

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



Dottorato di Ricerca in

Fisiopatologia Clinica e Medicina Sperimentale

indirizzo Endocrino-Metabolico

XXI ciclo 2005-2008

Coordinatore: Ch.mo Prof. Gianni Marone

TESI DI DOTTORATO

Attività Antiaterogena di un'Associazione di Nutraceutici:
Studio Randomizzato e Controllato con Placebo

Tutore
Ch.mo Prof. Serafino Fazio

Candidata
Dott.ssa Flora Affuso

INDICE

INTRODUZIONE	Pag. 3
MATERIALI E METODI	Pag. 6
ANALISI STATISTICA	Pag. 9
RISULTATI	Pag. 10
DISCUSSIONE	Pag. 11
BIBLIOGRAFIA	Pag. 15
TABELLE	Pag. 20
FIGURE	Pag. 22

INTRODUZIONE

Le malattie cardiovascolari, conseguenti ad aterosclerosi ostruttiva, rappresentano a tutt'oggi la prima causa di morte nei paesi industrializzati ed una delle prime cause di invalidità (1). L'individuazione di markers precoci di malattia, e l'impiego di presidi atti alla diminuzione del colesterolo, costituiscono un target estremamente importante per la riduzione degli eventi acuti causa di invalidità e mortalità. Mentre la prevenzione secondaria è un cardine ben saldo non solo dell'agire del medico ma, anche del paziente, la prevenzione primaria rappresenta ancora oggi un obiettivo difficile da raggiungere nella popolazione a rischio. Numerosi studi sottolineano l'importanza di un trattamento dietetico e/o farmacologico per la riduzione della colesterolemia nel rallentare la progressione delle alterazioni vascolari e nel prevenire la cardiopatia e l'ictus ischemici. In particolare, concentrazioni sieriche di LDL-C superiori ai 149 mg/dL rappresentano il maggiore fattore di rischio indipendente, per le malattie cardiovascolari (2), ed infatti la diminuzione di LDL-C è associata ad una ridotta incidenza di eventi (3-6). La disfunzione endoteliale, spesso associata all'ipercolesterolemia, costituisce un marker precoce di malattia. Essa precede le alterazioni vascolari dell'atero/arteriosclerosi, e può essere valutata in maniera attendibile e non invasiva, mediante lo studio della vasodilatazione flusso-mediata (7, 8). L'associazione tra dieta e stile di vita costituisce un'imprescindibile strategia terapeutica per il controllo della dislipidemia, attuabile sia in prevenzione primaria che secondaria, ed in particolare l'esercizio fisico è elemento essenziale di una

corretta condotta preventiva. Tuttavia l'osservazione della popolazione ci insegna quanto sia difficile non solo instaurare, ma anche mantenere, corrette abitudini di vita, che spesso anche se ben radicate, non sono sufficienti a riportare alla norma i valori alterati di colesterolo, il che rende indispensabile il ricorso alla terapia farmacologica. Tra i farmaci impiegati nel trattamento delle iperlipidemie le statine rappresentano uno strumento di prima linea per il raggiungimento dei goals terapeutici raccomandati dalle linee guida NECP III (9). L'importanza di una terapia aggressiva nella gestione delle dislipidemie, per la prevenzione e la riduzione degli eventi ischemici (coronarici, cerebrali o periferici), e nel miglioramento della disfunzione endoteliale, suggerisce l'impiego di queste molecole come terapia più efficace, anche se i benefici del trattamento possono essere realizzati solo se la somministrazione è protratta nel tempo. Uno studio pubblicato recentemente sull'aderenza alla terapia ipolipemizzante, ha evidenziato un elevato tasso di abbandono per tutti i farmaci valutati, e, in particolare, l'uso di statine veniva interrotto da circa un terzo dei pazienti entro un anno dall'inizio (10, 11). Questa osservazione sottolinea la partecipazione di numerosi fattori alla scarsa aderenza alla terapia. Infatti un'alta percentuale di pazienti ipercolesterolemici può sviluppare effetti collaterali che inducono ad interromperne il trattamento, mentre fattori economici e sociali diventano sempre più pressanti, date le restrizioni prescrittive di questa classe di farmaci. Inoltre vi sono pazienti ipercolesterolemici in cui un trattamento con statine non è consigliabile. Per i motivi esposti è sempre più frequente, da parte della classe medica, la prescrizione di nutraceutici, ovvero di “sostanze di origine naturale che posseggono proprietà terapeutiche”. Nonostante

