

*Clinical Study*

## Protezione cardiovascolare di pazienti nefropatici di sesso maschile esercitata da un integratore alimentare naturale

**Annalisa Noce,<sup>1</sup> Giulia Marrone,<sup>1,2</sup> Manuela Di Lauro,<sup>1</sup> Silvia Urciuoli,<sup>3</sup> Anna Pietroboni Zaitseva,<sup>1</sup> Georgia Wilson Jones,<sup>1</sup> Nicola Di Daniele,<sup>1</sup> and Annalisa Romani<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>UOC of Internal Medicine-Center of Hypertension and Nephrology Unit, Department of Systems Medicine, University of Rome Tor Vergata, Via Montpellier 1, 00133 Rome, Italy

<sup>2</sup>School of Applied Medical, Surgical Sciences, University of Rome Tor Vergata, Via Montpellier 1, 00133 Rome, Italy

<sup>3</sup>PHYTOLAB (Pharmaceutical, Cosmetic, Food Supplement, Technology and Analysis)-DiSIA, University of Florence, Via U. Schiff, 6, 50019 Sesto Fiorentino, Italy

Correspondence should be addressed to Annalisa Noce; [annalisa.noce@uniroma2.it](mailto:annalisa.noce@uniroma2.it)

Received 1 April 2020; Accepted 22 May 2020; Published 25 June 2020

Academic Editor: Victor Garcia

Copyright © 2020 Annalisa Noce et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** I pazienti nefropatici sono caratterizzati da una più elevata morbilità e mortalità cardiovascolare rispetto alla popolazione generale. Per approfondire la comprensione di tale fenomeno è necessario prendere in considerazione i fattori di rischio caratteristici dello stato uremico, come lo stress ossidativo e l'infiammazione cronica di basso grado. Inoltre, in nefrologia sono state riportate differenze di genere, poiché è stato osservato che la malattia renale cronica ha una prevalenza maggiore nei soggetti di sesso maschile rispetto a quelli di sesso femminile. L'utilizzo di un integratore alimentare orale (OFS) contenente composti naturali bioattivi da *Capsicum annuum* L., *Garcinia cambogia*, *Centella asiatica* L., *carciofo* e *Aesculus hippocastanum* L, praticamente privi di effetti collaterali, ma ricchi di proprietà antiossidanti e antiradicaliche, potrebbe rappresentare un valido coadiuvante terapeutico nella gestione clinica dei pazienti nefropatici. L'analisi quantitativa eseguita in vitro su tali composti ha mostrato che esprimevano una buona attività antiossidante totale (7,28 equivalenti di acido gallico) e antiradicalica (superiore all'80%).

Nel presente studio, sono stati arruolati 23 pazienti nefropatici di sesso maschile e 10 soggetti sani di sesso maschile (gruppo di controllo), omogenei per parametri quali età e composizione corporea, e sono stati istruiti ad assumere 3 cps/die dell'OFS selezionato, per 5 settimane. Alla fine dello studio, il gruppo di pazienti nefropatici ha mostrato una riduzione statisticamente significativa dei seguenti parametri laboratoristici: colesterolo totale (TC) ( $p=0,044$ ), indice aterogenico TC/colesterolo-HDL ( $p=0,010$ ), parametri infiammatori (proteina C-reattiva,  $p=0,048$  e velocità di sedimentazione eritrocitaria,  $p=0,019$ ), pressione sistolica ( $p=0,044$ ) e diastolica ( $p=0,003$ ). Per quanto riguarda la composizione corporea, è stato osservato un aumento della % di acqua corporea totale ( $p=0,035$ ) con redistribuzione della % di acqua extracellulare ( $p=0,030$ ) e di acqua intracellulare ( $p=0,049$ ). Nel gruppo di controllo, è stata inoltre osservata una riduzione della % di massa grassa ( $p=0,017$ ) e dell'acqua extracellulare ( $p=0,047$ ). Pertanto, l'OFS testato può rappresentare una valida terapia coadiuvante per contrastare le comorbidità legate all'uremia.

