

MINERVA

CHIRURGICA

VOL. 75 · SUPPL. I · N. 2 · APRILE 2020

**TRATTAMENTO DELL'IPERCOLESTEROLEMIA LIEVE E MODERATA  
CON UN INTEGRATORE NUTRACEUTICO A BASE DI ESTRATTO  
POLIFENOLICO DI MELA ANNURCA (*MALUS PUMILA MILLER  
CULTIVAR ANNURCA*) ED ESTRATTO DI OLIVO (*OLEA EUROPAEA L.*):  
STUDIO RETROSPETTIVO DI TIPO OSSERVAZIONALE**

Beniamino PALMIERI, Maria VADALÀ, Carmen LAURINO



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

## ORIGINAL ARTICLE

# Trattamento dell'ipercolesterolemia lieve e moderata con un integratore nutraceutico a base di estratto polifenolico di mela Annurca (*Malus pumila* Miller cultivar Annurca) ed estratto di olivo (*Olea europaea* L.): studio retrospettivo di tipo osservazionale

Beniamino PALMIERI<sup>1,2</sup>, Maria VADALÀ<sup>1,2</sup>\*, Carmen LAURINO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento Chirurgico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con Interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia; <sup>2</sup>Network del Secondo Parere, Modena, Italia

\*Autore di contatto: Maria Vadala, Dipartimento Chirurgico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con Interesse Trapiantologico, Oncologico e di Medicina Rigenerativa, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Largo del Pozzo 71, 41124 Modena, Italia. E-mail: mary.vadala@gmail.com

## ABSTRACT

TREATMENT OF MILD AND MODERATE HYPERCHOLESTEROLEMIA WITH ANNURCA APPLE (*MALUS PUMILA MILLER CULTIVAR ANNURCA*) POLYPHENOLIC EXTRACT AND OLIVE EXTRACT: A RETROSPECTIVE OBSERVATIONAL STUDY

**BACKGROUND:** Hypercholesterolemia is an increase OF circulating total and LDL cholesterol (TC) with an increased risk of developing cardiovascular (CV) diseases. A therapeutic alternative to drug treatments is a series of natural active ingredients (fruits and herbal extracts), in order to counteract the oxidative stress and the endothelial storage of cholesterol crystals in the atherosclerotic arterial wall. This open spontaneous retrospective observational study investigates the effects of a nutraceutical supplementation based on the polyphenolic extract of Annurca apple and oleuropein olive extract in patients with mild and moderate hypercholesterolemia.

**METHODS:** We retrospectively enrolled 20 patients (10 women and 10 men) aged between 37 and 81 years old with mild and moderate hypercholesterolemia. For 3 months, patients received an oral capsulated nutraceutical supplementation containing polyphenolic extracts of Annurca apple (300 mg) and olive extract (200 mg) twice daily, after lunch and after dinner. The lipid profile (TC, LDL cholesterol and HDL cholesterol) and the cardiovascular risk indices (LDL cholesterol and HDL cholesterol ratio, TC and HDL cholesterol ratio) were evaluated before the treatment and monthly for three months in the follow-up.

**RESULTS:** Greater therapeutic effects were achieved in patients with mild hypercholesterolemia. CT and LDL cholesterol decreased by 17.2% (P<0.01) and 31.3% (P<0.001), respectively, after 3 months of treatment. The LDL/HDL ratio was reduced by 31% (P<0.001) in women and by 41.2% (P<0.001) in men after 3 months of treatment. The TC/HDL ratio decreased by 19.9% (P<0.01) in women and 22.3% (P<0.001) in men after 3 months of treatment.

**CONCLUSIONS:** The combination of polyphenolic extract of Annurca apple and olive extract can be a valid remedy for the treatment of mild hypercholesterolemia.

**KEY WORDS:** Hypercholesterolemia; Polyphenols; Malus; Oleuropein; Olea.

## RIASSUNTO

**OBIETTIVO:** L'ipercolesterolemia è una condizione caratterizzata da un aumento del colesterolo totale (TC) e del colesterolo LDL nel sangue ed è associata ad un aumento del rischio di sviluppare patologie cardiovascolari. Un'alternativa

terapeutica al trattamento farmacologico viene offerta da una serie di principi attivi naturali, tra cui gli estratti naturali, in grado di controllare lo stress ossidativo ed il processo aterosclerotico legato all'accumulo di colesterolo nei vasi sanguigni. Questo studio aperto semplice retrospettivo spontaneo di tipo osservazionale valuta gli effetti di un integratore nutraceutico a base di estratto polifenolico di mela Annurca ed estratto di olivo in pazienti affetti da colesterolemia lieve e moderata.

**METODI:** Venti pazienti (10 donne e 10 uomini) di età compresa tra i 37 e gli 81 anni affetti da ipercolesterolemia lieve e moderata, afferenti al Network del Secondo Parere, sono stati arruolati retrospettivamente. Per 3 mesi i pazienti hanno assunto un integratore nutraceutico in formulazione orale di capsule contenenti estratto polifenolico di mela Annurca (300 mg) ed estratto di olivo tit. 15% oleuropeina (200 mg) per due volte al giorno, dopo pranzo e dopo cena. Sono stati valutati il profilo lipidico (TC, colesterolo LDL e colesterolo HDL) e gli indici di rischio cardiovascolare (rapporto tra colesterolo LDL e colesterolo HDL, rapporto tra TC e colesterolo HDL) prima di iniziare il trattamento e mensilmente per una durata complessiva di 3 mesi.

