

Pharmanutrition and Functional Foods

TRIMESTRALE DI AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO

ORGANO UFFICIALE

SINut
Società Italiana di Nutraceutica

La SINut ed il perché di "Pharmanutrition and Functional Foods"

Arrigo F.G. Cicero 5

Nutrizione in psichiatria: un approccio sperimentale per la regolazione del HPA e della sindrome metabolica negli individui schizofrenici

Filippo D'Amico 6

Esiste una terza via per il trattamento dell'ipercolesterolemia e dell'ipertrigliceridemia? Il ruolo degli alimenti funzionali e dei nutraceutici

Roberto Volpe 10

Lenticchie: molto più che un semplice alimento natalizio

Giovanni Caprioli, Manuela Cortese, Michele Genangeli, Federica Giusti, Massimo Ricciutelli, Gianni Sagratini, Sauro Vittori 13

I glicosidi della *Stevia* come nutraceutici ad effetto insulino-simile

Diana Fiorentini, Cecilia Prata, Laura Zambonin, Tullia Maraldi, Silvana Hrelia 18

Approccio nutraceutico combinato del rischio cardiovascolare stimato: uno studio clinico pilota, randomizzato in doppio cieco

Arrigo F.G. Cicero, Martina Rosticci, Marilisa Bove, Elisa Grandi, Marina Giovannini, Sergio D'Addato 23

Pharmanutrition and Functional Foods

Anno I, N. 1 - Marzo 2016
TRIMESTRALE DI AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO
Registrazione presso Tribunale di Milano N. 93 del 23/03/2016

EDITORE SINERGIE S.r.l., Edizioni Scientifiche
Via La Spezia, 1 - 20143 Milano
Tel. 02 58118054 - Fax 02 8322004
redazione@edizionisinergie.com
www.edizionisinergie.com

DIRETTORE RESPONSABILE Mauro Rissa (Milano)

DIRETTORE SCIENTIFICO Arrigo F.G. Cicero (Bologna)

BOARD SCIENTIFICO Maria Antonietta Bianchi (Varese)
Davide Grassi (L'Aquila)
Enzo Grossi (Milano)
Fabrizio Muratori (Como)
Maria Letizia Petroni (Rimini)
Gianluca Scuderi (Roma)
Sauro Vittori (Camerino)

SEGRETERIA DI REDAZIONE SINERGIE S.r.l., Edizioni Scientifiche

IMPAGINAZIONE SINERGIE S.r.l., Edizioni Scientifiche

STAMPA Galli Thierry Stampa S.r.l.
Via Caviglia, 3 - 20139 Milano

TIRATURA 1.000 copie

Pharmanutrition and Functional Foods

TRIMESTRALE DI AGGIORNAMENTO SCIENTIFICO

La SINut ed il perché di “Pharmanutrition and Functional Foods”

Arrigo F.G. Cicero 5

Nutrizione in psichiatria: un approccio sperimentale per la regolazione del HPA e della sindrome metabolica negli individui schizofrenici

Filippo D'Amico 6

Esiste una terza via per il trattamento dell'ipercolesterolemia e dell'ipertrigliceridemia? Il ruolo degli alimenti funzionali e dei nutraceutici

Roberto Volpe 10

Lenticchie: molto più che un semplice alimento natalizio

Giovanni Caprioli, Manuela Cortese, Michele Genangeli, Federica Giusti, Massimo Ricciutelli, Gianni Sagratini, Sauro Vittori 13

I glicosidi della *Stevia* come nutraceutici ad effetto insulino-simile

Diana Fiorentini, Cecilia Prata, Laura Zambonin, Tullia Maraldi, Silvana Hrelia 18

Approccio nutraceutico combinato del rischio cardiovascolare stimato: uno studio clinico pilota, randomizzato in doppio cieco

Arrigo F.G. Cicero, Martina Rosticci, Marilisa Bove, Elisa Grandi, Marina Giovannini, Sergio D'Addato 23

EDITORIALE

La SINut ed il perché di “Pharmanutrition and Functional Foods”

SINut – Società Italiana di Nutraceutica – nasce nell’aprile 2009 per volontà del prof. Cesare R. Sirtori, noto farmacologo milanese ed attuale Presidente onorario della SINut, come associazione senza fini di lucro, con lo scopo di promuovere ricerche e studi in ambito nutraceutico.

La nutraceutica - nuova disciplina, in grande sviluppo a livello mondiale - studia gli estratti di piante, animali, minerali e microrganismi, impiegati come nutrienti isolati, supplementi o diete specifiche.

I nutraceutici determinano effetti benefici per la salute, in particolare per la prevenzione e il trattamento delle malattie croniche; questi effetti devono essere rigorosamente dimostrati con appropriati studi, sperimentali e clinici.

Attraverso l’istituzione e il coordinamento di programmi scientifici mirati, e mettendo in contatto studiosi di discipline diverse, SINut vuole stimolare l’attività scientifica e didattica in questo campo. A partire dai laureati in discipline nutraceutiche, al fine di valorizzarne la professionalità, anche attraverso iniziative tese alla creazione di un Albo Professionale.

Senza tralasciare programmi di aggiornamento scientifico, didattico e professionale finalizzati alla formazione e al miglioramento della qualificazione professionale degli iscritti, e all’aggiornamento costante degli operatori del settore, attraverso programmi annuali di attività formativa ECM (secondo quanto stabilito dalla Commissione Nazionale per la Formazione Continua) e eventi mirati.

SINut si impegna inoltre a promuovere corsi e congressi,

a livello regionale, nazionale e internazionale. Ogni anno si fa organizzatrice del **Congresso Nazionale di Nutraceutica**.

SINut è inoltre attivamente impegnata nella realizzazione di pubblicazioni e altro materiale editoriale volto alla promozione di iniziative scientifiche e organizzative del settore.

In questo contesto, dopo 7 anni di attività della Società, in qualità di secondo Presidente della SINut in accordo con il Consiglio Direttivo in carica, ho deciso di creare una rivista societaria. “Pharmanutrition and Functional Foods” nasce quindi come organo di divulgazione editoriale della SINut. Ma esisteva la necessità di una nuova rivista scientifica? In senso stretto probabilmente la risposta generale sarebbe negativa. Infatti esistono ottime riviste internazionali che si interessano del tema della nutraceutica e dell’alimentazione funzionale. Tuttavia sullo scenario italiano una rivista scientifica italiana ha il compito fondamentale di aumentare la cultura sulla nutraceutica anche fra colleghi non necessariamente abituati a leggere letteratura in lingua inglese. Inoltre, essendo la nutraceutica un campo in piena evoluzione ma relativamente giovane, era importante creare un contenitore aperto a segnalazioni preliminari derivati anche da trials clinici pilota di piccole dimensioni, da serie di casi e/o da studi osservazionali, che difficilmente trovano spazio in riviste “maggiori” che pubblicano prevalentemente studi di grandi dimensioni, condotti contro placebo e/o caratterizzati da vari livelli di complessità. La rivista SINut quindi non è solo la rivista per i soci SINut, ma per chiunque abbia un interesse specifico per gli argomenti approfonditi dalla Società. Quindi, buona lettura del numero 1/2016 di Pharmanutrition and Functional Foods!

Arrigo F.G. Cicero
Presidente SINut

Nutrizione in psichiatria: un approccio sperimentale per la regolazione del HPA e della sindrome metabolica negli individui schizofrenici

Filippo D'Amico

Università Degli Studi di Messina

Background: L'aumento delle evidenze verso l'efficacia dei singoli agenti nutrizionali nella schizofrenia suggerisce la necessità di interventi combinatori.

Obiettivo: Abbiamo deciso di determinare se l'intervento nutrizionale potrebbe avere un impatto positivo nei criteri di sindrome metabolica, funzionalità HPA e vitamina D. Inoltre come questo migliora la qualità della vita e i sintomi della schizofrenia.

Metodi: Uno studio case series è stato condotto in 24 soggetti residenti in comunità affetti da schizofrenia. I pazienti sono stati sottoposti a una formulazione nutrizionale per 6 settimane.

Risultati: I pazienti hanno riferito un miglioramento dei criteri diagnostici della sindrome metabolica (Trigliceridi $p < 0.01$, glicemia $p < 0,05$), della funzionalità di HPA ($p < 0.01$), misurata dal rapporto DHEAS/CORTISOLO, e nella concentrazione di vitamina D ($p < 0.01$). Il miglioramento si è riflesso sulla qualità della vita, misurato dalla scala psicometrica Q-LES-Q, in particolare nella voce sensazione soggettiva di benessere e piacere riguardo la propria condizione fisica ($p < 0.01$). La PANSS non è cambiata, si presume a causa del periodo di osservazione limitato.

Conclusioni: L'approccio nutrizionale risulta essere un mezzo fondamentale nel trattamento della schizofrenia come supplemento degli approcci farmacologici.

Introduzione

Al giorno d'oggi, la nutrizione è divenuta un target terapeutico molto importante nell'ambito della scienza medica. Il rilievo che essa ha raggiunto, nel corso degli ulti-

mi anni, è dovuto sia al facile approccio ad essa che alla straordinaria polifunzionalità degli alimenti. Se, da un lato, una buona alimentazione si traduce in un ottimo mezzo preventivo e terapeutico, dall'altro, un'alimentazione malsana predispone ed induce i soggetti verso numerose patologie. Gli studi di nutraceutica, nutrigenetica e nutrigenomica, nonché l'analisi degli alimenti funzionali, hanno riempito la letteratura degli ultimi anni, influenzando il mondo della salute mentale, che ne ha fatto propri i risultati [1]. Basti pensare che il cervello è l'organo più grasso del nostro corpo [2] e che consuma il 20% delle energie del nostro organismo [3]; o ancora, che dall'alimentazione traggono origine i precursori dei neurotrasmettitori [4] e i componenti delle membrane biologiche [5]. Queste preliminari osservazioni, di per sé sole, inducono a riflettere sul ruolo dell'alimentazione nelle funzioni cerebrali. Ma c'è altro: la ricerca negli ultimi anni si sta concentrando sulla funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene [6,7] e sui rapporti tra intestino, microbiota e cervello, trovando in essi un possibile risvolto pratico [8,9]. In un quadro dove l'infiammazione e lo stress ossidativo svolgono un ruolo importante nella modulazione delle funzioni fisiologiche e patologiche, la nutrizione può dare delle risposte sorprendenti [10]. Numerosi studi hanno indagato sull'efficacia dei singoli nutrienti nella schizofrenia [11]. Nel nostro studio abbiamo valutato gli effetti di un protocollo alimentare sullo stato biologico e psicologico della schizofrenia.