diversi studi clinici siano stati condotti per stabilire le proprietà ipolipemizzanti di alcuni nutraceutici, persistono numerosi dubbi sulla loro reale efficacia (12). Una recente metanalisi, condotta per valutare l'effetto ipolipemizzante di sostanze di origine naturale, ha concluso che i policosanoli posseggono proprietà ipolipemizzanti superiori agli steroli (13). Inoltre studi clinici controllati hanno dimostrato l'efficacia e la sicurezza d'impiego del lievito rosso, un altro nutraceutico usato nel trattamento dell'ipercolesterolemia (14). Infine, la berberina, un alcaloide naturale, largamente impiegato nella medicina tradizionale cinese, sembra possedere oltre alle proprietà ipolipemizzanti anche un'efficacia nel trattamento del diabete mellito di tipo 2 (15,16), e la sua somministrazione determina, nell'uomo, un'upregulation del numero e della funzione delle cellule progenitrici (EPCs) delle cellule endoteliali, probabilmente mediante un aumento dell'ossido nitrico (NO) (17). Queste tre sostanze costituiscono i componenti di un'associazione di nutraceutici autorizzata in Italia per il trattamento della dislipidemia. La dimostrazione dell'efficacia e della sicurezza di questo prodotto nel trattamento della dislipidemia, ed un'eventuale azione sulla funzione endoteliale potrebbe rappresentare una valida alternativa terapeutica nei soggetti dislipidemici, in cui non vi è chiara indicazione al trattamento con statine o addirittura vi è controindicazione. A tale scopo abbiamo condotto uno studio per valutare la reale efficacia ipolipemizzante e l'effetto sulla funzione endoteliale di quest'associazione di nutraceutici (AP), costituita da policosanolo 10 mg, lievito rosso 200 mg (3 mg di monacolina K) e berberina 500 mg, in soggetti ipercolesterolemici.

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato condotto secondo un disegno randomizzato, doppio cieco, controllato con placebo, con due gruppi paralleli, per la valutazione dell'efficacia e tollerabilità di AP nel migliorare i parametri metabolici e la funzione endoteliale in pazienti con ipercolesterolemia.

L'obiettivo primario era verificare se quest'associazione di nutraceutici fosse in grado di ridurre i livelli di colesterolo nei soggetti affetti da ipercolesterolemia.

L'obiettivo secondario era verificare se l'azione ipocolesterolemizzante fosse associata ad un miglioramento della funzione endoteliale.

Dopo aver ottenuto l'approvazione dal Comitato Etico dell'Università Federico II di Napoli ed il consenso scritto dai partecipanti, 65 soggetti, afferenti al nostro ambulatorio tra Luglio e Novembre 2007, sono stati screenati per l'arruolamento nello studio.

A seguito di un periodo di quattro settimane di run in, in cui ai soggetti screenati è stato chiesto di seguire una dieta ipolipidica, 50 pazienti, che incontravano i criteri dello studio, sono stati arruolati e assegnati random a ricevere il trattamento con AP o placebo per un periodo di sei settimane. Al termine della fase in doppio cieco è seguita una fase in aperto di 4 settimane in cui tutti i pazienti assumevano AP.

I criteri di inclusione erano:

1. Concentrazioni di colesterolo totale (C) > 220 mg/dL e di LDL-colesterolo (LDL-C) > 130 mg/dL;

2. Et  compresa tra 18 e 70 anni.

Pazienti con patologie concomitanti quali diabete mellito, scompenso cardiaco cronico, ipertensione arteriosa , e distiroidismi, sono stati ammessi purch  in condizioni stabili nei tre mesi antecedenti lo studio.

I criteri di esclusione erano:

1. Soggetti con intolleranza ad uno o pi  componenti di AP;
2. Gravidanza o allattamento;
3. Pazienti in trattamento ipolipemizzante nelle sei settimane antecedenti lo studio;
4. Concentrazione sierica dei trigliceridi (Tg) > 500 mg.