**RISULTATI:** L'effetto terapeutico più significativo è stato ottenuto nei pazienti affetti da ipercolesterolemia lieve. Il TC ed il colesterolo LDL si sono ridotti dell'17,2% ( $P<0,01$ ) e del 31,3% ( $P<0,001$ ), rispettivamente, dopo 3 mesi di trattamento. Il rapporto LDL/HDL si è ridotto del 31% ( $P<0,001$ ) nelle donne e del 41,2% ( $P<0,001$ ) negli uomini dopo 3 mesi di trattamento. Il rapporto TC/HDL si è ridotto del 19,9% ( $P<0,01$ ) nelle donne e del 22,3% ( $P<0,001$ ) negli uomini dopo 3 mesi di trattamento.

**CONCLUSIONI:** La combinazione di un estratto polifenolico di mela Annurca ed olivo può essere un valido rimedio per il trattamento dell'ipercolesterolemia lieve.

**PAROLE CHIAVE:** Ipercolesterolemia lieve-moderata; Polifenoli; Annurca; Oleuropeina; Olivo.

Il colesterolo è una molecola lipidica appartenente alla classe degli steroli che costituisce le membrane delle cellule animali, il precursore degli ormoni steroidei, della vitamina D e degli acidi biliari.<sup>1</sup> Esso viene trasportato da lipoproteine a bassa densità e alta densità e viene misurato sotto forma di colesterolo totale (TC) che ne comprende tutte le altre forme, incluse quelle trasportate da lipoproteine a media densità e a densità molto bassa (non-HDL), a cui appartengono il colesterolo VLDL, IDL ed LDL.<sup>2</sup> Tuttavia, l'aumento delle concentrazioni di TC circolante (ipercolesterolemia) rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo delle malattie cardiovascolari.<sup>3</sup> In particolare, l'aumento di TC, colesterolo LDL e non-HDL sembra essere maggiormente associato alla formazione di placche aterosclerotiche, infarto del miocardio, sindrome metabolica ed ai disturbi associati all'aumento del rischio cardiovascolare.<sup>4</sup> Di contro, invece, il colesterolo HDL, grazie alla sua attività di trasporto del colesterolo dal sangue alle cellule, sembra svolgere un ruolo protettivo.<sup>5</sup> Si parla di ipercolesterolemia lieve, moderata o grave a seconda dei valori di CT nel sangue (Tabella I).<sup>6</sup> Un altro parametro fondamentale per la valutazione del rischio cardiovascolare è il rapporto tra colesterolo LDL e colesterolo HDL: quanto più esso è a favore del colesterolo LDL, tanto maggiore sarà il rischio di sviluppare malattie cardiovascolari.<sup>7</sup> Infine, il rapporto tra TC ed HDL può

fornire ulteriori informazioni riguardo lo stato metabolico dell'individuo, tenendo presente che i valori ideali corrispondono a <5 per gli uomini e <4,5 per le donne (Tabella I).<sup>7</sup> L'unione dei due parametri consente di prevedere meglio i rischi di mortalità. Occorre inoltre sottolineare che la valutazione generale del rischio di sviluppare

TABELLA I.—Definizione di colesterolemia normale, ipercolesterolemia e rischio cardiovascolare.

Definizioni		
Valori di colesterolo totale (CT) nel sangue		
<200 mg/dl	Colesterolemia normale	
200 -249 mg/dl	Ipercolesterolemia lieve	
250-299 mg/dl	Ipercolesterolemia moderata	
>299 mg/dl	Ipercolesterolemia grave	
Valori di colesterolo LDL nel sangue		
<115 mg/dl	Valore normale	
Valori di colesterolo HDL nel sangue		
>43 mg/dl	Valore normale	
Rischio cardiovascolare	Rapporto LDL/HDL Uomini	Rapporto LDL/HDL Donne
Molto basso (dimezzato)	1	1,47
Medio	3,55	3,22
Moderato (raddoppiato)	6,35	5
Molto alto (triplicato)	8	6,14
Rischio cardiovascolare	Rapporto TC/HDL Uomini	Rapporto TC/HDL Donne
Molto basso (dimezzato)	3,43	3,27
Medio	4,97	4,44
Moderato (raddoppiato)	9,55	7,05
Molto alto (triplicato)	24	>11,04

malattie cardiovascolari tiene conto anche di altri parametri individuali, quali ad esempio l'età, la circonferenza vita, il BMI, il fumo, etc.<sup>4</sup>

Le mele sono tra i frutti maggiormente consumati soprattutto nel Nord Europa e nel Nord America e tra i frutti più studiati. Il consumo giornaliero da 4 a 5 frutti è stato associato ad una riduzione significativa dei valori di TC e colesterolo LDL.<sup>8</sup> In particolare, la frazione polifenolica a base di proantocianidine oligomeriche della varietà Annurca (*Malus pumila Miller cultivar Annurca*), rispetto alle altre varietà, possiede un marcato effetto sul metabolismo del colesterolo, riducendo lo stress ossidativo plasmatico attraverso l'attivazione di enzimi antiossidanti coinvolti con l'abbassamento del rischio di patologie cardiovascolari<sup>9, 10</sup> e inibendo l'ingresso di colesterolo negli epatociti probabilmente formando delle micelle in grado di inglobare al loro interno le molecole di colesterolo che in questo modo "sfuggono" all'uptake cellulare.<sup>11</sup> Le proantocianidine oligomeriche, inoltre, inibiscono il recettore Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1), recettore endoteliale per il colesterolo LDL ossidato, coinvolto nello sviluppo di molte patologie cardiovascolari, prevenendone il legame con il colesterolo LDL.<sup>12</sup> Infine, la frazione fibrosa a base di pectina di queste mele potrebbe essere coinvolta nel modulare il metabolismo del colesterolo, sebbene l'esatto meccanismo d'azione non sia ancora chiaro.<sup>13</sup>