Metodo

Preparazione del protocollo alimentare

Alla luce dei dati raccolti, si è proceduto con la formulazione di un protocollo alimentare che inglobasse tutte le attuali conoscenze sul ruolo della nutrizione nei disturbi psichiatrici. Si è voluto, in prima istanza, eliminare tutte le conseguenze nocive di un'alimentazione malsana; quindi,

si è proceduto ad eliminare da essa tutte le sostanze alimentari che potessero indurre, anche in maniera subclinica, lo sviluppo dell'infiammazione causata da intolleranze, autoimmunità o alterazioni del microbiota intestinale. È stato affrontato, perciò, il problema dell'eliminazione, dalla dieta quotidiana, dei latticini, della riduzione dell'eccesso di acidi grassi saturi, carboidrati, glutine e proteine della carne, introducendo, di contro, probiotici e prebiotici [12]. Inoltre, si è dovuta prendere in considerazione l'esistenza di eventuali carenze alimentari cercando di fornire il necessario apporto energetico, vitaminico e minerale. E ancora, si è scelto di sfruttare il potere nutraceutico e funzionale degli alimenti, introducendo cibi aventi tali proprietà (omega-3, flavonoidi, polifenoli, antiossidanti, ecc.) [13]. Tutto questo senza sottovalutare l'equilibrio indotto da una dieta ben strutturata, composta da cinque pasti al giorno e con un apporto calorico decrescente nell'arco della giornata, alle funzionalità del sistema simpatico e parasimpatico [14]; nonché i vantaggi di un ambiente alcalino per il sistema nervoso vegetativo [15]. Una volta programmato il protocollo alimentare, i pazienti si sono sottoposti ad esso per due mesi consecutivi. La tabella 1 mostra un esempio di dieta applicata per un giorno.

Pazienti

I pazienti sono stati selezionati nelle comunità del progetto STAR della provincia di Messina. I criteri di inclusione dello studio prevedevano:

- 1) Diagnosi di "Schizofrenia, disturbo schizotipico e disturbi deliranti (F20-F29)" secondo i criteri del ICD-10.
- 2) in trattamento con almeno un farmaco antipsicotico.

3) assenza di variazioni della terapia durante il periodo di studio.

4) anni di malattia superiori a 10. Nell'arco di tempo specificato sono ricoverati presso i centri 48 pazienti.

35 di essi sono stati reclutati per lo studio in quanto rispondenti ai criteri di inclusione ed esclusione stabiliti nel protocollo dello studio. Durante il corso dello studio 11 pazienti sono stati esclusi dallo studio poiché:

- Dimessi o trasferiti in altre strutture: 6 pazienti
- Non aderenti al protocollo alimentare: 4 pazienti
- Modifica della terapia farmacologica: 1 paziente

Il campione clinico è risultato così composto:

- Disturbo Schizoaffettivo: 10 pazienti
- Schizofrenia: 14 pazienti

Analisi statistica

Per la costruzione del database e dell'analisi statistica si è utilizzato Excel. È stata condotta un'analisi statistica descrittiva, attraverso il calcolo della Media e il confronto tra i valori di ogni scala psicometrica e di laboratorio prima e dopo il protocollo. Per il confronto tra le medie si è proceduto nel modo seguente per ciascuna variabile:

- Controllo della normalità della distribuzione con l'apposito test (ShapiroWilk normalità test),
- Applicazione del test t di Student

È stata effettuata un'analisi di correlazione calcolando i coefficienti di correlazione di Pearson. In questo studio sono stati calcolati i valori per valutare la correlazione esistente tra:

ESEMPIO DI PROGRAMMA ALIMENTARE QUOTIDIANO

GIORNO 1

Colazione	Yogurt con probiotici, ovomaltina, banana, semi di soia, cioccolato fondente
Metà mattina	Insalata di frutti di bosco viola e rossi e frutta secca
Pranzo	Legumi/verdure
Metà pomeriggio	Thè verde con miele e cannella
Cena	Pesce azzurro/verdure/frattaglie
Dopo cena	Tisana alle erbe
Condimenti	Spezie (curcuma, zenzero ecc.), olio di lino, bergamotto

Tab. 1

- I valori della scala psicometrica PANSS,
- Il rapporto DEAS/CORTISOLO

È stata valutata la significatività statistica per $p < 0.05$.

Risultati

Come riportato nella tabella 2, vi sono state delle modifiche ai parametri biologici statisticamente significative. I pazienti hanno riportato un miglioramento nei valori dei trigliceridi ($p < 0.01$) e nella glicemia ($p < 0.05$). Inoltre vi è stato un miglioramento del rapporto DHEAS/CORTISOLO ($p < 0.01$) e della vitamina D ($p < 0.01$). Appare necessario sottolineare come, in accordo con la letteratura, i pazienti avevano nel 87,5% dei casi era carente in questi parametri. Gli indici di correlazione hanno riscontrato la correlazione esistente tra i valori dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e i valori metabolici al tempo T0 ($0 > P_{xy} < 0.3$). A riguardo dei valori della scala psicometrica PANSS non sono state rilevate variazioni statisticamente significative, invece vi sono state delle modifiche significative ($p < 0.01$) nei valori del Q-LES-Q, in particolare per quanto riguarda "la sensazione soggettiva di benessere e piacere riguardo la propria condizione fisica". Inoltre, le variazioni positive di quest'ultima, sono risultate correlare con le variazioni positive del rapporto DHEAS/CORTISOLO ($0 > P_{xy} < 0.7$).

Discussione

Come riportato dalla letteratura, i pazienti schizofrenici riportano un aumento del rischio di incidenza della sindrome metabolica. Questo causa nei pazienti un aumentato rischio di mortalità e morbidità [16]. Nel nostro studio, i pazienti han-

no migliorato i valori di glicemia e trigliceridi, riducendo il rischio di sviluppare la sindrome metabolica. È noto inoltre che questi fattori sono coinvolti nei meccanismi patogenetici della malattia [17]. In tutti i pazienti esaminati, in accordo con la letteratura, sono state riportate delle anomalie riguardanti i valori della vitamina D e della funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. La vitamina D ha importanti effetti immunomodulatori ed è coinvolta nell'aumento di incidenza della schizofrenia [18]. Le anomalie dell'asse HPA possono portare ad una disregolazione di vari sistemi, tra i quali quello ormonale, metabolico e neurotrasmettitoriale. È inoltre noto che questi sistemi si regolano a vicenda [7]. Il protocollo nutrizionale, altamente indirizzato nella regolazione di questi ultimi due fattori, ha comportato un miglioramento in entrambi. Inoltre è stata rilevata una correlazione statisticamente significativa tra le anomalie metaboliche e il sistema HPA, e di quest'ultimo con la sintomatologia psichica. Questo induce a pensare che il sistema HPA possa porsi come *trait-d'union* tra la malattia psichiatrica e le anomalie metaboliche. È stato inoltre verificato come si sono ripercosse queste modifiche sullo stato psichico dei pazienti. La manifestazione psichica della patologia, misurata tramite la PANSS, non ha riportato miglioramenti statisticamente significativi, ipotizziamo a causa del breve tempo dello studio. Invece miglioramenti sono stati riportati nella soddisfazione e piacere, da parte degli stessi pazienti, sul proprio stato di salute. A supporto del risultato è che un miglioramento della qualità della vita non sia solo un rilievo di natura psicosociale, ma il fatto che questo agisca, tramite meccanismi psicobiologici, sulla malattia psichiatrica e che ad essa, come riportato nel nostro studio, sia direttamente correlata.

PROFILO DELLE MEDIE E DELLE RISPETTIVE DEVIAZIONI STANDARD PER I VALORI CONSIDERATI ALL'INIZIO E ALLA FINE DELLO STUDIO

	MEDIA T0	MEDIA T1
TRIGLICERIDI	130,57 ± 65,4	116,44 ± 17,73
GLICEMIA	88,7 ± 27,47	80,98 ± 16,82
DHEAS/CORTISOLO	15,48 ± 11,15	18,60 ± 6,19
VITAMINA D	18,38 ± 17,91	33,57 ± 8,13

Tab. 2

BIBLIOGRAFIA

1. Sarris J, Logan AC, Akbaraly TN, Amminger GP, Balanzá-Martínez V, Freeman MP, Hibbeln J, Matsuoka Y, Mischoulon D, Mizoue T, Nanri A, Nishi D, Ramsey D, Rucklidge JJ, Sanchez-Villegas A, Scholey A, Su KP, Jacka FN; International Society for Nutritional Psychiatry Research. Nutritional medicine as mainstream in psychiatry. *Lancet Psychiatry*. 2015; 2(3): 271-4.
2. Martinez M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr*. 1992; 120(S4): 129-138.
3. Mink JW, Blumenshine RJ, Adams DB. Ratio of central nervous system to body metabolism in vertebrates: its constancy and functional basis. *Am J Physiol* 1981; 241(3): R203-12.
4. Fernstrom JD. Dietary precursors and brain neurotransmitter formation. *Annu Rev Med* 1981; 32: 413-25.
5. Mischoulon D, Freeman MP. Omega-3 fatty acids in psychiatry. *Psychiatr Clin North Am*. 2013; 36(1): 15-23.
6. Stokes PE, Sikes CR. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis in psychiatric disorders. *Annu Rev Med* 1991; 42: 519-31.
7. Jacobson L. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: neuro-psychiatric aspects. *Compr Physiol* 2014; 4(2): 715-38.
8. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*. 2012; 13(10): 701-12.
9. Gershon MD. The enteric nervous system: a second brain. *Hosp Pract*. 1999; 34(7): 31-2, 35-8, 41-2 passim. Review. PubMed PMID: 10418549.
10. Kiecolt-Glaser JK. Stress, Food, and Inflammation: Psychoneuroimmunology and Nutrition at the Cutting Edge. *Psychosom. Med*. 2010; 72(4): 365-369.
11. Arroll MA, Wilder L, Neil J. Nutritional interventions for the adjunctive treatment of schizophrenia: a brief review. *Nutr J*. 2014; 13:91.
12. Minihane AM, Vinoy S, Russell WR, Baka A, Roche HM, Tuohy KM, Teeling JL, Blaak EE, Fenech M, Vauzour D, McArdle HJ, Kremer BH, Sterkman L, Vafeiadou K, Benedetti MM, Williams CM, Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *Calder PC. Br J Nutr*. 2015; 114(7): 999-1012.
13. Gómez-Pinilla F. Brain foods: the effects of nutrients on brain function. *Nature Reviews Neurosci*. 2008; 9(7): 568-578.
14. Singh RB, Weydahl A, Otsuka K, Watanabe Y, Yano S, Mori H, Ichimaru Y, Mitsutake G, Sato Y, Fanghong L, Zhao ZY, Kartik C, Gvozdzakova A. Can nutrition influence circadian rhythm and heart rate variability? *Biomed Pharmacother*. 2001; 55(S1): 115-124.
15. Ghanouni P, Schambye H, Seifert R, Lee TW, Rasmussen SG, Gether U, Kobilka BK. The effect of pH on beta(2) adrenoceptor function. Evidence for protonation-dependent activation. *J Biol Chem*. 2000; 275(5): 3121-7.
16. De Hert M, Schreurs V, Vancapfortd, Van Winkel R Metabolic syndrome in people with schizophrenia: a review. *World Psychiatry* 2009; 8(1): 15-22.
17. Leonard BE, Schwarz M, Myint AM. The metabolic syndrome in schizophrenia: is inflammation a contributing cause? *J Psychopharmacol*. 2012; 26(S5): 33-41.
18. Valipour G, Saneei P, Esmailzadeh A. Serum vitamin D levels in relation to schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99(10): 3863-72.