Lo screening iniziale prevedeva la raccolta dell'anamnesi, l'esame obiettivo, la misurazione dei parametri vitali ed antropometrici, gli esami ematochimici di routine, ed in particolare la valutazione dei lipidi ematici (C, HDL -C, LDL-C e Tg) la glicemia, l'insulinemia, la misurazione dei "parametri di sicurezza" (funzione renale, enzimi muscolari, AST, ALT). A tutti i pazienti   stata consigliata una dieta normocalorica ipolipidica da seguire per 4 settimane.

Dopo 4 settimane di run-in ai pazienti   stato chiesto di ritornare al mattino a digiuno da 14 ore. La funzione endoteliale   stata valutata in tutti i soggetti con lo studio della vasodilatazione flusso-mediata (FMD) dell'arteria brachiale, tramite metodica ecocolor Doppler. L'esame   stato effettuato secondo le raccomandazioni delle linee guida della "International Brachial Artery Reactivity Task Force" (18), ed ai pazienti   stato chiesto di astenersi dal fumo, dall'esercizio fisico e dall'assunzione di sostanze che potessero interferire con l'esame. Nella stessa giornata sono stati nuovamente

praticati i prelievi ematochimici ed i pazienti che incontravano i criteri di selezione dello studio sono stati randomizzati a ricevere AP o placebo alla dose di una compressa al giorno per sei settimane.

Le procedure dello studio sono state ripetute al termine delle 6 settimane di trattamento in doppio cieco, e dopo ulteriori 4 settimane di trattamento in aperto. Inoltre, dal momento che recenti evidenze scientifiche hanno dimostrato un'efficacia della berberina nel trattamento di pazienti diabetici o con insulino-resistenza (15, 16), nei soggetti con insulino resistenza arruolati sono stati valutati prima e dopo il trattamento gli indici HOMA, Quicki, e McAuley per stabilire l'effetto di AP in questa tipologia di pazienti (19, 20). Gli eventi avversi sono stati monitorati per tutta la durata dello studio.

ANALISI STATISTICA

Assumendo un livello di significatività statistica del 5% ed una potenza del 90% è stato stimato che un campione di 23 pazienti per braccio di trattamento fosse sufficiente per dimostrare un miglioramento della variabile C, di 1 DS (30 mg/dL) nel gruppo in trattamento con AP rispetto al placebo. La percentuale di drop-out è stata stimata del 5%, basandosi sulla documentata buona tollerabilità del prodotto in studio. E' stato dunque pianificato di arruolare 50 pazienti per ottenere il completamento del protocollo da almeno 46 soggetti. I dati sono stati presentati come media \pm DS. Il t-test per dati appaiati è stato utilizzato per calcolare la differenza dal baseline in ciascun gruppo. La significatività delle variazioni assolute tra i due bracci di trattamento è stata calcolata col t-test per dati non appaiati.

Un valore della $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

RISULTATI

Cinquanta soggetti aderenti ai criteri di selezione sono stati randomizzati, 48 hanno terminato lo studio e sono stati inclusi nell'analisi "per protocol", 2 sono stati persi al follow up. I soggetti dei due gruppi erano paragonabili per età, sesso, parametri antropometrici e livelli ematici di C, Tg, e valori di FMD (Tab. 1). Dopo sei settimane di trattamento attivo si è osservata una significativa riduzione sia del C che dell'LDL-C ($p < 0.001$) (Fig 1 e 2), mentre nessun cambiamento si è osservato nel gruppo placebo. I valori dell'FMD erano significativamente aumentati dal trattamento con AP (da $10 \pm 4\%$ a $13 \pm 5\%$, $p < 0.05$), indicando un miglioramento della funzione endoteliale, mentre, anche in questo caso, nessun cambiamento era stato osservato nel gruppo placebo (Fig. 3). Il confronto tra le variazioni assolute nei due gruppi evidenziava che la diminuzione del C e dell'LDL-C, e l'incremento dell'FMD dopo trattamento attivo, erano statisticamente significativi (Tab. 2). Al termine di 4 settimane di trattamento in aperto, in cui tutti i pazienti assumevano AP, si è osservata una significativa riduzione dei livelli di Tg in confronto ai valori basali (da 139 ± 69 a 112 ± 56 mg/dL; $p < 0.05$). Inoltre in 11 soggetti, selezionati dall'intero campione per avere un indice HOMA $> 2,6$, il trattamento con AP ha determinato una riduzione dell'insulina resistenza, come documentato dalla significativa variazione degli indici valutati (HOMA, Quicki e McAuley) (Tab. 3). Nessun evento avverso si è verificato per tutta la durata dello studio, e nessun cambiamento negli indici di sicurezza è stato osservato, in entrambi i gruppi.