## 1. Introduzione

Durante l'ultimo secolo è stato osservato un aumento sostanziale dell'incidenza delle malattie cronicodegenerative non trasmissibili (NCD), come le malattie cardiovascolari (CVD), la malattia renale cronica (CKD), il diabete mellito (DM) e il cancro [1, 2]. Attualmente, tali patologie rappresentano la principale causa di morte sia nei paesi sviluppati che in quelli in via di sviluppo [3]. In questo contesto, la prevenzione, soprattutto attraverso una dieta sana e uno stile di vita attivo, diventa di fondamentale importanza [4, 5]. Tra le malattie cronicodegenerative non trasmissibili, la CKD rappresenta un problema di salute con un impatto mondiale significativo, la sua prevalenza globale è stimata tra il 7 e il 12% [6]. L'aumento della sua prevalenza, soprattutto negli ultimi anni, è correlato a diversi fattori. Tale incremento risulta correlato non solo all'invecchiamento globale della popolazione mondiale [7] ma anche al concomitante aumento della prevalenza di altri fattori di rischio come l'ipertensione arteriosa (AH), il DM e la sindrome metabolica, oltre che alla maggiore attenzione che viene posta alla sua diagnosi [8].

I pazienti affetti da CKD presentano frequentemente una serie di comorbidità, prevalentemente a livello cardiovascolare (CV), tanto che è stata definita una nuova entità clinica denominata "sindrome cardiorenale di tipo IV", caratterizzata dalla presenza di insufficienza renale cronica che induce una riduzione della funzione cardiaca, una ipertrofia ventricolare sinistra e un aumento del rischio di sviluppare complicanze CV [9].

Tra i fattori legati alla disfunzione cardiaca nei pazienti con CKD [10], devono essere considerati il sovraccarico di volume e l'aumento della pressione sanguigna in quanto contribuiscono a generare una ipertrofia ventricolare sinistra [11]. Infatti, i pazienti con CKD mostrano un'elevata prevalenza di AH, principalmente correlata all'espansione del volume extracellulare [12]; a sua volta, questo induce un declino della funzione cardiaca [13]. Uno studio ha evidenziato come, in questi pazienti, i valori della pressione arteriosa sistolica siano positivamente correlati all'espansione del fluido extracellulare mentre quest'ultima è inversamente correlata alla velocità di filtrazione glomerulare (GFR) [14]. Altri fattori di rischio CV tipici dello stato uremico sono l'infiammazione cronica di basso grado, l'iperomocisteinemia [15, 16], l'insulino-resistenza e la sindrome da malnutrizione-infiammazione-aterosclerosi (sindrome MIA) [17, 18], che contribuiscono ad accelerare il processo aterosclerotico. Inoltre, il progressivo accumulo di tossine uremiche nell'organismo, che aumenta al diminuire della eGFR, svolge un ruolo chiave nelle alterazioni CV [19-21].

L'accumulo delle tossine uremiche è direttamente correlato alla progressione della CKD, questa correlazione viene esercitata attraverso diversi meccanismi come la fibrosi renale, la perdita delle difese antiossidanti, la disfunzione e l'apoptosi delle cellule tubulari renali e delle cellule endoteliali, contribuendo alla generazione e alla propagazione dello stato infiammatorio cronico di basso grado che caratterizza questa patologia [22 - 24].

Per quanto riguarda l'incremento dello stress ossidativo (OS), che può essere osservato in pazienti con CKD [25], è importante considerare che il rene rappresenta uno degli organi più metabolicamente attivi, che lo rende particolarmente vulnerabile al danno ossidativo [26 - 29].