Esiste una terza via per il trattamento dell'ipercolesterolemia e dell'ipertrigliceridemia? Il ruolo degli alimenti funzionali e dei nutraceutici

Roberto Volpe

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma

Nel trattamento dell'ipercolesterolemia e dell'ipertrigliceridemia, un regime alimentare ipolipidico e, per i trigliceridi, anche ipoglicidico, rappresenta il primo, fondamentale intervento terapeutico. Non sempre, però, esso risulta sufficiente a raggiungere gli obiettivi terapeutici, soprattutto in quei pazienti considerati ad alto rischio cardiovascolare in quanto in prevenzione secondaria oppure perché anche diabetici o perché portatori di un'ipercolesterolemia e/o un'ipertrigliceridemia severa. In questi casi, è necessario ricorrere alla terapia farmacologica. Ma se le statine, in attesa degli studi a lungo termine con gli inibitori della PCSK-9, sono a tutt'oggi i farmaci di riferimento nella terapia delle ipercolesterolemie, in cui hanno dimostrato di ridurre l'incidenza di eventi cardiovascolari del 25-30% [1], esse agiscono solo parzialmente sui trigliceridi. E in effetti, la su citata riduzione del rischio, pur raggiungendo risultati molto importanti, appare incompleta e, non a caso, si parla di rischio residuo legato alla terapia con statine [2]. Da qui la necessità di ridurre anche i trigliceridi, il cui aumento nel sangue rappresenta una problematica molto comune nella pratica clinica, essendo l'alterazione del metabolismo lipidico tipica non solo dell'ipertrigliceridemia pura e dell'iperlipemia combinata, ma anche della sindrome metabolica, del diabete mellito di tipo 2 e dell'obesità, tutte situazioni cliniche molto frequenti. I farmaci ad azione ipotrigliceridemizzante più ampiamente utilizzati (fin dagli anni '70-80) sono i fibrati e l'acido nicotinico. Tra l'altro, entrambi sono in grado di aumentare il colesterolo-HDL che spesso risulta ridotto in caso di ipertrigliceridemia. Purtroppo, però, gli studi in cui sono stati impiegati questi farmaci, se hanno ridotto in maniera significativa gli eventi cardiovascolari nel sottogruppo in cui l'ipertrigliceridemia si associava a un basso colesterolo-HDL, spesso non hanno prodotto un beneficio in termini di mortalità totale [3,4]. Inoltre, il loro impiego è frequentemente gravato da diversi e importanti effetti col-

lateralmente come, ad esempio, colelitiasi, miopatia (anche con le statine), pancreatite, danno renale, rash cutanei. Pertanto, prima di intraprendere una terapia farmacologica che duri tutta la vita (ricordiamo e sottolineiamo che, al pari del diabete, dell'ipertensione arteriosa, anche per le iperlipemie la terapia deve essere cronico-continuativa), in quei pazienti che in prevenzione primaria e senza altri attori di rischio cardiovascolare presentino valori lipidici considerati moderatamente elevati, è preferibile valutare l'opportunità di un trattamento *nutraceutico*, termine che ingloba sia gli alimenti funzionali che le vere e proprie sostanze nutraceutiche.

Con il primo termine vengono indicati i cibi ricchi o artificialmente arricchiti di sostanze naturali (per lo più vegetali) con proprietà salutistiche e azioni farmacologiche ben dimostrate, come, ad esempio, gli alimenti contenenti fibre, fitosteroli, acidi grassi omega-3, proteine della soia. Con i secondi vengono indicate quelle sostanze sempre di estrazione naturale (anch'esse per lo più vegetale) e sempre con azioni farmacologiche ben dimostrate, come, ad esempio, la berberina, le monacoline del riso rosso fermentato, i policosanoli e, ancora, gli omega-3 [2]. Quindi, non è corretto chiamarli integratori, perché con questo termine dobbiamo intendere sostanze come i sali minerali o le vitamine che normalmente sono già incluse nella dieta, ma la cui supplementazione può avere ruolo di integrazione di carenze o di situazioni in cui c'è bisogno di una loro maggiore quota. Il razionale dell'impiego di alimenti funzionali e nutraceutici nasce dalle loro peculiari azioni sull'assorbimento e sulla sintesi del colesterolo e/o dei trigliceridi. E la strategia che prevede il loro impiego nasce dall'inizio degli anni 2000, quando fu suggerita, ad esempio, dal NCEP-ATP III (National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III) o dalla Nutrition Foundation of Italy, per poi essere riba-

dita dalle Linee Guida della Società Europea di Cardiologia (ESC) congiuntamente a quelle della Società Europea di Aterosclerosi (EAS) [5-7].

Tale approccio terapeutico può, quindi, rappresentare una valida strategia per ridurre il rischio cardiovascolare in quei pazienti a rischio non elevato, notoriamente non (adeguatamente) seguiti, in quanto un intervento farmacologico potrebbe apparire prematuro e/o eccessivo (riquadro). Invece, i dati del "Progetto Cuore" ci suggeriscono che, se interveniamo solo sulle persone ad alto rischio, riduciamo effettivamente il rischio in questa fascia di popolazione, ma non la stragrande maggioranza degli eventi che si verifica nel resto della popolazione: gli uomini e le donne con un rischio uguale o superiore al 20% generano, rispettivamente, solo il 25% e il 4% degli eventi, mentre quelli con un rischio inferiore al 20% generano, rispettivamente il 75% e il 96% degli eventi [8]. In altri termini, paradosso del rischio (e della prevenzione) cardiovascolare, un basso rischio a cui è esposta tutta la popolazione produce, in termini assoluti, un danno maggiore di quello derivato da un rischio elevato al quale è esposto solo un piccolo gruppo di persone. Il razionale, quindi, di un intervento nutraceutico efficace è proprio quello di ridurre il livello del fattore di rischio evidenziato, con l'obiettivo finale di un sostanziale effetto preventivo sulla popolazione a rischio moderato o basso.

Limiti e precauzioni

I nutraceutici hanno un costo che è completamente a carico del paziente. Fanno eccezione gli acidi grassi omega-3 che, grazie a una serie di studi a lungo termine, primo fra

tutti il GISSI (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico), studio delle cardiologie italiane noto in tutto il mondo, hanno dimostrato un beneficio clinico, la riduzione degli eventi cardiovascolari [9,10]. Ciò ha indotto il nostro Ministero della Salute a concedere, attraverso la cosiddetta Nota 13, la loro somministrazione gratuita in caso di ipertrigliceridemia familiare, iperlipemia familiare combinata, ipertrigliceridemia con insufficienza renale moderata e grave e, in prevenzione secondaria, in quei pazienti che hanno avuto un recente infarto del miocardio. Ma anche le monocoline del riso rosso fermentato hanno dimostrato, nel China Heart Study, di ridurre gli eventi cardiovascolari nella popolazione adulta e, soprattutto, anziana [11].

Un altro aspetto è quello riguardante le dosi che, talvolta, non corrispondono a quelle impiegate negli studi. Un esempio ci viene proprio dai prodotti a base dei su citati di omega-3 e riso rosso fermentato: essi si trovano in commercio a diverse concentrazioni che, purtroppo, talvolta, risultano inferiori a quelle studiate nei trial di cui riportano i risultati.

Da non sottovalutare, infine, anche l'aspetto riguardante le buone regole di fabbricazione e i controlli di qualità della materia prima proprie dei farmaci che non sempre sono garantite, ad esempio, dalle erboristerie.

In conclusione, fatte ferme queste doverose precisazioni, ribadiamo che l'intervento terapeutico "naturale" può rappresentare, in pazienti selezionati e non a rischio elevato, ma pur sempre a rischio, un valido mezzo di prevenzione cardiovascolare.

INDICAZIONI AL TRATTAMENTO NON FARMACOLOGICO DELLE IPERCOLESTEROLEMIE E DELLE IPERTRIGLICERIDEMIE IN PREVENZIONE PRIMARIA

- Adulti con ipercolesterolemia/ipertigliceridemia a rischio CV medio-basso
- Bambini-ragazzi con ipercolesterolemia/ipertigliceridemia a rischio CV per familiarità CV prematura
- Donne con ipercolesterolemia/ipertigliceridemia in età fertile
- Adulti con ipercolesterolemia/ipertigliceridemia che, seppur già in trattamento con farmaci a dosaggi medio-alti, non raggiungono gli obiettivi terapeutici (terapia di associazioni farmaco-nutraceutico)
- Adulti con ipercolesterolemia/ipertigliceridemia intolleranti ai farmaci o che hanno timore degli effetti collaterali dei farmaci
- Adulti che rifiutano l'idea di sentirsi malati

Tab. 1

BIBLIOGRAFIA

1. Cholesterol Treatment Trialists (CTT) Collaborators: Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*. 2005; 366: 1267-78
2. Volpe R, Cicero AFG: Non pharmacological treatment of hypercholesterolemia. In *Recent Advances in Cardiology*. Milei J & Ambrosio G Editors, New Biomedical, New York, 2014, pp23-54.
3. Keech A, Simes RJ, Barter P et al. FIELD study investigators. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet*. 2005; 366: 1849-61.
4. The AIM-HIGH Investigators. Niacin in Patients with Low HDL Cholesterol Levels Receiving Intensive Statin Therapy. *N Engl J Med*. 2011; 365: 2255-67.
5. National Cholesterol Expert Panel (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Expert Panel (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Final Reports. *Circulation* 2002; 106: 3143-421.
6. Poli A, Marangoni F, Paoletti R. et al: Nutrition Foundation of Italy. Non-pharmacological control of plasma cholesterol levels. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008; 18: S1-S16.
7. European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur J Prev Cardiol* 19: 585-667.
8. Giampaoli S, Vannuzzo D e Gruppo di Ricerca del Progetto osservatorio Epidemiologico/Health Examination Survey: La salute cardiovascolare degli italiani. Terzo Atlante italiano delle Malattie Cardiovascolari. *G It Cardiol* 2014; 15(4 Suppl 1): 7S-31S.
9. Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Lopez-Miranda J, Perez-Jimenez F: Long chain omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: a systematic review. *Br J Nutr* 2012; 107(Suppl2): S201-S13.
10. Valagussa F, Franzosi MG, Geraci E, et al: Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI Prevenzione trial. *Lancet* 1999; 354: 447-55.
11. Lu Z, Kou W, Du B, et al. Chinese Coronary Secondary Prevention Study Group. Effect of Xuezhikang, an extract from red yeast Chinese rice, on coronary events in a Chinese population with previous myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2008; 101: 1689-93.