Un'altra fonte di composti fenolici attivi sul metabolismo del colesterolo sono quelli provenienti dall'olivo (*Olea europaea L.*), il cui contenuto totale si aggira intorno ai 196-500 mg/kg<sup>14</sup> e che dipende da diversi fattori, tra cui le caratteristiche ambientali in cui la pianta è cresciuta, il metodo di estrazione e le condizioni di conservazione,<sup>15</sup> e che possono essere suddivisi in tre grosse categorie: (i) lignani; (ii) fenoli semplici; (iii) secoiridoidi. Tra i secoiridoidi, un composto che riveste notevole importanza è l'oleuropeina, una molecola con spiccata attività antiradicalica nei confronti del colesterolo LDL ossidato, molto più marcata rispetto ad altre molecole antiossidanti, tra cui la vitamina E ed il dimetilsolfossido.<sup>14, 15</sup> L'oleuropeina possiede inoltre il claim di essere un regolatore delle concentrazioni plasmatiche del TC, del colesterolo

LDL e del colesterolo HDL.<sup>16</sup> Il meccanismo è basato sulla regolazione dell'assorbimento intestinale del colesterolo, influenzando la sintesi e la clearance del colesterolo LDL e l'inibizione degli enzimi epatici coinvolti nella biosintesi, con effetto diretto sulle concentrazioni di colesterolo plasmatico.<sup>16</sup>

Scopo di questo studio è di valutare gli effetti della supplementazione con un integratore alimentare a base di estratto polifenolico di mela Annurca ed estratto di olivo titolato in oleuropeina sui valori di CT, colesterolo LDL, colesterolo HDL e rischio cardiovascolare, in pazienti affetti da ipercolesterolemia lieve e moderata.

## Materiali e metodi

### Pazienti

Attraverso il Network del Secondo Parere sono stati arruolati retrospettivamente 20 pazienti, di età superiore ai 35 anni, che presentavano ipercolesterolemia lieve o moderata, valutata per mezzo di prelievo di sangue capillare a digiuno. Essi si erano rivolti spontaneamente al counseling del Network del Secondo Parere nel tentativo di ottenere qualche miglioramento fronte di precedenti ripetuti e frustranti approcci curativi. Il Network del secondo Parere è essenzialmente un servizio consultivo per casi clinici complessi, non risolti adeguatamente, oppure non sufficientemente soddisfatti sotto il profilo della diagnosi e/o della terapia prescritta per risolvere un problema. Nel caso della ipercolesterolemia, come in molte disfunzioni metaboliche, dopo ripetuti trattamenti farmacologici i pazienti vanno alla ricerca di nuove soluzioni terapeutiche, in un turnover che passa attraverso il web, diretto a svariati specialisti con i più diversi approcci terapeutici in una forma di ricerca ripetitiva e talora ossessiva che abbiamo definito "Web Babel Syndrome" (Sindrome di Babele del Web).<sup>17, 18</sup>

I criteri diagnostici per la ipercolesterolemia lieve e moderata sono riportati nella Tabella I.

### Precedenti terapie farmacologiche

Tutti i pazienti avevano utilizzato composti farmacologici ad azione modulatrice, traendone nullo o parziale beneficio. La farmacoterapia

classica, prevede l'utilizzo di farmaci ipolipemizzanti tra cui le statine in grado di bloccare l'enzima HMG-CoA-reduttasi, coinvolto nella sintesi del colesterolo, (Atorvastatina, Lovastatina, Simvastatina, Fluvastatina e Pravastatina); i fibrati (Gemfibrozil, Flenofibrato e Clofibrato); farmaci inibitori selettivi dell'assorbimento intestinale del colesterolo in grado di agire sul colesterolo biliare e quello assunto con la dieta (Ezetimibe); la Niacina in associazione alle statine; le resine sequestranti gli acidi biliari (Colestipolo, Colestiramina, Colesevelam). Tuttavia, il loro utilizzo, è legato assai spesso a lievi, moderati e severi effetti collaterali, tra cui reazioni di ipersensibilità al principio attivo, dolore e tensione muscolare, impotenza, flatulenza, diarrea, stipsi, nausea, meteorismo, etc, oltre ad essere associate ad un aumento del rischio di miopatie e di sviluppare calcoli biliari, e ad essere limitato dalle frequenti interazioni farmacologiche e controindicazioni. Inoltre i pazienti si erano sottoposti a terapia nutraceutica a base di riso rosso fermentato, tarassaco, carciofo, olio di pesce e borragine, senza ottenere alcun sostanziale beneficio. Nella nostra pratica clinica siamo quindi soliti a sottoporre i pazienti ad una interruzione (wash out) dai precedenti trattamenti per la durata di 2 settimane, indi somministriamo l'integratore nutraceutico approntato su nostra formulazione galenica.

#### Criteri di esclusione

Sono stati esclusi dalla valutazione donne in gravidanza o in allattamento.

#### Disegno dello studio

È stato condotto uno studio retrospettivo di tipo osservazionale della durata complessiva di 3 mesi. Durante il periodo di trattamento i pazienti hanno ricevuto un trattamento nutraceutico in formulazione orale di capsule contenenti: estratto di Mela Annurca (per 1 capsula: *Malus pumila Miller cultivar Annurca*, estratto polifenolico, 300 mg) ed estratto di olivo (per 1 capsula: *Olea europaea L.*, 15% oleuropeina, 200 mg), 2 capsule al giorno 1 dopo pranzo e una dopo cena. Tutti i pazienti non hanno modificato le proprie abitudini alimentari durante tutto il periodo di trattamento.

Inoltre, durante tutto il periodo di trattamento, i pazienti sono stati invitati a segnalare eventuali effetti collaterali.