DISCUSSIONE

I risultati di questo studio, condotto in doppio cieco e controllato con placebo, dimostrano che un trattamento con un'associazione di berberina lievito rosso e policosanoli non solo è efficace nel ridurre l'iperlipidemia ma si associa ad un significativo miglioramento della funzione endoteliale. Inoltre in un sottogruppo di pazienti con insulino resistenza, documentata da un indice HOMA > 2,6, il trattamento ha determinato una riduzione dell'insulino-resistenza come chiaramente indicato dal miglioramento non solo dell'indice HOMA, ma anche dal Quicki e McAuley. Nessuno di questi effetti è stato osservato nel gruppo placebo. Non sono stati registrati eventi avversi, ed i parametri ematochimici di sicurezza sono rimasti invariati per tutta la durata dello studio, a conferma dell'alto profilo di tollerabilità di questa associazione. I risultati ottenuti sono in accordo con quelli osservati in un precedente studio in singolo cieco, in cui, a seguito della somministrazione di AP per 4 settimane, è stata evidenziata una riduzione del 20% del C e del 25% del LDL-C (21), e con i risultati di due studi recenti in veniva valutata l'efficacia ipolipemizzante della sola berberina alla dose di 1 gr/die (15, 22). Nel presente studio la berberina è stata somministrata alla dose di 500 mg/die, il che è vantaggioso nel ridurre gli effetti collaterali, in particolare la costipazione e la dispepsia che si manifestano, seppur raramente, ai dosaggi più alti. L'osservazione che l'efficacia terapeutica è sovrapponibile a quella osservata in altri studi, condotti con berberina somministrata a dosaggio maggiore, trova probabilmente il suo razionale nell'azione sinergica delle

tre sostanze che compongono AP. Questo è supportato dal differente meccanismo d'azione dei singoli componenti. In particolare la berberina agisce mediante la up-regolazione del recettore per l'LDL, incrementando così l'uptake del colesterolo nell'epatocita e riducendo i livelli di LDL circolanti (23); il lievito rosso ed il policosanolo inibiscono l'enzima HMG-CoA reduttasi attraverso l'attivazione di un AMP Kinasi (14, 24, 25). E' stato inoltre dimostrato che la berberina è in grado di inibire l'ac. CoA carbossilasi, un enzima chiave della sintesi del Malonil Co-A, determinando così un incremento dell'ossidazione degli acidi grassi, responsabile della ridotta sintesi dei trigliceridi (26). Recenti studi, hanno inoltre evidenziato che la berberina può esercitare un effetto positivo nell'insulino-resistenza, anche se il meccanismo non è ancora del tutto chiarito. Lee et al hanno investigato l'effetto della berberina in vitro ed in due modelli animali di insulino-resistenza, dimostrando, in un elegante lavoro, che la berberina regola negativamente l'espressione di alcuni geni coinvolti nella lipogenesi e regola invece positivamente geni coinvolti nel dispendio energetico nel tessuto adiposo e nel muscolo (22). Il trattamento con berberina aumenta l'attività dell'AMP kinasi negli adipociti favorendo la traslocazione di GLUT4 e riducendo quindi l'accumulo di lipidi (26). E' stato anche dimostrato che la berberina diminuisce in acuto la produzione di insulina stimolata dal glucosio (27), agendo quindi come una sostanza insulino-sensibilizzante. Infine un recentissimo lavoro ha messo in evidenza che un trattamento per 30 giorni con berberina incrementa, nei soggetti sani, i livelli di NO plasmatico ed aumenta il numero e la funzione delle cellule EPCs circolanti (17). Questi dati possono spiegare, in parte, i risultati positivi sulla funzione endoteliale osservati nei pazienti di questo studio

dopo trattamento con AP.