È interessante notare che sono state documentate differenze di genere nel campo della nefrologia e, a questo proposito, le donne sembrano essere protette dallo sviluppo di malattie renali allo stadio terminale (ESRD) [30, 31]. Uno studio di screening ha evidenziato come l'incidenza cumulativa di ESRD sia inferiore nelle donne in età riproduttiva e inizi ad aumentare 10 anni dopo rispetto agli uomini [31]. Ciò è stato confermato in uno studio sulla popolazione giapponese, che ha sottolineato che l'incidenza e la prevalenza di ESRD era più alta negli uomini rispetto alle donne e che l'età media all'inizio della terapia sostitutiva renale era più alta [30, 31].

Negli ultimi anni, numerosi studi *in vitro* e *in vivo* si sono concentrati sulla ricerca di composti bioattivi naturali, che sarebbero idealmente privi di effetti collaterali e aumenterebbero il potenziale terapeutico dei trattamenti standard, oltre ad avere un ruolo preventivo nello sviluppo di comorbidità nella CKD [32].

Ad oggi sono noti più di 5000 fitocomposti e si stima che un gran numero di questi sia ancora da scoprire [33]. Tra questi vi sono vitamine, minerali, flavonoidi, acidi fenolici, alcaloidi e carotenoidi [34 - 36]. Diverse classi di fitocomposti agiscono sull'organismo attraverso vari meccanismi e, a seconda del loro contenuto di polifenoli e antiradicalici, svolgono diversi ruoli antiossidanti, cardioprotettivi, antiproliferativi, antinfiammatori ed epatoprotettivi.

In particolare, l'integratore alimentare orale (OFS) utilizzato nel presente studio contiene una serie di estratti vegetali secchi: *Capsicum annuum* L., che stimola il metabolismo; *Garcinia cambogia*, utilizzato come potenziale agente antiobesogeno [37, 38]; *Centella asiatica* L., che migliora i parametri microcircolatori [39, 40]; *Cynara scolymus* L. o carciofo, che ha funzione antiossidante e depurativa; e l'estratto di corteccia di *Aesculus hippocastanum* L., che migliora la regolarità dei movimenti intestinali e la funzionalità dell'apparato digerente. Il presente studio si propone di valutare il potenziale effetto benefico dell'OFS selezionato, sul rischio CV e sulla composizione corporea, nei pazienti di sesso maschile affetti da CKD rispetto ai controlli sani.

## 2. Materiale e metodi

Lo studio è stato strutturato in due fasi:

- Fase *in vitro*: caratterizzazione qualitativa e quantitativa HPLC-DAD dei composti attivi presenti nell'OFS selezionato, seguita dalla valutazione delle sue proprietà antiossidanti e di scavenger di radicali liberi.
- Fase *in vivo*: somministrazione dell'OFS caratterizzato a pazienti affetti da CKD e soggetti sani (gruppo di controllo).

### 2.1. Integratore alimentare orale, contenuto totale di polifenoli e capacità antiossidante in vitro

L'OFS utilizzato nel presente studio contiene una serie di estratti vegetali secchi: Capsicum annum L. presente in 60 mg, Garcinia cambogia presente in 60 mg, Centella asiatica L. presente in 100 mg, Cynara scolymus L. o carciofo presente in 60 mg ed estratto di corteccia di Aesculus hippocastanum L. presente in 80 mg. L'OFS è formulato in capsule, prodotte in condizioni accuratamente controllate. I controlli vengono eseguiti continuamente durante tutto il processo e garantiscono che le capsule siano conformi ai più elevati standard di qualità. Gli eccipienti utilizzati sono biossido di titanio (2,0000%) e gelatina (qsp 100%). Questo OFS è stato registrato presso il Ministero della Salute Italiano con il numero 79086.

L'estrazione di 400 mg di OFS polvere è stata effettuata in 4,0 ml di H<sub>2</sub>O regolata a pH 2,4 mediante l'aggiunta di HCOOH. L'estratto è stato agitato a temperatura ambiente per 30 min, centrifugato a 14.000 rpm per 5 min e analizzato.