Lenticchie: molto più che un semplice alimento natalizio

Giovanni Caprioli, Manuela Cortese, Michele Genangeli, Federica Giusti, Massimo Ricciutelli, Gianni Sagratini, Sauro Vittori

School of Pharmacy, University of Camerino, Camerino, Italy

Premesse e scopo dello studio

I legumi rappresentano i semi edibili di alcune piante leguminose, tra cui lenticchie (*Lens culinaris* L.), fagioli (*Phaseolus vulgaris* L.), piselli (*Pisum sativum* L.), ceci (*Cicer arietinum* L.), lupini (*Lupinus* spp.), fave (*Vicia faba* or *Faba vulgaris*), soia (*Glycine max*), ed altri [1]. Tra tutti, le lenticchie (*Lens culinaris* L.) risultano essere tra i più interessanti per le loro caratteristiche, sia nutrizionali sia funzionali. Le lenticchie sono fonte di proteine (25%), costituite anche da aminoacidi essenziali; i carboidrati rappresentano il maggiore componente (60%), con l'amido che occupa un posto rilevante ed il 30% di fibre, di cui quelle insolubili risultano essere il 93-99,7% [2]. Le lenticchie sono povere di grassi (circa 1%) e di conseguenza hanno un basso valore energetico; da sottolineare, tra gli acidi grassi, la prevalente presenza di polinsaturi (PUFA, 54-58%) tra cui l'acido linoleico e l'acido linolenico, seguita dai monoinsaturi (MUFA, 23-28%; prevalentemente acido oleico) e dai saturi (SFA, 17-18%), prevalentemente acido palmitico e stearico. Molto interessante da un punto di vista nutrizionale è il rapporto tra acidi grassi *n-6/n-3* che, nelle lenticchie, varia da 3.6 a 4.4 [3]. Relativamente ai micronutrienti, abbiamo una buona presenza di minerali: alti livelli di Fe, Mg, P, Ca e S e bassi livelli di Na. Le lenticchie contengono anche vitamine, come i folati, la tiamina (vitamina B1) e la riboflavina (vitamina B2), la niacina, l'acido pantotenico e la piridossina. Sono importanti fonti alimentari di saponine, composti bioattivi che hanno dimostrato possedere molteplici proprietà salutistiche [4]. Costituiscono un gruppo di glicosidi triterpenici appartenenti alla famiglia delle saponine. Le lenticchie contengono principalmente soiasaponina I e la β g che, in base alla loro struttura chimica, sono definite componenti della fibra alimentare [4]. Le soiasaponine hanno dimostrato di possedere importanti proprietà salutistiche; l'azione più rilevante sembra essere quella di abbassamento del livello di colesterolo [5]. Vista l'importanza farmacologica di queste molecole abbiamo: a)

quantificato la soiasaponina I e β g in diversi campioni di lenticchie sia crude sia cotte, per valutare se la cottura riduceva la loro concentrazione b) valutato la loro bioaccessibilità attraverso un modello di digestione *in vitro* che simula le varie zone dell'apparato gastrointestinale, per capire quanto le soiasaponine I e β g giungono immutate nel duodeno e nel colon c) effettuato un preliminare studio *in vivo* sull'uomo (8 pazienti), che hanno inserito nella loro dieta 4 volte a settimana 50 g di lenticchie, valutandone l'effetto sulla colesterolemia.

Materiali e metodi

L'analisi delle soiasaponine nei campioni di lenticchie crude e cotte è stata effettuata mediante HPLC-MS. Per il modello di digestione *in vitro* per valutare la bioaccessibilità: 50 g di lenticchie sono cotte in 1 L di acqua. Per simulare la digestione a livello della cavità orale, 10 g di campione cotto vengono addizionati di 6 ml di liquido salivare simulato e 20 ml di acqua e posti in agitazione in uno *stomacher*. Per simulare l'ambiente gastrico, si porta la soluzione a pH 2, si aggiungono 0,5 g di pepsina e 80 ml d'acqua, lasciando sotto agitazione a 37° C per 2 ore. Infine, per valutare la bioaccessibilità a livello del duodeno, si porta a pH 6,5 con NaHCO_3 , si aggiungono 1,25 g di sali biliari e si lascia sotto agitazione per 2 ore a 37° C. Per simulare l'ambiente del colon si porta a pH 7,2 con NaOH e si aggiungono 16 ceppi batterici caratterizzanti la flora intestinale, incubando il campione. Le analisi dei liquidi ottenuti dopo digestione simulata nel duodeno e nel colon sono effettuate mediante HPLC-MS (Figura 1). Per quanto riguarda lo studio *in vivo*: 8 individui con livelli di colesterolemia totale superiori al valore soglia (239-297 mg/dl) sono stati sottoposti a una dieta controllata: per 4 volte alla settimana e per la durata totale di 40 giorni in uno dei due pasti principali (pranzo o cena) sono stati inseriti 50 g di lenticchie locali (altopiano di Colfiorito). Sono state effettuate analisi della loro colesterolemia totale prima di iniziare lo studio ed al termine.

Modello di digestione *in vitro*

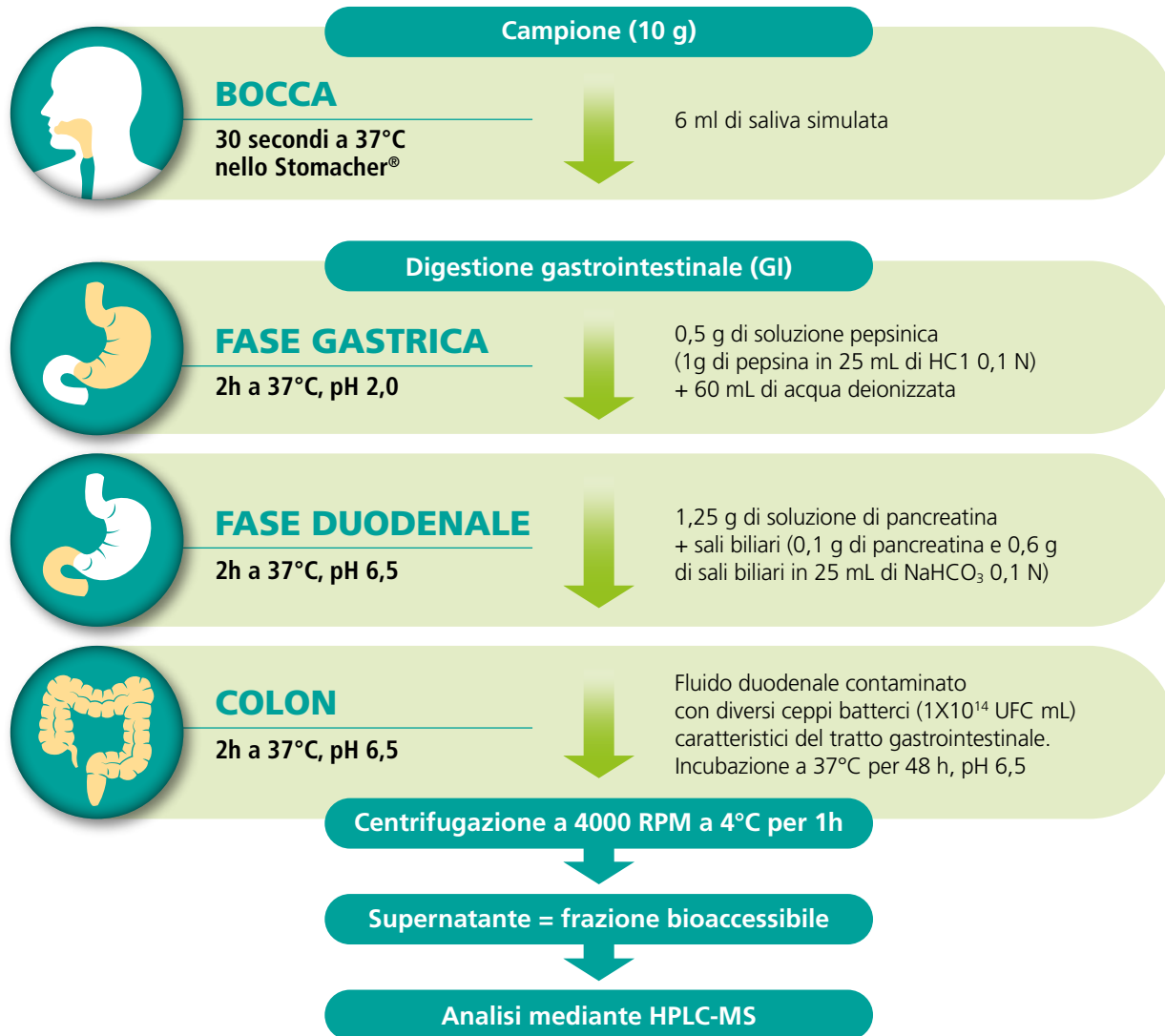


Fig. 1

Risultati

Su due campioni di lenticchie è stata determinata la concentrazione delle soiasaponine nel prodotto crudo, nel prodotto cotto e nell'acqua di cottura (Tabella 1). La percentuale di soiasaponine che passa in acqua durante il processo di cottura è molto bassa, compresa nel range 5,6-7,6%. Quindi, solo una piccola parte di soiasaponine totali passa nell'acqua di cottura, ma sono potenzialmente recuperabili

in quanto spesso i legumi vengono consumati insieme al liquido di cottura. Dai dati risulta evidente anche come ci sia, in seguito al processo di cottura, una conversione di una parte della SS β g in SSI (da quanto riportato in letteratura l'azione ipocolesterolemizzante sembra essere imputata principalmente alla SSI). Questa conversione è ben visibile anche in Figura 2, in cui viene riportata la sovrapposizione di un cromatogramma relativo ad un campione di lentic-