#### Criteri di valutazione

La visita iniziale comprendeva il dosaggio del TC, colesterolo LDL e colesterolo HDL, mediante prelievo di sangue capillare a digiuno da almeno 12 ore utilizzando un dispositivo Points of Care (Colestech LDX System, Alere Srl, Scorzè, Venezia, Italia) certificato *Cholesterol Reference Method Laboratory Network (CRMLN)* basato su un analizzatore automatico con una cassetta di controllo ottica collegata a una stampante. Nello specifico, i valori di CT, colesterolo LDL e colesterolo HDL sono stati misurati mediante il metodo spettrofotometrico. Il protocollo di raccolta prevedeva il prelievo di 40 µl di sangue capillare dal terzo dito della mano con un capillare e poi trasferiti immediatamente in cassette di controllo con la spinta degli appositi stantuffi. Veniva inoltre valutato il rapporto tra colesterolo LDL e colesterolo HDL ed il rapporto tra CT e colesterolo HDL. Il paziente veniva rivisto mensilmente, per tutta la durata del trattamento e durante le tre visite successive sono state ripetute tutte le misurazioni.

#### Analisi statistica

Per testare la significatività statistica è stato utilizzato il test chi-quadrato di Pearson. L'analisi statistica è stata eseguita usando il software R. La significatività statistica è stata impostata per un valore di  $P < 0,01$  e  $P < 0,001$ .

## Risultati

#### Pazienti

Venti pazienti hanno seguito i 3 mesi di trattamento. La casistica era così rappresentata: 13 donne (65%) e 7 uomini (35%) di età compresa tra i 37 e gli 81 anni (Tabella II). La Tabella III mostra la statistica descrittiva dei parametri analizzati prima e dopo il trattamento. 11 pazienti (55%) erano affetti da ipercolesterolemia lieve di cui 6 donne (54,5%) e 5 uomini (45,5%), mentre 9 pazienti (45%) erano affetti da ipercolesterolemia moderata di cui 7 donne (77,8%) e 2 uomini (22,2%).

TABELLA II.—*Dati generali della casistica di pazienti trattati al tempo 0, prima di iniziare il trattamento con l'integratore nutraceutico (N.=20).*

	BMI	Età	Colesterolo totale (mg/dl)	Colesterolo LDL (mg/dl)	Colesterolo HDL (mg/dl)	LDL/HDL	CT/HDL
Valore medio	22,3	62,5	245	158	60	2,7 (Donne) 2,7 (Uomini)	4,2 (Donne) 4,2 (Uomini)
Valore minimo	18,9	37	206	136	42	1,8	3,1
Valore massimo	24,7	81	290	198	83	3,5	4,9
Mediana	22,5	63	240	154	57	2,7	4,2
Deviazione standard	1,8	13,4	22,2	15,0	11,0	0,5	0,5

Donne: 13 (65%); uomini: 7 (35%).

TABELLA III.—*Valori medi, minimi, massimi, mediana e deviazione standard dei parametri valutati prima, dopo 1 mese, dopo 2 mesi e dopo 3 mesi di trattamento con l'integratore nutraceutico (N.=20).*

	Valore medio	Valore minimo	Valore massimo	Mediana	Deviazione standard
Colesterolo totale (mg/dl) pre-trattamento	245	206	290	240	22,2
Colesterolo totale (mg/dl) dopo 1 mese	221	167	280	218	26,0
Colesterolo totale (mg/dl) dopo 2 mesi	215	176	278	210	24,2
Colesterolo totale (mg/dl) dopo 3 mesi	202	174	265	198	21,3
Colesterolo LDL (mg/dl) pre-trattamento (mg/dl)	158	136	198	154	15,0
Colesterolo LDL (mg/dl) dopo 1 mese (mg/dl)	132	93	166	134	19,3
Colesterolo LDL (mg/dl) dopo 2 mesi	123	94	170	120	19,3
Colesterolo LDL (mg/dl) dopo 3 mesi	108	92	162	103	16,8
Colesterolo HDL (mg/dl) pre-trattamento	60	42	83	57	11,0
Colesterolo HDL (mg/dl) dopo 1 mese	54	38	73	55	10
Colesterolo HDL (mg/dl) dopo 2 mesi	60	41	75	58	9,2
Colesterolo HDL (mg/dl) dopo 3 mesi	61	52	74	60	7,0
LDL/HDL pre-trattamento	2,7 (f; m)	1,8	3,5	2,7	0,5
LDL/HDL dopo 1 mese	2,5 (f; m)	1,4	3,4	2,5	0,5
LDL/HDL dopo 2 mesi	2,0 (f); 2,1 (m)	1,3	2,5	2,1	0,3
LDL/HDL dopo 3 mesi	1,8 (f); 1,8 (f)	1,3	2,2	1,8	0,2
Colesterolo totale/HDL pre-trattamento	4,2 (f; m)	3,1	4,9	4,2	0,5
Colesterolo totale/HDL dopo 1 mese	4,1 (f); 4,3 (m)	2,5	5,4	4,0	0,7
Colesterolo totale/HDL dopo 2 mesi	3,5 (f); 3,6 (m)	2,3	5,0	3,7	0,5
Colesterolo totale/HDL dopo 3 mesi	3,3 (f); 3,2 (m)	2,4	3,6	3,5	0,3

## TC

Il TC si è ridotto del 9,6% (non significativo) dopo 1 mese di trattamento, dell'11,8% ( $P<0,01$ ) dopo 2 mesi e del 17,2% ( $P<0,01$ ) dopo 3 mesi di trattamento (Figura 1).

## Colesterolo LDL

Il colesterolo LDL si è ridotto del 16,5% ( $P<0,01$ ) dopo 1 mese di trattamento, del 22,4% ( $P<0,001$ ) dopo 2 mesi e del 31,3% ( $P<0,001$ ) dopo 3 mesi di trattamento (Figura 2).