#### 2.1.1. Analisi HPLC-DAD

Le analisi di flavonoli, acidi idrossicinnamici e cumarine sono state condotte utilizzando un cromatografo liquido HP 1100 L dotato di rilevatore DAD e gestito da una workstation HP 9000 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). I composti sono stati separati utilizzando una colonna LUNA C18 da 250 × 4,6 mm id 5 μm (Phenomenex, USA). Gli spettri UV/Vis sono stati registrati nell'intervallo 190-600 nm e i cromatogrammi sono stati acquisiti a 250, 280, 330 e 350 nm. I campioni sono stati analizzati mediante eluizione in gradiente a una velocità di flusso di 0,8 ml/min. La fase mobile era un sistema a gradiente di solvente lineare multistep, a partire dal 95% H<sub>2</sub>O (regolato a pH 2 da HCOOH) fino al 100% CH<sub>3</sub>CN in 53 minuti. I reagenti chimici utilizzati erano di grado HPLC, acetonitrile (CH<sub>3</sub>CN) grado HPLC, grado HPLC etanolo (EtOH), reagente Folin-Ciocalteu e carbonato di sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>); tutti sono stati acquistati da Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, USA).

#### 2.1.2. Identificazione e quantificazione dei singoli composti

L'identità dei polifenoli è stata acquisita utilizzando i dati dell'analisi HPLC-DAD, confrontandoli con i dati bibliografici, la combinazione dei tempi di ritenzione e gli spettri UV/Vis con quelli standard. La quantificazione dei singoli composti polifenolici è stata eseguita direttamente mediante HPLC-DAD utilizzando una curva di regressione a cinque punti ( $R^2 \geq 0,998$ ) nell'intervallo 0-30 μg. In particolare, i flavonoli come i derivati della quercetina sono stati determinati a 350 nm utilizzando la rutina come composto di riferimento e i derivati dell'acido idrossicinnamico sono stati determinati a 330 nm utilizzando l'acido ferulico come composto di riferimento, mentre le cumarine sono state determinate a 330 nm utilizzando l'esculina come composto di riferimento. In tutti i casi, le concentrazioni effettive dei derivati sono state calcolate dopo aver applicato le correzioni per le differenze di peso molecolare. Ogni campione è stato analizzato in triplice copia, al fine di esprimere i risultati analitici come media.

#### 2.1.3. Contenuto fenolico totale e capacità antiossidante totale

Il contenuto fenolico totale è stato determinato utilizzando il metodo Folin-Ciocalteu, descritto da Singleton et al. [41] e leggermente modificato secondo Dewanto et al. [42]. A 125 μl dell'estratto del campione opportunamente diluito sono stati aggiunti 0,5 ml di acqua deionizzata e 125 μl del reagente Folin-Ciocalteu. La miscela è stata mantenuta al buio per 6 minuti, quindi è stata aggiunta 1,25 ml di Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acquoso al 7%. Il volume finale è stato regolato a 3 ml con acqua. Dopo 90 minuti, l'assorbimento è stato misurato a 760 nm utilizzando l'acqua come bianco. La quantità totale di fenoli è stata espressa come equivalenti di acido gallico (GAE, mg di acido gallico / 100 g di campione) attraverso la curva di calibrazione dell'acido gallico. La curva di calibrazione variava da 20 a 500 μg/ml ( $R^2=0,9969$ ). Il contenuto di fenolo è stato correlato con l'attività antiossidante in vitro, come confermato in precedenza da confronti con diversi test di reazione di trasferimento di elettroni e test di lipoproteine umane a bassa densità (LDL) in vitro [43-45].