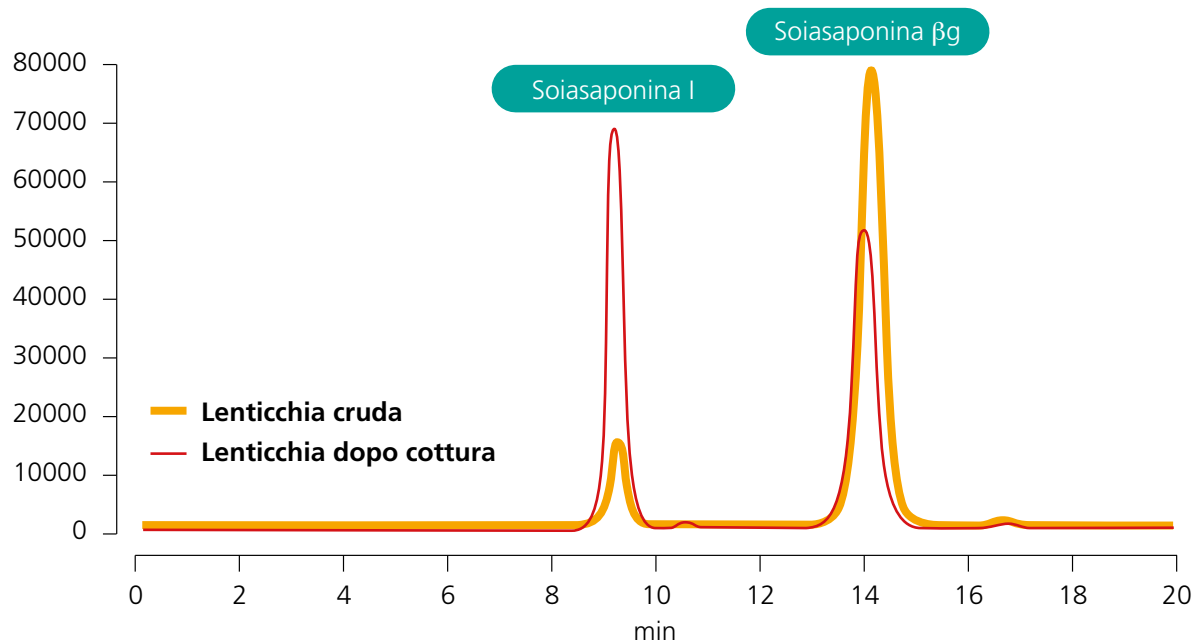
QUANTIFICAZIONE (mg/kg) DELLE SOIASAPONINE IN LENTICCHIE CRUDE, COTTO E NELL'ACQUA DI COTTURA

Nome commerciale dei campioni		Lenticchia (mg/kg)			Acqua di cottura (mg/kg)			Contenuto totale di SS	Rapporto cotto/crudo (%) ^b	SS perse in acqua (%)
		SS I	SS βg	Totale	SS I	SS βg	Totale			
Lenticchia dell'altopiano^a	Crudo	734,6	1807,1	2541,7	0	0	0	2541,7	99,6	5,6
	Cotto	1074,4	1314,3	2388,7	74,7	67,1	141,8	2530,5		
Lenticchia dell'Umbria^a	Crudo	678,5	1103,2	1781,7	0	0	0	1781,7	109,5	7,6
	Cotto	823,4	992,9	1816,3	68,2	65,8	134	1950,3		
	Cotto	757,4	671,2	1428,6	72,7	63,4	136,1	1564,7		

^a L'ammollo non è stato effettuato in quanto non suggerito in etichetta sulla metodica di preparazione

^b (concentrazione nei semi cotti + acqua di cottura/concentrazione nei semi crudi) x 100

Tab. 1



Sovrapposizione di un cromatogramma HPLC/ESI-MS di un campione di **lenticchia cruda** (arancio) e di un campione di **lenticchia dopo cottura** (rosso)

Fig. 2

chie crude (in cui il picco relativo alla SS β g è molto alto) e uno delle stesse lenticchie dopo cottura (in cui il picco relativo alla SS β g diminuisce e contemporaneamente aumenta quello relativo alla SS I).

Successivamente è stato effettuato lo studio della bioaccessibilità delle soiasaponine I e β g, per capire la quantità utile che arriva effettivamente nel duodeno o nel colon per poi svolgere la loro azione ipocolesterolemizzante (Tabella 2). Le lenticchie utilizzate sono sempre dell'altopiano di Colfiorito. La prima considerazione da fare è che la SS β g non è stata rinvenuta nei liquidi del colon né in quelli del duodeno, quindi ipotizziamo una sua trasformazione nella SSI. Nel duodeno abbiamo una bioaccessibilità pari a circa il 9.5 % (range 9-10%) relativamente alla SSI, mentre nel colon

si riduce a circa lo 0,2% (range 0.1-0-3%). Aumentando il tempo di cottura dell'alimento aumenta anche la bioaccessibilità delle SS analizzate nei liquidi duodenali e intestinali. Considerando che l'assorbimento del colesterolo avviene prevalentemente nel duodeno e nella parte prossimale del digiuno, i dati ottenuti sembrano essere particolarmente interessanti. Tale quantità infatti potrebbe essere determinante nello svolgere un'azione di tipo ipocolesterolemizzante nei confronti del colesterolo esogeno.

Successivamente è stato svolto un preliminare studio *in vivo* su 8 pazienti moderatamente ipercolesterolemici e non in trattamento farmacologico per tale fattore di rischio, a cui è stato chiesto di inserire nella dieta 4 volte alla settimana una porzione di 50 g di lenticchie. Lo studio ha fornito

BIOACCESSIBILITÀ DELLE SOIASAPONINE NEL DUODENO E NEL COLON

Tempo di cottura (min)	SSI lenticchia cotta mg/kg	SSI liquido duodenale mg/kg	% Bioaccessibilità (Duodeno)	SSI liquido colon mg/kg	% Bioaccessibilità (Colon)
30	640,52	57,43	8,97	0,54	0,1
45	669,23	65,32	9,76	1,32	0,2
60	684,00	72,65	10,62	1,87	0,3

Tab. 2

LIVELLI DI COLESTEROLO DI 8 PAZIENTI, PRIMA E DOPO L'INTEGRAZIONE DELLA DIETA CON LENTICCHIE

Paziente	Colesterolo iniziale	Colesterolo dopo la dieta	Differenza (mg/dl)	Decremento (%)
1	276	247	29	10,5
2	297	248	49	16,5
3	239	212	27	11,3
4	242	227	15	6,2
5	240	212	28	11,7
6	240	221	19	7,9
7	270	238	32	11,9
8	254	224	30	11,8
Valore medio	257,25	228,65	28,625	11,13

Tab. 3

risultati interessanti (Tabella 3). Infatti, in media c'è stata una diminuzione della colesterolemia totale pari all'11%; i livelli medi sono passati da 257 mg/dl a 228 mg/dl. Dai dati si deduce chiaramente che l'inserimento nella dieta in maniera controllata e regolare di lenticchie favorisce il controllo e l'abbassamento dei livelli di colesterolemia.

Conclusioni

I risultati dello studio *in vivo* ottenuti ci spingono ad un ampliamento dello stesso ad un numero più elevato di sog-

getti, inserendo anche pazienti di controllo, in modo da sviluppare uno studio epidemiologico che abbia una buona significatività statistica. È di fondamentale importanza capire il meccanismo che le soiasaponine utilizzano per esplicitare il loro effetto ipocolesterolemizzante. In quest'ottica verranno eseguiti degli studi *in vitro* su ratti alimentati con estratti di lenticchie, nei quali verranno monitorati sia il colesterolo che gli acidi biliari, per capire anche come la produzione di questi ultimi viene influenzata dalla presenza di sostanze bioattive contenute nelle lenticchie.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

1. Messina, M. J. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *Am. J. Clin. Nutr.* 1997; 70, 439-450.
2. Faris M. A. I. E., Hamed Rabah Takruri H. R., Ala Yousef Issa, Role of lentils (*Lens Culinaris* L.) in human health and nutrition: a review, *Mediterr J Nutr Metab*, 2013; 6, 3-16.
3. Caprioli G., Giusti F., Ballini R., Sagratini G., Donat P. V., Vittori S., Fiorini, D. Lipid Nutritional Value of Legumes: Evaluation of Different Extraction Methods and Determination of Fatty Acid Composition. *Food Chem.* 2016; 199, 965-971.
4. Sagratini G., Zuo Y., Caprioli G., Cristalli G., Giardinà D., Maggi F., Molin L., Ricciutelli M., Traldi P., Vittori S. Quantification of Soyasaponins I and β g in Italian Lentil Seeds by Solid Phase Extraction (SPE) and High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (HPLC-MS). *J. Agric. Food Chem.* 2009; 57, 11226-11233.
5. Sagratini G., Caprioli G., Maggi F., Font G., Giardinà D., Mañes J., Meca G., Ricciutelli M., Sirocchi V., Torregiani E., Vittori S. Determination of Soyasaponins I and β g in Raw and Cooked Legumes by Solid Phase Extraction (SPE) Coupled to Liquid Chromatography (LC)-Mass Spectrometry (MS) and Assessment of Their Bioaccessibility by an *in Vitro* Digestion Model. *J. Agric. Food Chem.* 2013; 61, 1702-1709.

I glicosidi della *Stevia* come nutraceutici ad effetto insulino-simile

Diana Fiorentini¹, Cecilia Prata¹, Laura Zambonin¹, Tullia Maraldi², Silvana Hrelia³

¹ Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna

² Centro Universitario - Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche, con interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa, Università di Modena e Reggio Emilia

³ Dipartimento di Scienze per la Qualità della Vita, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna

Introduzione

Stevia rebaudiana Bertoni è una pianta perenne appartenente alla famiglia delle Asteracee (Compositae), nativa delle regioni subtropicali del Brasile e del Paraguay. Fin dai tempi più antichi le sue foglie sono state impiegate dalle popolazioni native in virtù del loro potere dolcificante [1,2]. Questa caratteristica ha sollevato l'interesse dei nutrizionisti e dell'industria, sempre alla ricerca di nuovi dolcificanti naturali, privi di potere calorico e alternativo al saccarosio [3,4]. Tale esigenza è da imputarsi al preoccupante aumento di diabete mellito di tipo 2 e obesità, sia nei paesi industrializzati sia in quelli in via di sviluppo, che costituisce attualmente il principale problema di sanità pubblica a livello mondiale [5]. Oltre al potere dolcificante, i glicosidi estratti dalla *Stevia rebaudiana* Bertoni possiedono diversi effetti benefici sulla salute umana [6,7], tra i quali i più interessanti sono quelli anti-iperglicemici [8], insulintropici [8,9] ed insulino-simili [10,11], che li rendono potenziali coadiuvanti nel trattamento del diabete mellito e dei dismetabolismi ad esso associati.

Studi *in vitro* e *in vivo* sia su animali che su volontari umani hanno dimostrato che i glicosidi della *Stevia* non sono genotossici né carcinogenici, pertanto la Food and Drug Administration statunitense (FDA) e l'Ente Europeo per la Sicurezza Alimentare (EFSA) hanno autorizzato l'uso dei glicosidi della *Stevia* come dolcificanti commerciali e additivi alimentari [12,13]. La dose giornaliera consentita è stata stabilita a 4 mg/kg di peso [14,15].