Considerevoli evidenze scientifiche supportano l'associazione tra insulino-resistenza e malattie vascolari (28) cosicchè diminuire il C con le statine in pazienti con insulino-resistenza è certamente di beneficio ma non sufficiente a correggere l'incrementato rischio cardiovascolare. Ciò è in parte dovuto al fatto che aumentati livelli di insulinemia stimolano la produzione endoteliale di superossido mediante l'NADP(H)ossidasi, e che l'up-regolazione della rac-prenilazione, in parte responsabile di questo fenomeno, determina un danno della funzione endoteliale (29, 30), attualmente riconosciuto come uno step precoce nella fisiopatologia della malattia aterosclerotica (7, 8). In conclusione, l'associazione di nutraceutici usata nel presente studio è risultata molto efficace nel ridurre il profilo aterosclerotico in pazienti ipercolesterolemici riducendo le concentrazioni lipidiche, migliorando la funzione endoteliale, ed aumentando la sensibilità all'insulina. Ulteriori ricerche sono necessarie per validarne l'efficacia in pazienti con insulino-resistenza, dal momento che nel nostro studio essi rappresentavano solo il 20% del campione, e che, per la scarsa numerosità, sono stati valutati nella fase in aperto. L'attesa efficacia in questa tipologia di pazienti potrà consentire studi prospettici a lungo termine per valutare l'impiego di quest'associazione come nuovo strumento terapeutico per la prevenzione del rischio cardiovascolare nei pazienti con sindrome metabolica; nel frattempo l'associazione di berberina, policosanolo e lievito rosso può essere considerata un valido approccio terapeutico per ridurre l'ipercolesterolemia nei pazienti in prevenzione primaria per le malattie cardiovascolari, in quelli affetti da ipercolesterolemia lieve o moderata, in pazienti con intolleranza o controindicazione

all'uso di statine ed in quelli con iperCKemia familiare.

BIBLIOGRAFIA

1. Rosamond W, Flegal K, Furie K, Go A, Greenlund K, Haase N, et al. American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*. 2008;117:e25-e146.
2. Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ*. 1994;308:367-72.
3. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*. 1994;344:1383-9.
4. Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med*. 1998;339:1349-57.
5. MRC/BHF Heart Protection Study Investigators. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2002;360:7-22.
6. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Crowe T, Sasiela JW, Tsai J, et al. Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL)

- Investigators. Statin Therapy, LDL Cholesterol, C-Reactive Protein, and Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2005;352:29-38.
7. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis, *Circulation*.2004; 109: III 27– III 32.
 8. Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, Pandian NG, Rand WM, Udelson JE, et al. Peripheral vascular endothelial function testing as a noninvasive indicator of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2001; 38:1843-9.
 9. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106:3143–421.
 10. Kamal-Bahl SJ, Burke T, Watson d , Wentworth C. Discontinuation of Lipid Modifying Drugs Among Commercially Insured United States Patients in Recent Clinical Practice. *Am J Cardiol*. 2007;99:530-4.
 11. Vinker S, Shani M, Baevsky T, Elhayany A. Adherence with statins over 8 years in a usual care setting. *Am J Manag Care*. 2008;14:388-92.
 12. Berthold HK, Unverdorben S, Degenhardt R, Bulitta M, Gouni-Berthold I. Effect of policosanol on lipid levels among patients with hypercholesterolemia or combined hyperlipidemia: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2006;295:2262-9.
 13. Chen JT, Wesley R, Shamburek RD, Pucino F, Csako G. 2005 Meta-analysis of natural therapies for hyperlipidemia: plant sterols and stanols versus policosanol. *Pharmacotherapy*. 25:171-83.
 14. Heber D, Yip I, Ashley JM, Elashoff DA, Elashoff RM, Go VL. Cholesterol-