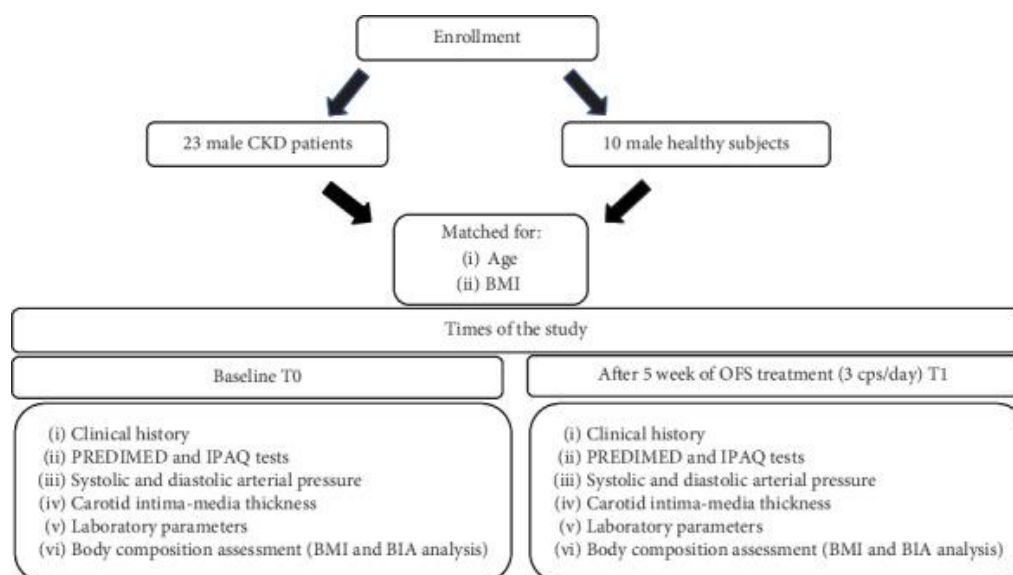
### 2.1.4. Attività antiradicalica

L'attività di eliminazione dei radicali liberi è stata valutata con il dosaggio del radicale 1,1-difenil-2-picrylhydrazyl (DPPH·). La capacità antiradicalica degli estratti del campione è stata stimata secondo una procedura leggermente modificata riportata da Brand-Williams et al. [46]. 2 ml della soluzione campione, opportunamente diluiti con etanolo, sono stati aggiunti a 2 ml di una soluzione etanolica di DPPH· (0,0025 g / 100 ml) e la miscela è stata mantenuta a temperatura ambiente. Dopo 20 minuti, l'assorbimento è stato misurato a 517 nm con uno spettrofotometro Lambda 25 (PerkinElmer) rispetto all'etanolo come bianco. Successivamente, è stato verificato l'assorbimento della soluzione DPPH·. L'attività antiradicalica viene calcolata tracciando il rapporto  $(A_{\text{Bianco}} - A_{\text{campione}}) / A_{\text{Bianco}} \times 100$ , dove  $A_{\text{Bianco}}$  è l'assorbimento della soluzione DPPH· e  $A_{\text{campione}}$  è l'assorbimento della soluzione DPPH· dopo l'aggiunta del campione, rispetto alla concentrazione del campione.

### 2.2. Pazienti affetti da CKD e gruppo di controllo

Per il presente studio sono stati considerati idonei all'arruolamento pazienti di sesso maschile affetti da CKD e soggetti di sesso maschile sani (gruppo di controllo), di età compresa tra 18 e 80 anni. Il protocollo dello studio è conforme alla dichiarazione di Helsinki ed è stato approvato dal Comitato Etico della Fondazione Policlinico Tor Vergata (PTV) di Roma. Il disegno sperimentale dello studio è riassunto in Figura 1.

Figura 1: Progettazione dello studio sperimentale.



*Abbreviazioni: BMI: indice di massa corporea; CKD: malattia renale cronica; IPAQ: Questionario internazionale sull'attività fisica; OFS: integratore alimentare orale; PREDIMED: Prevención con Dieta Mediterránea.*

Sono stati selezionati i pazienti esclusivamente di sesso maschile per due ragioni fondamentali: in primo luogo a causa della maggior incidenza epidemiologica della CKD in soggetti di sesso maschile rispetto a quello femminile e in secondo luogo per evitare oscillazioni ormonali tipiche delle donne in età riproduttiva, che avrebbero potuto influenzare le misurazioni della composizione corporea.

Un modulo di consenso pienamente informato è stato fornito a tutti i soggetti prima dell'arruolamento nello studio.