Lo scopo di questa ricerca è stato quello di studiare il meccanismo molecolare sotteso agli effetti esercitati dai glicosidi della *Stevia* sul metabolismo del glucosio. A tal fine è stato valutato l'effetto di alcuni estratti commerciali di *Stevia* sull'attività di trasporto di glucosio in diverse linee cellulari, confrontandolo con quello dell'insulina per validarne l'attività come nutraceutico ad azione ipoglicemizzante.

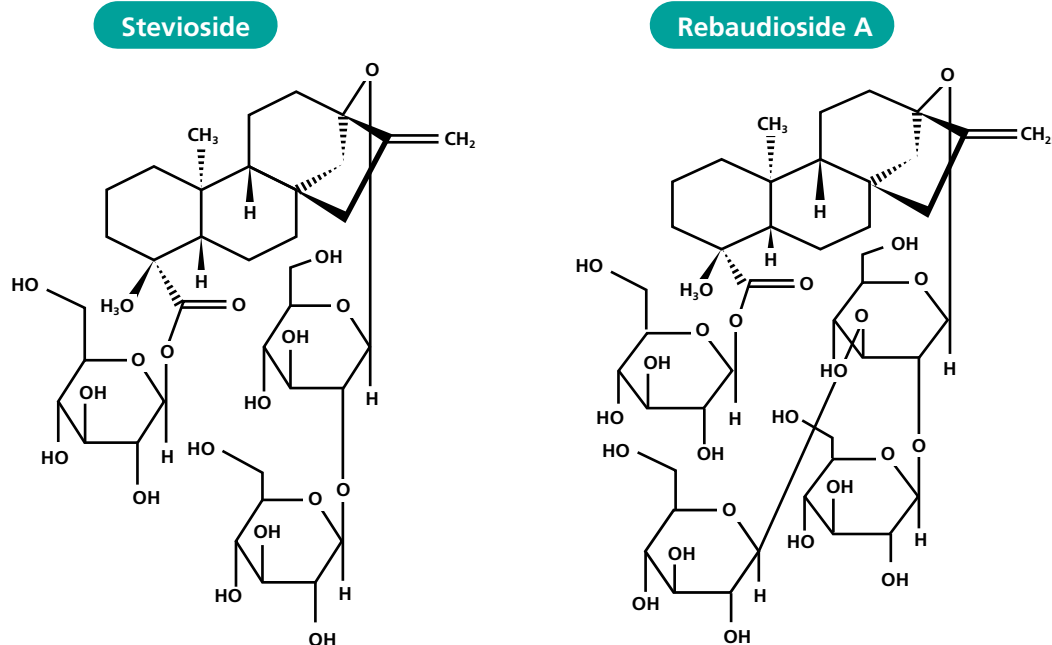
Caratteristiche strutturali dei glicosidi della *Stevia*

Le foglie e gli estratti di *Stevia* hanno un potere dolcificante dalle 200 alle 400 volte superiore a quello del saccarosio [16]. I principali componenti responsabili del sapore dolce sono lo Stevioside e il Rebaudioside A. Entrambe le molecole sono costituite da una parte agliconica, lo steviol, e da un piccolo numero di molecole di glucosio ad esso legate: lo Stevioside contiene tre molecole di glucosio, mentre il Rebaudioside A ne contiene quattro [17] (Figura 1).

Gli estratti di *Stevia rebaudiana* Bertoni utilizzati in questo studio, gentilmente forniti da Eridania Sadam SpA, sono R97, contenente il 97-98% di Rebaudioside A e R60, contenente circa il 60% di Rebaudioside A e il 20% di Stevioside.

Il trasporto di glucosio

Il glucosio è una molecola polare che necessita di specifici trasportatori proteici di membrana per entrare nelle cellule. La famiglia di proteine integrali di membrana GLUT regola il movimento del glucosio tra l'ambiente extracellulare e il citoplasma, assicurando un costante rifornimento di questo zucchero a fini energetici. Attualmente si ritiene che la famiglia GLUT sia composta da 14 isoforme [18], diversamente distribuite in organi e tessuti. Tra queste, GLUT1 rappresenta l'isoforma ubiquitaria, responsabile della captazione basale di glucosio, mentre GLUT4 è espressa principalmente nei tessuti che rispondono all'insulina e nel cervello [19]. L'isoforma GLUT4 è conservata in vescicole intracellulari che, in seguito al segnale dell'insulina, vengono traslocate sulla membrana plasmatica, facendo aumentare di conseguenza la velocità di ingresso delle molecole di glucosio. Alterazioni nella capacità di traslocazione di GLUT4 sono causa di resistenza all'insulina e, di conseguenza, di sviluppo di diabete mellito [20].



Struttura chimica dei due principali componenti delle foglie di Stevia con potere dolcificante; Stevioside e Rebaudioside A.

Fig. 1

Effetto degli estratti della *Stevia* sul trasporto di glucosio in diverse linee cellulari

L'effetto esercitato dai due estratti commerciali di *Stevia* sul trasporto di glucosio è stato studiato e confrontato con quello provocato dall'insulina in due linee cellulari tumorali: SH-SY5Y, proveniente da un neuroblastoma umano, e HL-60, proveniente da una leucemia mieloide umana. Le cellule cancerose, infatti, a causa della incontrollata proliferazione, richiedono elevate quantità di energia, pertanto sovraesprimono facilmente membri della famiglia GLUT [21,22]. In particolare, la linea cellulare HL-60 esprime principalmente GLUT1 [10], SH-SY5Y esprime sia GLUT1 [23] che GLUT4 [24]. Lo studio è stato condotto anche su un modello cellulare non trasformato, costituito da fibroblasti neonatali di ratto, provenienti da una coltura primaria non immortalizzata. I fibroblasti esprimono sia GLUT1 che GLUT4 [25].

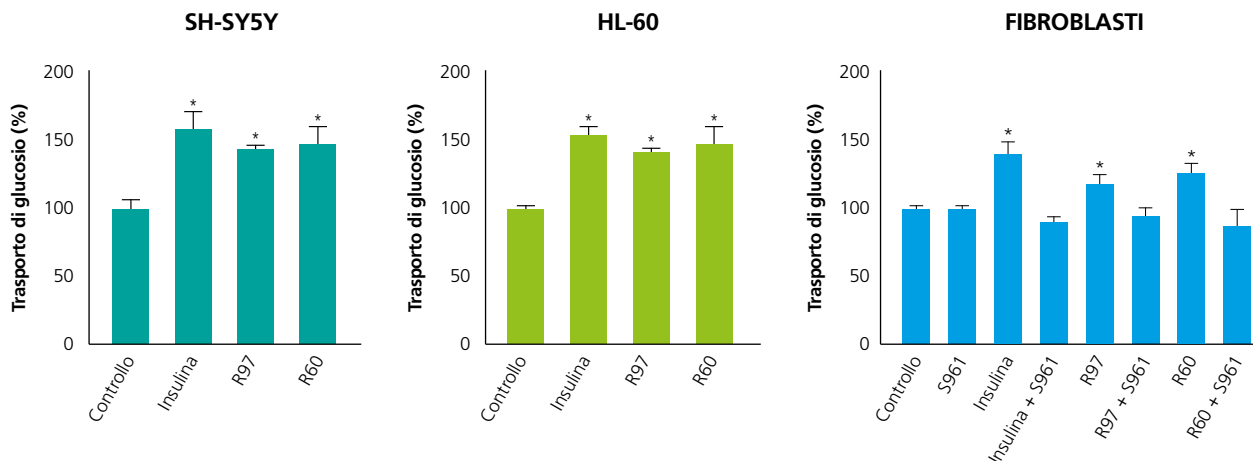
La Figura 2 mostra che il trattamento delle cellule con insulina, R97 o R60 provoca un simile, significativo aumento dell'attività di trasporto di glucosio rispetto al controllo, indicando che l'insulina e gli estratti steviolici dimostrano la stessa efficacia nei confronti della captazione di glucosio nei tre tipi cellulari studiati.

Per studiare il meccanismo sotteso all'azione esercitata dagli estratti sul trasporto di glucosio in fibroblasti di ratto, gli esperimenti sono stati condotti anche in presenza di un peptide sintetico antagonista del recettore dell'insulina [26], S961. Come si può osservare nella Figura 2, la presenza dell'inibitore nelle cellule trattate con estratti steviolici o insulina provoca un'inibizione del trasporto di glucosio. Tale dato consente di ipotizzare che gli estratti della *Stevia* possano agire sul recettore stesso dell'insulina.

Identificazione della via di trasduzione del segnale indotta dagli estratti di *Stevia*

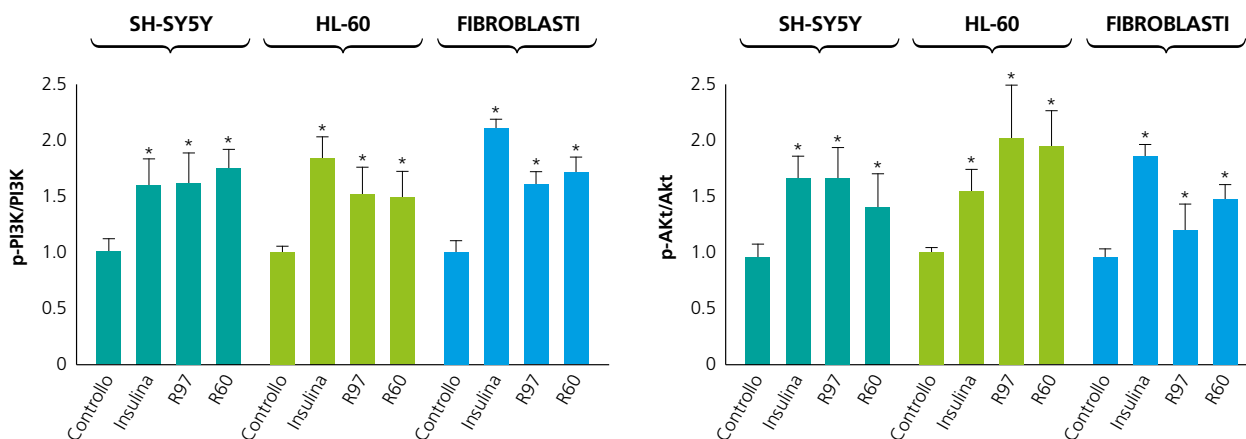
È noto che l'insulina attiva il trasporto di glucosio mediante una via di segnalazione che procede attraverso la fosforilazione delle proteine PI3K e Akt. Allo scopo di indagare se anche il segnale innescato dai glicosidi della *Stevia* segua lo stesso percorso, è stato valutato lo stato di fosforilazione di queste due proteine.

