneri estratti da piante meno diffuse.

Le liasi sono enzimi che catalizzano la rottura di diversi legami chimici con meccanismi differenti che vanno dall'idrolisi all'ossidazione e che implicano la formazione di un nuovo doppio legame o di una struttura aromatica: tipica reazione catalizzata da una liasi è: $ATP \rightarrow cAMP + PP_i$, cioè la conversione dell'ATP in cAMP e pirofosfato in cui viene liberata energia chimica. A questa catego-

ria appartiene anche la alliina liasi, un enzima presente nelle piante del genere *Allium*, come l'aglio e la cipolla. La alliina liasi è responsabile della catalisi delle reazioni chimiche implicate nella produzione dei composti volatili che conferiscono a questi alimenti i caratteristici aromi, odori e proprietà lacrimogene. Nell'aglio, l'alliina liasi converte l'alliina in allicina, mentre nelle cipolle, l'enzima agisce con i gruppi vinilici (-S-OH) delle biomolecole convertendoli nel composto $CH_3-CH_2-CH=S^+-O^-$. Il contatto tra alliina e l'enzima alliinasi porta alla formazione prima di acidi sulfenici intermedi, che si autocondensano velocemente a formare vari tiosulfinati. L'allicina (cisteina sulfossido) è il prodotto principale di questa reazione, rappresenta il componente biologicamente attivo dell'aglio ed è nota per inibire la proliferazione delle cellule e di indurre l'apoptosi (9, 10). Gli effetti dell'allicina sono attribuite alla sua capacità di reagire con i gruppi tiolici. L'applicazione locale di allicina mediante gastroscopia potrebbe inibire la crescita cellulare e la proliferazione del carcinoma gastrico progressivo promuovendo l'apoptosi cellulare.

Preparati di allicina pura hanno evidenziato la sua proprietà antiaterosclerotica agendo non solo come antiossidante, ma con mecca-

nismo diverso, quale la modificazione delle lipoproteine ed inibizione della diffusione e degradazione delle LDL mediante i macrofagi (11, 12).

Il meccanismo preciso di azione del tiosulfinato non è stato dimostrato, tuttavia, a basse concentrazioni, l'allicina sembrerebbe reagire in particolare con il gruppo libero sulfidrilico presente nel sito attivo della cisteina proteasi. Esperimenti con il parassita intestinale *Entamoeba histolytica* hanno dimostrato che l'allicina pura inibisce sia gli effetti citopatologici associati alle infezioni che la crescita del parassita, per effetto inibitorio sulla cisteina proteasi del parassita. L'attività antimalarica dell'allicina, inoltre, è stata evidenziata con esperimenti condotti sulla sua attività inibitoria nei confronti della cisteina proteasi durante le fasi del ciclo di vita del *Plasmodium malariae*, che necessita della cisteina proteasi per la sua riproduzione (13).

La malattia di Fabry è una rara malattia metabolica legata al cromosoma X, causata dal deficit dell'enzima α -galattosidasi e caratterizzata dall'accumulo progressivo e disseminato di glicosfingolipidi in vari organi e tessuti. L'enzima è essenziale per il processo di riciclaggio che avviene all'interno delle cellule; esso infatti, all'interno dei lisosomi, distacca il galattosio legato in α da sfingolipidi com-

plexi garantendo quindi il riutilizzo di questi prodotti. Si manifesta prevalentemente ed in modo più grave nei maschi emizigoti e le manifestazioni cliniche principali sono a carico di cute, reni, cuore, occhi e sistema nervoso.

Poiché la malattia di Fabry è causata da una singola deficienza enzimatica la somministrazione esogena dell'enzima α -galattosidasi rappresenta lo strumento ideale per curare questa patologia enzimatica deficitaria. La terapia enzimatica sostitutiva è efficace soprattutto quando il suo utilizzo è precoce ed i danni da accumulo possono addirittura regredire (14). Diversi studi hanno dimostrato che la terapia enzimatica sostitutiva porta numerosi benefici ai pazienti che, oltre a condurre una vita migliore, hanno una riduzione del dolore, associato alla malattia, stabilizzando e migliorando la funzione renale e quella cardiaca (15). Tale effetto della terapia è dovuto alla riduzione del materiale accumulato nelle diverse cellule a causa della carenza enzimatica.