## Colesterolo HDL

Il colesterolo HDL si è ridotto del 9,6% (non significativo) dopo 1 mese di trattamento, è poi aumentato dello 0,6% (non significativo) dopo 2 mesi ed

ancora ha subito un incremento del 2,7% (non significativo) dopo 3 mesi di trattamento (Figura 3).

## Rapporto tra colesterolo LDL e colesterolo HDL

Il rapporto LDL/HDL si è ridotto del 7,1% ( $P<0,01$ ) nelle donne e del 7,2% ( $P<0,01$ ) negli uomini dopo 1 mese di trattamento, del 25,5% ( $P<0,001$ ) nelle donne e del 22,3% ( $P<0,001$ ) negli uomini dopo 2 mesi e del 31% ( $P<0,001$ ) nelle donne e del 41,2% ( $P<0,001$ ) negli uomini dopo 3 mesi di trattamento (Figura 4).

## Rapporto tra TC e colesterolo HDL

Il rapporto TC/HDL si è ridotto del 2,4% (non significativo) nelle donne ed è aumentato del 3,6% (non significativo) negli uomini dopo 1

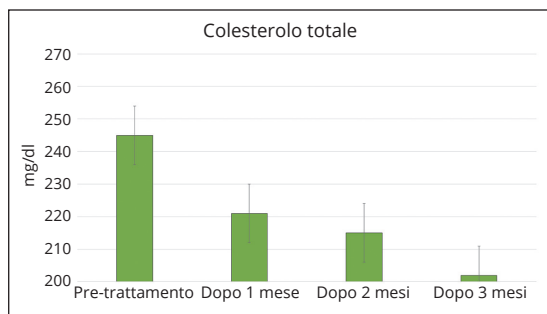


Figura 1.—Valori medi di colesterolo totale (TC) al tempo 0, dopo 1, 2 e 3 mesi di trattamento con l'integratore nutraceutico. La colesterolemia totale si riduce del 9,6% (N.S.) dopo il primo mese, dell'11,8% ( $P<0,01$ ) dopo il secondo e del 17,2% ( $P<0,01$ ) dopo il terzo mese di trattamento.

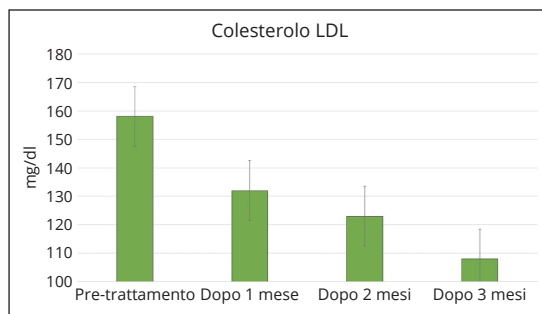


Figura 2.—Valori medi di colesterolo LDL al tempo 0, dopo 1, 2 e 3 mesi di trattamento con l'integratore nutraceutico. Questo parametro si riduce del 16,5% ( $P<0,01$ ) dopo il primo mese, del 22,4% ( $P<0,001$ ) dopo il secondo e del 31,3% dopo il terzo mese di trattamento.

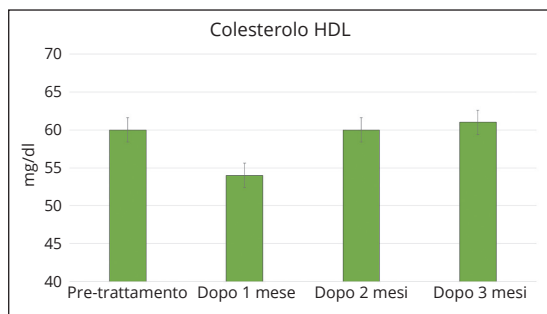


Figura 3.—Valori medi di colesterolo HDL al tempo 0, dopo 1, 2 e 3 mesi di trattamento con l'integratore nutraceutico. Questo parametro si riduce del 9,6% (N.S.) dopo il primo mese ed aumenta dello 0,6% (N.S.) dopo il secondo mese e del 2,7% (N.S.) dopo il terzo mese di trattamento.

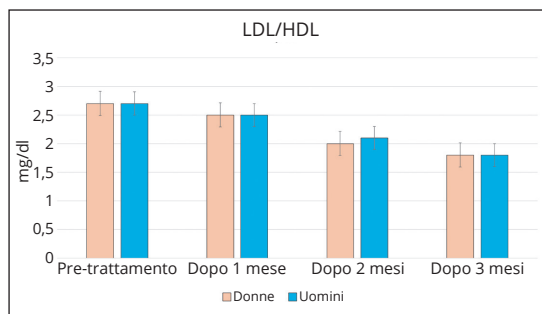


Figura 4.—Valori medi del rapporto tra colesterolo LDL e colesterolo HDL al tempo 0, dopo 1, 2 e 3 mesi di trattamento con l'integratore nutraceutico. Nelle donne il rischio cardiovascolare si riduce del 7,1% ( $P<0,01$ ) dopo il primo mese, del 25,5% ( $P<0,001$ ) dopo il secondo mese e del 31% ( $P<0,001$ ) dopo il terzo mese di trattamento. Negli uomini il rischio cardiovascolare si riduce del 7,2% ( $P<0,01$ ) dopo il primo mese, del 22,3% ( $P<0,001$ ) dopo il secondo mese e del 41,2% ( $P<0,001$ ) dopo il terzo mese di trattamento.

mese di trattamento mentre si è ridotto del 15,7% ( $P<0,01$ ) nelle donne e del 7,9% ( $P<0,01$ ) negli uomini dopo 2 mesi e del 19,9% ( $P<0,01$ ) nelle donne e del 22,3% ( $P<0,001$ ) negli uomini dopo 3 mesi di trattamento (Figura 5).