La Figura 3 mostra la valutazione densitometrica delle bande ottenute, mediante analisi Western blotting, in seguito al trattamento delle cellule con insulina o con gli estratti steviolici. I risultati mostrano che in entrambi i casi si verifica



Effetto del trattamento con estratti di *Stevia rebaudiana* Bertoni o con insulina sul trasporto di glucosio nei tre tipi cellulari studiati. Le cellule sono state trattate con R97 o R60 (1 mg/mL per 60 min), o con insulina (100 nM per 30 min) e, ove presente, con antagonista S961 (10 nM per 120 min). Il trasporto di glucosio è stato valutato mediante l'impiego di un analogo radioattivo del glucosio. I risultati sono espressi come medie $\pm$ SD di tre esperimenti indipendenti; * $p < 0.05$, significativamente diverso dal controllo.

Fig. 2



Effetto del trattamento con estratti di *Stevia rebaudiana* Bertoni o con insulina sulla via di segnalazione PI3K/Akt. Le cellule sono state trattate con R97 o R60 (1 mg/mL per 60 min), o con insulina (100 nM per 30 min), poi sono state lisate, sottoposte ad elettroforesi e successivamente ad immunoblotting, utilizzando anticorpi contro le forme fosforilate e non fosforilate di PI3K e Akt. Gli istogrammi si riferiscono alla valutazione densitometrica delle bande ottenute, espressa come rapporto tra forma fosforilata e non fosforilata di PI3K e Akt. I risultati sono espressi come medie $\pm$ SD di tre esperimenti indipendenti; * $p < 0.05$, significativamente diverso dal controllo.

Fig. 3

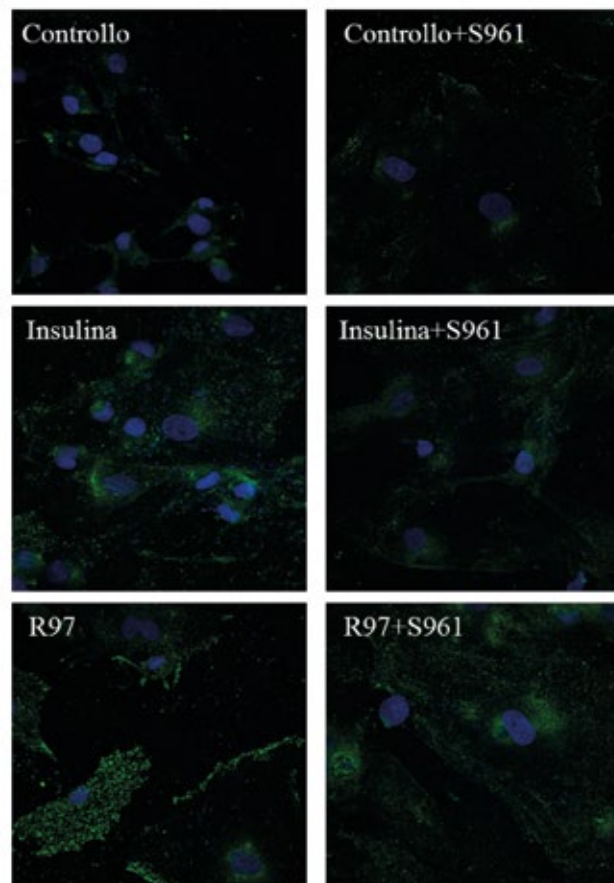
un significativo aumento della quantità della forma fosforilata di PI3K e di Akt nei tre tipi cellulari studiati. L'ipotesi precedentemente avanzata viene avvalorata da questa osservazione, che rivela un percorso di segnalazione comune per gli estratti steviolici e l'insulina, delineando pertanto un simile meccanismo d'azione.

Effetto degli estratti di *Stevia* sulla traslocazione dell'isoforma GLUT4

Come precedentemente affermato, in seguito al segnale dell'insulina, il trasportatore GLUT4 trasloca dai depositi intracellulari sulla membrana plasmatica, pertanto si è valutato se anche il trattamento dei fibroblasti di ratto con gli estratti di *Stevia* potesse indurre un effetto simile a quello provocato dall'insulina. Tale modello cellulare, infatti, derivante da cellule non trasformate, è più adatto a riprodurre condizioni fisiologiche rispetto ai due modelli di cellule cancerose. L'esperimento è stato effettuato utilizzando una tecnica di immunofluorescenza che sfrutta l'impiego di un anticorpo primario in grado di legarsi ad una porzione extra-cellulare del trasportatore GLUT4 e di un anticorpo secondario coniugato con una molecola fluorescente. Le immagini riportate nella Figura 4 sono state ottenute mediante microscopia confocale e mostrano una maggiore espressione di GLUT4 (colore verde) sulla membrana plasmatica delle cellule trattate con insulina o con gli estratti di *Stevia* rispetto ai controlli. La presenza dell'inibitore S961 limita fortemente la traslocazione di GLUT4 indotta sia da insulina che da R97, avvalorando ancora una volta l'ipotesi secondo la quale gli estratti steviolici studiati agiscano come agonisti del recettore dell'insulina, determinando quindi effetti simili ad essa relativamente al traffico intracellulare di glucosio.

Conclusioni

Le proprietà anti-iperglicemiche e insulino-mimetiche degli estratti commerciali di *Stevia* dimostrate in questo studio suggeriscono che i glicosidi derivati da questa pianta possano essere considerati potenziali nutraceutici. L'uso degli estratti di *Stevia* può quindi essere consigliato ai pazienti



Traslocazione di GLUT4 sulla membrana plasmatica di fibroblasti di ratto in seguito a trattamento con insulina (100 nM per 30 minuti) o con R97 (1 mg/mL per 60 min) in presenza o in assenza di S961 (10 nM). Le cellule sono state incubate con anticorpo primario anti-GLUT4 e con anticorpo secondario coniugato con una molecola a fluorescenza verde. I nuclei sono stati colorati con un colorante a fluorescenza blu. Le immagini sono state acquisite tramite microscopio confocale IX50-Olympus.

Fig. 4

diabetici, ma anche a chi desidera diminuire l'assunzione calorica giornaliera, contribuendo al mantenimento di uno stato di buona salute.

BIBLIOGRAFIA

1. Brandle JE, Telmer PG. Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*. 2007; 68: 1855-1863.
2. Kinghorn AD, Soejarto DD. Discovery of terpenoid and phenolic sweeteners from plants. *Pure Appl Chem*. 2002; 74(7): 1169-1179.
3. Ferrazzano GF, Cantile T, Alcidi B, et al. Is *Stevia rebaudiana* Bertoni a Non Cariogenic Sweetener? A Review. *Molecules*. 2015; 21(1).
4. Renwick AG. The use of a sweetener substitution method to predict dietary exposures for the intense sweetener rebaudioside A. *Food Chem Toxicol*. 2008; 46(Suppl 7): S61-S69.
5. Smith KB, Smith MS. Obesity Statistics. *Prim Care*. 2016; 43: 121-135.
6. Pawar RS, Krynsky AJ, Rader JI. Sweeteners from plants - with emphasis on *Stevia rebaudiana* (Bertoni) and *Siraitia grosvenorii*

- (Swingle). *Anal Bioanal Chem.* 2013; 405: 4397-4407.
7. Goyal SK, Samsher S, Goyal RK. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. *Int J Food Sci Nutr.* 2010; 61(1): 1-10.
8. Jeppesen PB, Gregersen S, Alstrup KK, et al. Stevioside induces antihyperglycaemic, insulinotropic and glucagonostatic effects in vivo: studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Phyto-medicine.* 2002; 9: 9-14.
9. Jeppesen PB, Gregersen S, Poulsen CR, et al. Stevioside acts directly on pancreatic beta cells to secrete insulin: actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K⁺-channel activity. *Metabolism.* 2000; 49: 208-214.
10. Rizzo B, Zamboni L, Angeloni C, et al. Steviol glycosides modulate glucose transport in different cell types. *Oxid Med Cell Longev.* 2013; 2013: 348169.
11. Bhaskar S, Madhav H, Chinnamma M. Molecular evidence of insulinomimetic property exhibited by steviol and stevioside in diabetes induced L6 and 3T3L1 cells. *Phytomedicine.* 2015; 22(11): 1037-1044.
12. EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Food Additives and Nutrient Sources (ANS), "Scientific opinion on safety of steviol glycosides for the proposed uses as food additive" *EFSA J.* 2010; 8(4): 1537.
13. EFSA (European Food Safety Authority), "Revised exposure assessment for steviol glycosides for the proposed uses as a food additive", *EFSA J.* 2011; 9(1): 1972.
14. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), *Compendium of Food Additive Specifications, Monograph 5. Steviol glycosides*, 2008.
15. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives), "Safety evaluation of certain food additives. Prepared by the 69th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives", *WHO Food Additives Series.* 2009; 66: 183-220.
16. Lemus-Mondaca R, Vega-Gálvez A, Zura-Bravo L, et al. Stevia rebaudiana Bertonii, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chem.* 2012; 132: 1121-1132.
17. Chatsudthipong V, Muanprasat C. Stevioside and related compounds: therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol Ther.* 2009; 121: 41-54.
18. Chen LQ, Cheung LS, Feng L, et al. Transport of sugars. *Annu Rev Biochem.* 2015; 84: 865-894.
19. Leloup C, Arluison M, Kassis N, et al. Discrete brain areas express the insulin-responsive glucose transporter GLUT4. *Brain Res Mol Brain Res.* 1996; 38: 45-53.
20. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature.* 2001; 414: 799-806.
21. Amann T, Maegdefrau U, Hartmann A, et al. GLUT1 expression is increased in hepatocellular carcinoma and promotes tumorigenesis. *Am J Pathol.* 2009; 174: 1544-1552.
22. Macheda ML, Rogers S, Best JD. Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer. *J Cell Physiol.* 2005; 202(3): 654-662.
23. Russo VC, Kobayashi K, Najdovska S, et al. Neuronal protection from glucose deprivation via modulation of glucose transport and inhibition of apoptosis: a role for the insulin-like growth factor system. *Brain Res.* 2004; 1009: 40-53.
24. Benomar Y, Naour N, Aubourg A, et al. Insulin and leptin induce Glut4 plasma membrane translocation and glucose uptake in a human neuronal cell line by a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent mechanism. *Endocrinology.* 2006; 147: 2550-2556.
25. Brewer PD, Habtemichael EN, Romenskaia I. Insulin-regulated Glut4 translocation: membrane protein trafficking with six distinctive steps. *J Biol Chem.* 2014; 289(25): 17280-17298.
26. Schaffer L, Brand CL, Hansen BF, et al. A novel high-affinity peptide antagonist to the insulin receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 376: 380-383.