- lowering effects of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:231-6.
15. Zhang Y, Li X, Zou D, Liu W, Yang J, Zhu N, et al. Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid berberine. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(7):2559-65.
 16. Yin J, Xing H, Ye J. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2008;57:712-7.
 17. Xu MG, Wang JM, Chen L, Wang Y, Yang Z, Tao J. Berberine-Induced Upregulation of Circulating Endothelial Progenitor Cells Is Related to Nitric Oxide Production in Healthy Subjects. *Cardiology.* 2008 25;112: 279-86.
 18. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:257-65.
 19. McAuley KA, Williams SM, Mann JI, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Temple LA, et al. Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes Care.* 2001; 24(3): 460-4.
 20. Matsuda M, DeFronzo MRA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic clamp. *Diabetes Care.* 1999;22(9):1462-70.
 21. Cicero AF, Rovati LC, Setnikar I. Eulipidemic effects of berberine administered alone or in combination with other natural cholesterol-lowering agent. A single

- blind clinical investigation. *Arzneimittelforschung*.2007;57:26-30.
22. Lee YS, Kim WS, Kim KH, Yoon MJ, Cho HJ, Shen Y,et al. Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states. *Diabetes*. 2006;55:2256-64.
 23. Kong W, Wei J, Abidi P, Lin M, Inaba S, Li C, et al. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med*. 2004;10:1344-51.
 24. Singh DK, Li L, Porter TD. Policosanol inhibits cholesterol synthesis in hepatoma cells by activation of AMP-kinase. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;318:1020-6.
 25. Journoud M, Jones PJ. Red yeast rice: a new hypolipidemic drug. *Life Sci*. 2004;74:2675-83.
 26. Brusq JM, Ancellin N, Grondin P, Guillard P, Martin S, Saintillan Y, et al. Inhibition of lipid synthesis through activation of AMP-Kinase: an additional mechanism for the hypolipidemic effects of berberine. *J Lipid Res*. 2006;47:1281-8.
 27. Zhou L, Wang X, Shao L, Yang Y, Shang W, Yuan G, et al. Berberine acutely inhibits insulin secretion from beta cells through cAMP signaling pathway. *Endocrinology*.2008; 149(9): 4510-8.
 28. Semenkovich CF. Insulin resistance and atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2006;116:1813-22.
 29. Montagnani M, Golovchenko I, Kim I, Koh GY, Goalstone ML, Mundhekar AN, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells. *J Biol Chem*. 2002;277:1794-9.

30. McCarty MF. Insulin's stimulation of endothelial superoxide generation may reflect up-regulation of isoprenyl transferase activity that promotes rac translocation. *Med Hypotheses*. 2002;58:472-5.

Tabella 1. Caratteristiche della popolazione

	M/F	Età (anni)	BMI	C (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	LDL-C (mg/dL)	Tg (mg/dL)	FMD (%)
AP	13/11	55 ± 8	28 ± 3.3	255 ± 29	59 ± 18	176 ± 25	130 ± 73	10 ± 4
PL	8/16	55 ± 7	28 ± 3.7	251 ± 31	53 ± 14	171 ± 22	148 ± 64	10 ± 4

AP: associazione nutraceutica; **PL:** Placebo; **C:** colesterolo totale; **HDL-C:** HDL-colesterolo; **LDL-C:** LDL-colesterolo; **Tg:** trigliceridi; **FMD:** Flow mediated dilation; **M:** maschio; **F:** femmina.

Tabella 2. Effetti dell'associazione nutraceutica o del Placebo sui lipidi e sulla flow mediated dilation (confronto tra le variazioni assolute)

	C (mg/dL)	HDL-C (mg/dL)	LDL-C (mg/dL)	Tg (mg/dL)	FMD (%)
AP (n=24)	-44 ± 34	1 ± 11	-41 ± 29	-17 ± 40	3 ± 4
PL (n=24)	-1 ± 30	3 ± 6	4 ± 21	5 ± 57	0 ± 3
p	<0.00001	NS	<0.00001	=0.06	<0.05

AP: associazione nutraceutica; **PL:** Placebo; **C:** colesterolo totale; **HDL-C:** HDL-colesterolo; **LDL-C:** LDL-colesterolo; **Tg:** trigliceridi; **FMD:** Flow mediated dilation.