La tirosinasi, meglio conosciuta come polifenolo-ossidasi, è un enzima contenente ioni rameici; essa è presente in molti vegetali e frutti ed è responsabile del fenomeno dell'imbrunimento, derivante da reazioni di ossidazione catalizzate da tale enzima. L'imbrunimento enzimatico non avviene nelle cel-

lule vegetali integre, poiché i composti fenolici che costituiscono il substrato, presenti nei vacuoli, sono separati dalle polifenolo-ossidasi presenti nel citoplasma. Quando i tessuti vengono danneggiati, si ha subito la formazione di pigmenti scuri, con una velocità dipendente dalla concentrazione di polifenoli e polifenolo-ossidasi, dal pH, dalla temperatura e dalla presenza di ossigeno. Le polifenolo-ossidasi sono ampiamente distribuite nel regno vegetale ed oltre ad essere responsabili del fenomeno di imbrunimento nei casi di stress da taglio, svolgono azione protettiva verso l'attacco di insetti e microrganismi. La loro azione si esplica utilizzando come substrato i composti fenolici che vengono ossidati a chinoni, i quali polimerizzano con formazione di melanine che mostrano attività antibatterica ed antifungina.

La tirosinasi è l'enzima responsabile della produzione di melanina nei melanociti normali e nelle cellule di melanoma; inoltre, è stato dimostrato che esiste una attività auto-immune anti-tirosinasi sia nel melanoma che nella vitiligine con conseguente innalzamento del titolo di IgG nel siero dei pazienti sotto osservazione. La vitiligine è una malattia auto-immune caratterizzata da ipopigmentazione e totale esaurimento dei melanociti nello strato basale dell'epidermide, ed è stato dimostrato che gli anti-

corpi presenti nei pazienti con vitiligine sono in grado di distruggere le cellule di melanoma "in vitro" e "in vivo". Inoltre, questi anticorpi, che possono essere recuperati sfruttando la loro affinità per la tirosinasi, non presentano reazione crociata con altri antigeni che possono essere presenti nelle diverse malattie auto-immuni, né bloccano l'attività della tirosinasi perché non interagiscono con il sito catalitico di tale enzima. Questo indica che la tirosinasi agisce come un autoantigene e rappresenta un importante marcatore per la vitiligine (16).

Studi recenti hanno evidenziato l'utilità di somministrazione della tirosinasi per pazienti colpiti dal morbo di Parkinson, malattia caratterizzata principalmente dalla degenerazione dei neuroni dopaminergici in seguito alla insufficiente trasformazione della L-tirosina in L-DOPA, precursore della dopamina. Fino ad oggi, la terapia più comune impiegata per la cura di questa malattia è stata la somministrazione della L-DOPA, che però ha, seri effetti collaterali. Esperimenti condotti su ratti ai quali è stato iniettato per via intraatriale una soluzione di liposomi contenente tirosinasi aumentava significativamente il contenuto della dopamina intracerebrale: l'iniezione per via sistemica innalzava i livelli ematici di L-DOPA (17).

Conclusioni

Gli enzimi, negli ultimi decenni, hanno assunto grande importanza nei processi tecnologici dell'industria alimentare nella quale vengono soprattutto utilizzati enzimi di tipo idrolitico quali carboidrasi, proteasi e lipasi, per la trasformazione del mais, dei latticini, della carne e nella produzione di bevande. In particolare vengono impiegati alfa-amilasi, glucoamilasi, glucosio isomerasi per la lavorazione di materie prime amidacee e zuccherine, papaina e pectinasi nella chiarificazione di bevande ricavate da frutta, lipasi nella degradazione dei grassi e lattasi per la trasformazione del lattosio, nei suoi componenti di base, rendendo così il latte adatto al consumo anche per gli individui intolleranti al lattosio.

Bisogna tuttavia sottolineare che soltanto alcune specie enzimatiche hanno un uso ampio e diffuso: infatti pur conoscendo enzimi potenzialmente utili, non vengono ancora utilizzati, sia perchè disponibili in quantità troppo esigua, sia perchè non è ancora stata evidenziata la completa sicurezza per essere incorporati in alimenti. Tuttavia, appare interessante la possibilità di produrre alimenti adatti a particolari esigenze dietetiche, impiegando ad esempio enzimi lipolitici capaci di ridurre il contenuto di colesterolo e degradare gli acidi grassi.

Per la salute del consumatore è importante assicurare la buona qualità degli alimenti anche dopo un lungo periodo di conservazione: test enzimatici permettono un controllo della qualità degli alimenti in tempi minori dei normali controlli di laboratorio. Batteri, muffe, tossine microbiche e residui di pesticidi e di farmaci sono tra i contaminanti che più seriamente preoccupano i produttori di alimenti, consumatori ed organismi preposti alla regolamentazione e al controllo del settore. I saggi tradizionali richiedono processi di arricchimento, isolamento ed identificazione nel caso di contaminanti microbici, laboriosi test cromatografici in estratti più o meno concentrati, procedimenti di analisi lunghi e tediosi.