Tenendo conto dei singoli valori del rapporto tra colesterolo LDL e colesterolo HDL e del rapporto tra TC ed HDL si può desumere che il rischio cardiovascolare nelle donne si è ridotto del 4,75% dopo 1 mese di trattamento, del 20,6% dopo 2 mesi e del 27,3% dopo 3 mesi di trattamento, mentre negli uomini si riduce dell'1,8% dopo il primo mese di trattamento, del 15,4% dopo il secondo mese e del 28,5% dopo il terzo mese di trattamento.

Il trattamento dell'ipercolesterolemia con l'integratore nutraceutico è risultato essere ben tollerato dalla totalità dei pazienti. Non si sono verificati effetti avversi.

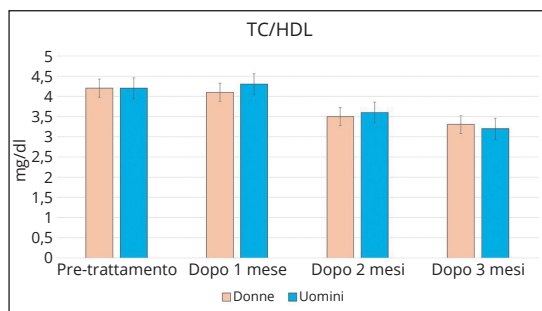


Figura 5.—Valori medi del rapporto tra colesterolo totale (TC) e colesterolo HDL al tempo 0, dopo 1, 2 e 3 mesi di trattamento con l'integratore nutraceutico. Nelle donne il rischio cardiovascolare si riduce del 2,4% (N.S.) dopo il primo mese, del 15,7% ( $P<0,01$ ) dopo il secondo mese e del 19,9% ( $P<0,01$ ) dopo il terzo mese di trattamento. Negli uomini il rischio cardiovascolare aumenta del 3,6% (N.S.) dopo il primo mese, si riduce del 7,9% ( $P<0,01$ ) dopo il secondo mese e del 22,3% ( $P<0,001$ ) dopo il terzo mese di trattamento.

## Discussione

Questo studio retrospettivo di tipo osservazionale ha evidenziato che il trattamento di pazienti affetti da ipercolesterolemia lieve e moderata con un integratore nutraceutico a base di estratto polifenolico di mela Annurca ed estratto di olivo ha ridotto il TC, il colesterolo LDL e gli indici di rischio cardiovascolare, senza modificare in modo significativo il colesterolo HDL. Nessun effetto avverso è stato riportato durante tutta la durata del trattamento.

Abbiamo proposto una formulazione semplice ma efficace di estratti per l'innanzi mai utilizzati, che si fossero mostrati attivi sul metabolismo lipidico e sugli indici di rischio cardiovascolare; in letteratura, infatti, non abbiamo trovato pubblicazioni scientifiche relative agli effetti della contemporanea assunzione dei complessi polifenolici di mela Annurca e di oleuropeina.

Il beneficio sul metabolismo lipidico è stato determinato dalla combinazione dei due estratti mediante la regolazione dello stress ossidativo cellulare e dell'uptake delle molecole di colesterolo, come descritto nel paragrafo introduttivo.<sup>9-13</sup> In letteratura scientifica è disponibile un solo studio clinico relativamente all'utilizzo dell'estratto di mela Annurca per il trattamento della ipercolesterolemia.<sup>19</sup> In questo lavoro randomizzato placebo-controllato, gli autori hanno evidenziato nel gruppo trattato con 800 mg/die di complessi polifenolici di mela Annurca per 2 mesi una riduzione del TC 24,9%, del colesterolo LDL del 37,5% ed un aumento del colesterolo HDL del 49,2%. Non sono stati analizzati gli indici di rischio cardiovascolare. Analogamente, un ulteriore studio randomizzato placebo-controllato ha evidenziato una riduzione dei valori di TC e colesterolo LDL dell'8,3% e del 14,5% rispettivamente, ed un aumento dei valori del colesterolo HDL del 15,2% in soggetti con ipercolesterolemia che assumevano 2 mele Annurca al giorno per 4 mesi.<sup>20</sup>

Per quanto riguarda, invece l'estratto di olivo, uno studio randomizzato controllato ha valutato gli effetti dell'assunzione di 20 ml al giorno di un estratto liquido per 4 mesi, titolato in oleuropeina (6.6-7.9 mg/ml) su alcuni parametri cardiovascolari.<sup>21</sup> Per quanto riguarda la colesterolemia,

è stata ottenuta una riduzione significativa del TC di 0.32 mmol/L e del colesterolo LDL di 0,19 mmol/L. Nessun effetto invece è stato registrato sul colesterolo HDL. In uno studio randomizzato controllato, l'assunzione giornaliera di 25 ml di tre tipologie di olio di oliva a diversa titolazione polifenolica (2,7 mg/kg; 164 mg/kg; 366 mg/kg) per 3 settimane produceva un aumento lineare dei valori di colesterolo HDL (+ 0,025 mmol/L; + 0,032 mmol/L; + 0,045 mmol/L rispettivamente).<sup>22</sup> Inoltre, il rapporto tra TC e colesterolo HDL si riduceva anch'esso in modo lineare con il contenuto polifenolico degli oli di oliva. Infine, uno studio condotto su 28 soggetti di età superiore ai 50 anni che assumevano 20 g di olio di oliva quotidianamente per 6 settimane aveva evidenziato una riduzione del TC e del colesterolo LDL di 0.818 mmol/L e 0.782 mmol/L, rispettivamente, senza modificare in modo significativo il colesterolo HDL.<sup>23</sup> Vi era stata, inoltre, una riduzione significativa del rapporto tra TC e colesterolo HDL e del rapporto tra colesterolo LDL e colesterolo HDL.