Tabella 3. Effetti dell'associazione nutraceutica sugli indici di insulino-resistenza

	HOMA	Quicki index	McAuley index
Basale (n=11)	3.3 ± 0.4	0.32 ± 0.005	5.73 ± 1
AP (n=11)	2.5 ± 1.3	0.34 ± 0.02	6.9 ± 1
p	<0.05	<0.05	<0.01

AP: associazione nutraceutica

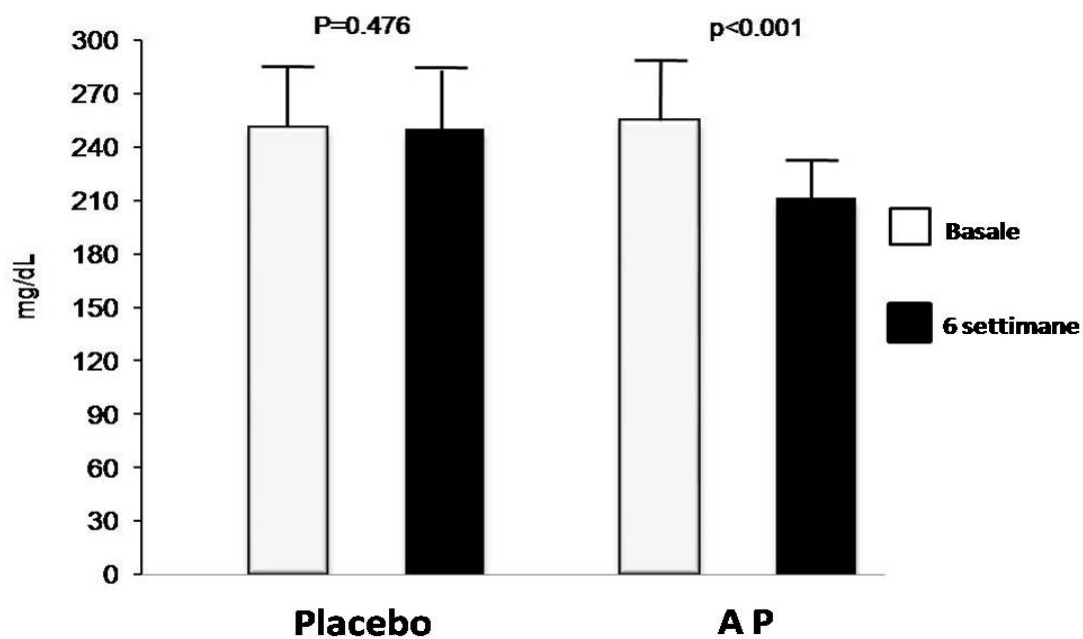


Figura 1. Variazione del colesterolo totale nei pazienti trattati con placebo e nei pazienti in trattamento attivo (AP) dopo il ciclo di sei settimane in doppio cieco