Una soluzione più rapida ed efficace consiste nello sviluppo di particolari biosensori che, opportunamente progettati, consentono identificazione e quantificazione delle sostanze singole o dei microrganismi di cui si voglia determinare la presenza, nel campione grezzo evitando così le operazioni di purificazione. I saggi immunoenzimatici, ad esempio, possono rilevare la presenza di un microrganismo patogeno quale *Listeria*, *Salmonella*, in un tempo di tre-sei giorni, mentre i tempi per l'identificazione del contaminanti chimici quali antibiotici, sulfamidici, aflatossine e insetticidi pos-

sono essere ridotti da due a un solo giorno.

In campo medico con la terapia enzimatica da sola o associata a farmaci si sono ottenuti risultati positivi in molti casi clinici. Importanti risultati sono stati ottenuti nel trattamento di alcune malattie del metabolismo intermedio, caratterizzate dall'accumulo di metaboliti tossici, escludendo o riducendo l'apporto di specifici substrati non metabolizzati e impiegando complessi enzimatici.

L'attuale ricerca clinica ha osservato numerosi benefici nei pazienti affetti da neoplasie con l'uso di enzimi proteolitici. Sono stati riportati miglioramenti sia della condizione generale e della qualità della vita, sia per quanto concerne l'aspettativa di vita. Per pazienti affetti da tumori del pancreas non operabili è stato rilevato un incremento della sopravvivenza adottando un programma dietetico disintossicante e somministrando enzimi proteolitici vegetali. La terapia enzimatica, in associazione con integratori alimentari, nell'ambito della bioterapia nutrizionale, è in grado di ridurre gli effetti provocati dalla radioterapia e chemioterapia, con il beneficio, in alcuni casi, di prolungare la sopravvivenza dei pazienti trattati. L'effetto benefico della terapia enzimatica sembra essere basata sul suo potenziale anti-infiammatorio, anche se, ancora oggi, non è del

tutto chiarito il meccanismo di azione.

Bibliografia

1. Chichoke A. Enzymes and enzyme therapy. New Canaan, 1994: 191.
2. Versari A, Parpinello GP, Tornelli GB, Ferrarini R, Giulivo C. Stilbene compounds and stilbene synthase expression during ripening, wilting, and UV treatment in grape cv Corvina. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 5531-6.
3. Lopez HW, Leenhardt F, Coudray C, Remesy C. Minerals and phytic acid interaction: Is it a real problem for human nutrition? *International J of Food Science and Technol* 2002; 37: 727-39.
4. Findenegg GR, Nelemans JA. The effect of phytase on the availability of P from myo-inositolhexaphosphate (phytate) for maize roots. *Plant soil* 1993; 154: 189-96.
5. Lei XG, Porres JM. Phytase enzymology, applications and biotechnology. *Biotech Letters* 2003; 25: 1787-94.
6. Maye AM, Staples RC. Laccases: new functions for an old enzyme. *Phytochemistry* 2002; 60: 551-65.
7. Torres E, Bustos-James I, Le Borgne S. Potential use of oxidative enzymes for the detoxification of organic pollutants. *Appl Catal B: Environ* 2003; 46: 1-15.
8. Minussi RC, Pastore GM, Duran N. Potential applications of laccase in the food industry. *Trends Food Sci Technol* 2002; 13: 205-16.
9. Fujisawa H, Suma K, Origuchi K, Seki T, Ariga T. Thermostability of allicin determined by chemical and biological assays. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008; 72 (11): 2877-83.
10. Fujisawa H, Suma K, Origuchi K, Kumagai H, Seki T, Ariga T. Biological and chemical stability of garlic derived allicin. *J Agric Food Chem* 2008; 56 (11): 4229-35.
11. Gardner CD, Lawson LD, Block E, et al. Effect of raw garlic vs commercial garlic supplement on plasma lipid concentrations in adult with moderate hypercholesterolemia: a randomized clinical Trial. *Arch Intern Med* 2007; 167 (4): 346-53.
12. Cho SJ, Rhee DK, Pyo S. Allicin, a major component of garlic, inhibits apoptosis of macrophage in a depleted nutritional state. *Nutrition* 2005; 22 (11-12): 1177-84
13. Coppi A, Cabinian M, Mirelman D, Sennis P. Antimalarial activity of allicin, a biologically active compound from garlic cloves. *Antimicrob. Agents Chemother* 2006; 50 (5): 1731-7.
14. Kint JA. Fabry's disease, α -galactosidase deficiency. *Science* 1970; 167: 1268-9.
15. Eng CM, Guffon N, Wilcox WR, et al. Safety and efficacy of recombinant human α -galactosidase A replacement in Fabry's disease. *N Engl J Med* 2001; 345: 9-16.
16. Giannetti A. *Trattato di dermatologia*. Piccin Nuova libreria Spa, 1986.
17. Amicarelli F, Gasbarri A, Masciocco L, et al. The effect of intraatrial injection of liposome-entrapped tyrosinase on the dopamine levels in the rat brain. *Cell Mol Biol* 1999; 45: 1093-7.