Nel nostro studio, il colesterolo HDL si riduceva dopo 1 mese di trattamento per poi aumentare, sebbene in modo non significativo, dopo il secondo e il terzo mese di trattamento, senza mai andare al di sotto del valore soglia patologico (<43 mg/dl).

Esiste una forte evidenza sul fatto che non sempre un aumento dei valori di colesterolo HDL sia associato ad un beneficio cardiovascolare, poiché ci sono alcuni soggetti che geneticamente sono predisposti ad avere un colesterolo HDL "non funzionante", mentre individui con bassi valori di HDL "funzionante" ne sono protetti.<sup>24</sup> I polimorfismi alla base di questo apparente contraddizione sono legati a geni codificanti per recettori e proteine trasportatrici del colesterolo HDL, oltre che dipendere dalle dimensioni delle molecole.<sup>24</sup> Nello specifico, i portatori di una mutazione nel gene dell'apolipoproteina *Apo AI (Milano)* presentano bassi valori di colesterolo HDL ma sono resistenti all'aterosclerosi,<sup>25, 26</sup> mentre soggetti con un'altra mutazione nei geni di una proteina di trasporto (*CETP*) e di una lipasi epatica hanno alti livelli di HDL (poiché il trasporto e la lipolisi ne sono influenzate, rispettivamente) ma non sono protetti dal rischio ate-



rosclerotico, anzi sono addirittura più esposti al rischio di sviluppare eventi cardiovascolari.<sup>27-29</sup> Questo apparente paradosso ci induce a sottolineare come in alcuni soggetti l'efficacia di un trattamento nutraceutico ipocolesterolemizzante non vada ricercato prevalentemente nell'aumento dei valori di colesterolo HDL, quanto piuttosto nel complesso della risposta ipolipemizzante.<sup>24</sup> La medicina personalizzata, oggi particolarmente valorizzata, si indirizza proprio ad armonizzare funzionalità del colesterolo HDL nel contesto del metabolismo lipidico del paziente, piuttosto che aumentarne le concentrazioni nel sangue.<sup>24</sup>

Solitamente, poi, la presenza di colesterolo HDL non funzionante è associata soprattutto a valori plasmatici alti, piuttosto che bassi,<sup>24</sup> con la conseguenza che chi ha valori medio-bassi di colesterolo HDL ha minore probabilità di avere una sua espressione non perfettamente funzionante.<sup>24</sup> Quindi, il valore del colesterolo HDL preso singolarmente non può fornire una rappresentazione del rischio cardiovascolare, ma questo dato deve essere integrato con i valori di TC, colesterolo LDL e gli indici di rischio per avere un quadro più obiettivo dello stato di salute dell'individuo.

Sebbene il trattamento con l'integratore nutraceutico da noi proposto non abbia indotto un aumento dei valori di colesterolo HDL, tutti gli altri parametri analizzati esprimono un significativo miglioramento, anche se alla fine del periodo di trattamento i valori di TC e colesterolo LDL rimangono superiori al limite di normalità in alcuni pazienti. Verosimilmente, estendendo il trattamento per un periodo di tempo più lungo (6 mesi) contiamo di osservare un ulteriore miglioramento dei parametri del metabolismo lipidico.

Peraltro, i pazienti che hanno beneficiato in modo maggiore del trattamento con l'integratore sono stati quei soggetti con ipercolesterolemia di grado lieve-moderata. Da definire, quindi, se l'utilizzo di questo integratore nutraceutico può essere più razionalmente appropriato per valori di ipercolesterolemia totale <249 mg/dl.

Per quanto riguarda gli indici di rischio cardiovascolare il beneficio è significativo e dato dalla generale riduzione del TC; infatti, prima di iniziare il trattamento i pazienti sia di sesso femminile che maschile presentavano un rischio medio, mentre dopo il trattamento il rischio di-

venta basso (Tabella I). Il rapporto tra colesterolo LDL/HDL si modifica anch'esso e i valori riconoscono un indice di rischio cardiovascolare basso, che si riduce progressivamente durante i due mesi di trattamento di un punto a favore del colesterolo LDL.

## Conclusioni

In conclusione, la combinazione di un estratto polifenolico di mela Annurca e di un estratto di olivo titolato in oleuropeina può essere un valido rimedio per il trattamento dell'ipercolesterolemia lieve-moderata. L'inconsistente incremento del colesterolo HDL non deve essere interpretato in senso deterioro come assenza di effetto protettivo sul rischio cardiovascolare, poiché bisogna considerare l'assetto genetico di ogni singolo individuo in grado di influenzarne il funzionamento.

## Bibliografia

1. Scheen AJ. [Hypercholesterolemia-related cardiovascular risk: a continuum from a notion of normality, intervention threshold and therapeutic objectives]. *Rev Med Liege* 1999;54:17-21.
2. Cham BE. Importance of apolipoproteins in lipid metabolism. *Chem Biol Interact* 1978;20:263-77.
3. Johnson WJ, Phillips MC, Rothblat GH. Lipoproteins and cellular cholesterol homeostasis. *Subcell Biochem* 1997;28:235-76.
4. Sisti LG, Dajko M, Campanella P, Shkurti E, Ricciardi W, De Waure C. The effect of multifactorial lifestyle interventions on cardiovascular risk factors: a systematic review and meta-analysis of trials conducted in the general population and high risk groups. *Prev Med* 2018;109:82-97.
5. Carew TE, Koschinsky T, Hayes SB, Steinberg D. A mechanism by which high-density lipoproteins may slow the atherogenic process. *Lancet* 1976;1:1315-7.
6. Boytsov S, Logunova N, Khomitskaya Y, Investigators CI. Suboptimal control of lipid levels: results from the non-interventional Centralized Pan-Russian Survey of the Undertreatment of Hypercholesterolemia II (CEPHEUS II). *Cardiovasc Diabetol* 2017;16:158.
7. Lemieux I, Lamarche B, Couillard C, Pascot A, Cantin B, Bergeron J, *et al.* Total cholesterol/HDL cholesterol ratio vs LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio as indices of ischemic heart disease risk in men: the Quebec Cardiovascular Study. *Arch Intern Med* 2001;161:2685-92.
8. Djousse L, Arnett DK, Coon H, Province MA, Moore LL, Ellison RC. Fruit and vegetable consumption and LDL cholesterol: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Clin Nutr* 2004;79:213-7.
9. Dragsted LO, Pedersen A, Hermetter A, Basu S, Hansen M, Haren GR, *et al.* The 6-a-day study: effects of fruit and vegetables on markers of oxidative stress and anti-