Approccio nutraceutico combinato del rischio cardiovascolare stimato: uno studio clinico pilota, randomizzato in doppio cieco

Arrigo F.G. Cicero, Martina Rosticci, Marilisa Bove, Elisa Grandi, Marina Giovannini, Sergio D'Addato

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Alma Mater Studiorum Università di Bologna

Introduzione

La compresenza di ipercolesterolemia ed ipertensione arteriosa, spesso per valori non massimali di nessuno dei due fattori di rischio, è molto elevata nella popolazione generale ed associata ad aumentato rischio di malattia cardiovascolare [1]. Inoltre la non ottimizzazione dei valori plasmatici di LDL sembra essere associata ad una maggiore necessità di trattamento farmacologico di ipertensione arteriosa incidente [2].

Per quanto riguarda valori subottimali di pressione arteriosa e di colesterolemia, le relative linee guida europee per la gestione di questi due fattori suggeriscono in prima battuta un approccio legato alla modificazione dello stile di vita in senso terapeutico [3,4].

Tuttavia, l'efficacia di una modificazione dello stile di vita potrebbe essere magnificata dall'associazione con nutraceutici ad azione antipertensiva ed ipocolesterolemizzante clinicamente testati [5]. Questa ipotesi di lavoro è supportata dalla recente pubblicazione di diversi trials clinici controllati relativi all'efficacia antipertensiva [6]. ed ipocolesterolemizzante [7] di numerose molecole di origine naturale. L'associazione di queste due potrebbe avere risvolti positivi sia in termini di efficacia che di costi.

L'obiettivo di questo studio è stato valutare l'effetto di un nutraceutico combinato ad azione antipertensiva ed ipocolesterolemizzante su pressione domiciliare, colesterolemia LDL e rischio cardiovascolare stimato.

Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto su 30 pazienti pre-ipertesi ed ipertesi di primo grado con colesterolemia LDL >115 mg/dL, non farmacologicamente trattati, con rischio cardiovascolare stimato moderato, secondo algoritmo SCORE.

Lo studio è stato condotto secondo le regole etiche della dichiarazione di Helsinki e tutti i pazienti hanno formalmente acconsentito allo studio.

Dopo 4 settimane di dieta di stabilizzazione, durante le quali i pazienti sono stati istruiti alla scelta di alimenti cor-

retti, ad evitare eccessi e ad aumentare la propria attività fisica quotidiana, gli stessi soggetti sono stati randomizzati ad assumere un nutraceutico combinato o un placebo indistinguibile per colore e sapore, una bustina tutte le mattine prima di colazione.

Il prodotto testato conteneva un mix di sostanze bioattive (BPLN, contenente un donatore di ossido nitrico, magnesio, e vitamine) a dimostrata azione antipertensiva ed un estratto di Riso Rosso Fermentato titolato in Monacolina K a 10 mg/dose.

I tre giorni precedenti è stato richiesto ai pazienti di misurare la loro pressione domiciliare alle ore 7.00 (prima di colazione) ed alle ore 19 (prima di cena), eseguendo 3 misurazioni consecutive, come da linee guida. I parametri pre-trattamento e post-trattamento considerati (pressione arteriosa sistolica, diastolica, di polso e media) sono stati derivati dalla media dei dati raccolti nelle 3 misurazioni mattutine e serali dei 3 giorni.

I pazienti sono stati quindi sottoposti a visita ed esame ematochimico per la valutazione dell'assetto metabolico e relativi parametri di sicurezza (Colesterolo totale e HDL, trigliceridi, Colesterolo LDL, GOT, GPT, CPK) al basale e dopo 2 mesi. Tutti i parametri sono stati misurati con metodica standardizzata.

Risultati

Le caratteristiche principali dei pazienti alla visita di randomizzazione sono riassunte in tabella 1.

Nessun paziente ha lamentato effetti collaterali durante l'assunzione del prodotto attivo e del placebo. Non sono state osservate variazioni significative per quanto riguarda frequenza cardiaca, trigliceridemia, livelli di HDL-C, transaminasi e CPK. L'accettazione globale dei prodotti è stata buona in entrambi i gruppi.

Le variazioni dei principali parametri di efficacia è stata riassunta in tabella 2. Nel gruppo con placebo si è osservata una minima ma significativa riduzione della colesterolemia LDL e della pressione arteriosa sistolica mattutina rispet-

CARATTERISTICHE PRINCIPALI DEI SOGGETTI ARRUOLATI AL BASALE

	ATTIVO (M: 8; F: 7)	PLACEBO (M: 7; F: 8)
Età (mmHg)	57±5	56±7
PAS (mmHg)	148±9	147±10
PAD (mmHg)	91±5	92±4
PP (mmHg)	56±4	57±5
PAM (mmHg)	111±13	113±12
TC (mg/dL)	234±16	237±15
HDL-C (mg/dL)	39±2	39±3
LDL-C (mg/dL)	159±14	161±12
Tg (mg/dL)	169±26	177±27
CPK (U/L)	118±12	123±14
Rischio CV stimato (%)	5.3±0.9	5.0±1.0

Tab. 1

VARIAZIONE DEI PARAMETRI DI EFFICACIA CONSIDERATI NEL GRUPPO TRATTATO CON ATTIVO E QUELLO TRATTATO CON PLACEBO

	ATTIVO		PLACEBO	
	Pre-trattamento	Post-trattamento	Pre-trattamento	Post-trattamento
PAS mattutina (mmHg)	146±8	139±6*°	145±9	141±10*
PAD mattutina (mmHg)	90±4	86±3*°	91±3	89±4
PP mattutina (mmHg)	56±3	53±2*	54±4	52±5
PAM mattutina (mmHg)	109±11	104±9*°	109±12	106±11
PAS serale (mmHg)	149±9	145±8*°	148±8	147±10
PAS serale (mmHg)	91±5	89±4	92±4	92±3
PP serale (mmHg)	58±4	56±3	56±5	55±4
PAM serale (mmHg)	110±12	108±10	111±12	110±10
LDL-C (mg/dL)	159±14	128±13*°	161±12	155±11*
Rischio CV stimato (%)	5.2±0.7	3.8±0.5*°	5.1±0.8	4.6±0.9

*P<0.05 Vs. baseline; °P<0.05 Vs. placebo

PAS= Pressione Arteriosa Sistolica, PAD= Pressione Arteriosa Diastolica, PP= Pressione di Polso, PAM= Pressione Arteriosa Media, LDL-C= LDL colesterolo, CV= Cardiovascolare

Tab. 2

to al basale, plausibilmente per effetto della prosecuzione della modificazione dello stile di vita prescritto alla visita di screening.

Il gruppo trattato con nutraceutico ha invece mostrato una significativa riduzione di tutti i parametri pressori mattutini e della sola pressione arteriosa sistolica serale, associata ad una riduzione significativa della colesterolemia LDL, entrambe sia versus la baseline che versus il gruppo trattato con placebo. Questo si è tradotto in una riduzione significativa del rischio cardiovascolare stimato solo nel gruppo trattato con nutraceutici, sia versus la baseline che versus il gruppo trattato con placebo.

Discussione

I risultati del nostro studio preliminare mostrano chiaramente come il trattamento nutraceutico combinato proposto sia stato associato ad una riduzione significativa della colesterolemia LDL, in linea con quanto atteso in funzione del contenuto in monacolina K da riso rosso fermentato [8]. Anche il moderato, ma significativo, effetto antipertensivo osservato è stato in linea con quello previsto dal contenuto di principi

bioattivi ad azione vasodilatatrice presenti nell'integratore testato [9]. Il risultato finale è stato una riduzione significativa del rischio cardiovascolare stimato secondo algoritmo SCORE dell'1.4% con un ottimo profilo di tollerabilità.

I principali limiti di questo studio esplorativo sono stati la ridotta numerosità campionaria e la breve durata del test, per cui non è al momento dato sapere se (almeno per l'effetto antipertensivo) si possa avere un adattamento all'effetto e quindi una riduzione dell'efficacia sul lungo termine. Ulteriori studi devono essere condotti su più soggetti e di durata maggiore. Tuttavia l'efficacia e sicurezza di impiego dei singoli componenti inclusi nella formulazione testata nel nostro studio è stata già ampiamente dimostrata in numerosi studi di durata maggiore ed adeguatamente potenti.

In conclusione, il nutraceutico composito testato riduce a breve termine colesterolemia LDL e pressione arteriosa, portando quindi a riduzione significativa del rischio cardiovascolare stimato in un campione di pazienti affetti da pre-ipertensione o ipertensione di primo grado e livelli subottimali di colesterolemia LDL.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- 1 Cicero AF, Rosticci M, D'Addato S, Baronio C, Grossi G, Grandi E, Borghi C. Population health needs assessment and healthcare services use in a 3 years follow-up on administrative and clinical data: results from the Brisighella Heart Study. *High Blood Press Cardiovasc Prev.* 2014 Mar; 21(1): 45-51.
- 2 Borghi C, Cicero AF, Saragoni S, Buda S, Cristofori C, Lilli P, Degli Esposti L. Rate of control of LDL cholesterol and incident hypertension requiring antihypertensive treatment in hypercholesterolemic subjects in daily clinical practice. *Ann Med.* 2014 Mar; 46(2): 97-102.
- 3 Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Bohm M, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens.* 2013 Jul; 31(7): 1281-357.
- 4 European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation, Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, Agewall S, Alegria E, Chapman MJ, Durrington P, Erdine S, Halcox J, Hobbs R, Kjekshus J, Filardi PP, Riccardi G, Storey RF, Wood D; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) 2008-2010 and 2010-2012 Committees. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: the Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *Eur Heart J.* 2011 Jul; 32(14): 1769-818.
- 5 Cicero AF, Borghi C. Evidence of clinically relevant efficacy for dietary supplements and nutraceuticals. *Curr Hypertens Rep.* 2013 Jun; 15(3): 260-7.
- 6 Sirtori CR, Arnoldi A, Cicero AF. Nutraceuticals for blood pressure control. *Ann Med.* 2015; 47(6): 447-56.
- 7 Cicero AF, Ferroni A, Ertek S. Tolerability and safety of commonly used dietary supplements and nutraceuticals with lipid-lowering effects. *Expert Opin Drug Saf.* 2012 Sep; 11(5): 753-66.
- 8 Li Y, Jiang L, Jia Z, Xin W, Yang S, Yang Q, Wang L. A meta-analysis of red yeast rice: an effective and relatively safe alternative approach for dyslipidemia. *PLoS One.* 2014 Jun 4; 9(6): e98611.
- 9 Borghi C, Cicero AF. Nutraceuticals with clinically detectable blood pressure lowering effect: a review of available randomized clinical trials and their meta-analyses. *Br J Clin Pharmacol.* 2016 Feb 6. doi: 10.1111/bcp.12902. [Epub ahead of print]