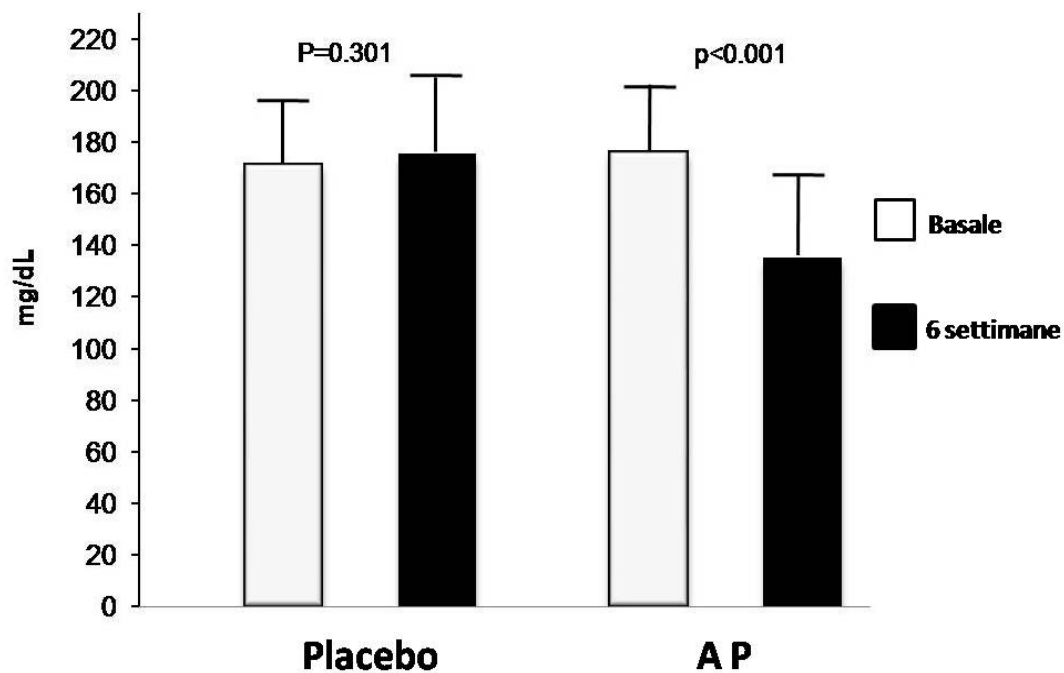


Figura 2. Variazione del colesterolo-LDL nei pazienti trattati con placebo e nei pazienti in trattamento attivo (AP) dopo il ciclo di sei settimane in doppio cieco

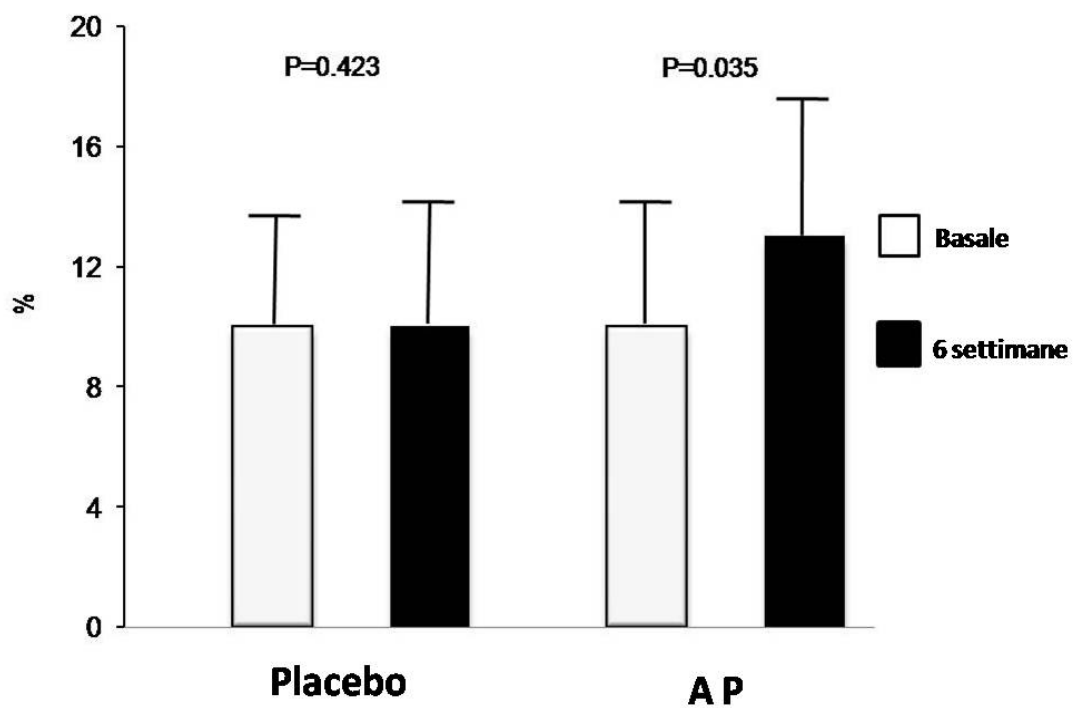


Figura 3. Variazione della vasodilatazione flusso mediata (FMD) nei pazienti trattati con placebo e nei pazienti in trattamento attivo (AP) dopo il ciclo di sei settimane in doppio cieco