oxidative defense in healthy nonsmokers. *Am J Clin Nutr* 2004;79:1060-72.

10. Lamperi L, Chiuminatto U, Cincinelli A, Galvan P, Giordani E, Lepri L, *et al.* Polyphenol levels and free radical scavenging activities of four apple cultivars from integrated and organic farming in different Italian areas. *J Agric Food Chem* 2008;56:6536-46.
11. Tenore GC, Campiglia P, Stiuso P, Ritieni A, Novelino E. Nutraceutical potential of polyphenolic fractions from Annurca apple (*M. pumila* Miller cv Annurca). *Food Chem* 2013;140:614-22.
12. Nishizuka T, Fujita Y, Sato Y, Nakano A, Kakino A, Ohshima S, *et al.* Procyanidins are potent inhibitors of LOX-1: a new player in the French Paradox. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 2011;87:104-13.
13. Brouns F, Theuvsen E, Adam A, Bell M, Berger A, Mensink RP. Cholesterol-lowering properties of different pectin types in mildly hyper-cholesterolemic men and women. *Eur J Clin Nutr* 2012;66:591-9.
14. Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Wurtele G, Spiegelhalder B, *et al.* Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncol* 2000;1:107-12.
15. Visioli F, Poli A, Gall C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med Res Rev* 2002;22:65-75.
16. Merola N, Castillo J, Benavente-Garcia O, Ros G, Nieto G. The Effect of Consumption of Citrus Fruit and Olive Leaf Extract on Lipid Metabolism. *Nutrients* 2017;9.
17. Palmieri B, Iannitti T, Capone S, Fistetto G, Arisi E. [Second opinion clinic: is the Web Babel Syndrome treatable?]. *Clin Ter* 2011;162:575-83.
18. Palmieri B, Iannitti T. The Web Babel syndrome. *Patient Educ Couns* 2011;85:331-3.
19. Tenore GC, Caruso D, Buonomo G, D'Avino M, Campiglia P, Marinelli L, *et al.* A Healthy Balance of Plasma Cholesterol by a Novel Annurca Apple-Based Nutraceutical Formulation: Results of a Randomized Trial. *J Med Food* 2017;20:288-300.
20. Tenore GC, Caruso D, Buonomo G, D'Urso E, D'Avino M, Campiglia P, *et al.* Annurca (*Malus pumila* Miller cv. Annurca) apple as a functional food for the contribution to a healthy balance of plasma cholesterol levels: results of a randomized clinical trial. *J Sci Food Agric* 2017;97:2107-15.
21. Lockyer S, Rowland I, Spencer JPE, Yaqoob P, Stonehouse W. Impact of phenolic-rich olive leaf extract on blood pressure, plasma lipids and inflammatory markers: a randomized controlled trial. *Eur J Nutr* 2017;56:1421-32.
22. Covas MI, Nyyssonen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJ, Kiesewetter H, *et al.* The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006;145:333-41.
23. Haban P, Klvanova J, Zidekova E, Nagyova A. Dietary supplementation with olive oil leads to improved lipoprotein spectrum and lower n-6 PUFAs in elderly subjects. *Med Sci Monit* 2004;10:PI49-54.
24. Gadi R, Amanullah A, Figueredo VM. HDL-C: does it matter? An update on novel HDL-directed pharmacotherapeutic strategies. *Int J Cardiol* 2013;167:646-55.
25. Fazio S, Linton MF. Apolipoprotein AI as therapy for atherosclerosis: does the future of preventive cardiology include weekly injections of the HDL protein? *Mol Interv* 2003;3:436-40.
26. Franceschini G, Sirtori CR, Capurso A, 2nd, Weisgraber KH, Mahley RW. A-Milano apoprotein. Decreased high density lipoprotein cholesterol levels with significant lipoprotein modifications and without clinical atherosclerosis in an Italian family. *J Clin Invest* 1980;66:892-900.
27. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Steffensen R, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Elevated HDL cholesterol is a risk factor for ischemic heart disease in white women when caused by a common mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene. *Circulation* 2000;101:1907-12.
28. Borggreve SE, Hillege HL, Dallinga-Thie GM, De Jong PE, Wolfenbutter BH, Grobbee DE, *et al.* High plasma cholesteryl ester transfer protein levels may favour reduced incidence of cardiovascular events in men with low triglycerides. *Eur Heart J* 2007;28:1012-8.
29. Saito Y. Is cholesteryl ester transfer protein (CETP) deficiency atherogenic in familial hypercholesterolemia. *Intern Med* 1998;37:495-6.

---

*Conflitti di interesse.*—Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse con alcuna ditta legata al contenuto del manoscritto.  
*Cronologia.*—Manoscritto accettato: 29 febbraio 2020. - Manoscritto ricevuto: 28 febbraio 2020.