I criteri di esclusione erano sesso femminile, cancro, virus dell'epatite B e C, virus dell'immunodeficienza umana, disturbi reumatologici (es. lupus eritematoso sistemico), emodialisi cronica, indice di massa corporea (BMI) <18,5 kg/m<sup>2</sup> e consumo di integratori orali e/o vitamine negli ultimi tre mesi.

Un totale di 23 pazienti di sesso maschile (età media 68,5 ± 12,5 anni) affetti da CKD (stadi I e IV secondo le linee guida K-DOQI) [10] sono stati reclutati dal Centro di Ipertensione e Nefrologia della Fondazione PTV di Roma.

Nei pazienti con CKD, le cause principali di insufficienza renale erano glomerulonefrite cronica (17%), nefroangiosclerosi (45%), nefropatia diabetica (9%), malattia del rene policistico autosomico dominante (4%) e altre cause (25%).

Una storia medica completa è stata registrata per tutti i partecipanti allo studio, al fine di raccogliere informazioni sullo stato di salute, sui farmaci assunti, sulle abitudini alimentari, sul consumo di alcol, sull'abitudine tabagica e sulla storia familiare per malattie croniche.

Dieci volontari sani omogenei per età e parametri di composizione corporea come peso, altezza e BMI, costituivano il gruppo di controllo.

Tutti i soggetti arruolati sono stati trattati per cinque settimane con l'OFS. Ogni soggetto ha consumato complessivamente 3 cps/giorno, la prima dopo colazione, la seconda dopo pranzo e la terza dopo cena, seguendo la dose raccomandata per l'OFS stabilita dal Ministero della Salute italiano, come riportato nella Sezione 2.1. La dose giornaliera selezionata dell'OFS, unitamente all'assunzione alimentare media di polifenoli, consente all'organismo di raggiungere il fabbisogno giornaliero ottimale di assunzione di polifenoli in accordo con studi recenti [47, 48]. Tale assunzione sembra ridurre l'insorgenza e la progressione delle malattie cronicodegenerative non trasmissibili e la mortalità per tutte le cause. Ad oggi, questo valore di assunzione non ha un range definitivo; pertanto, è necessario eseguire studi *in vivo* sull'uomo per determinare la dose giornaliera efficace raccomandata.

Al fine di evitare possibili bias introdotti da modifiche dello stile di vita e del regime alimentare, tutti i soggetti arruolati sono stati invitati ad evitare tali cambiamenti. A conferma di ciò, il questionario *Prevenición con Dieta Mediterránea* (PREDIMED) [49] e l'*International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ) [50] sono stati somministrati al basale (T0) e dopo 5 settimane (T1) di integrazione con l'OFS.

È stato condotto il monitoraggio dei parametri laboratoristici e della composizione corporea al T0 e al T1 durante il trattamento con l'OFS.

### 2.3. Parametri di laboratorio

Per quanto riguarda la misurazione dei parametri laboratoristici, per la determinazione dell'emoglobina (Hb) è stato utilizzato un analizzatore ematologico automatizzato XE-2100 (Sysmex, Kobe, Giappone). Tutti i parametri di routine sono stati determinati utilizzando *Dimension Vista 1500* (Siemens Healthcare Diagnostics, Milano, Italia). Il profilo lipidico, composto da colesterolo totale (TC), trigliceridi, colesterolo LDL (LDL-C) e colesterolo lipoproteico ad alta densità (HDL-C), è stato determinato mediante tecniche enzimatiche colorimetriche standard (Roche Modular P800, Roche Diagnostics, Indianapolis, USA). Tutti gli altri parametri sono stati analizzati secondo procedure standard nei Laboratori Chimici Clinici della Fondazione PTV di Roma.

### 2.4. Indici aterogenici

Gli indici aterogenici sono stati calcolati come descritto:

- TC (mg / dl) / HDL-C (mg / dl); valore normale per soggetti di sesso maschile <5
- C-LDL (mg / dl) / C-HDL (mg / dl); valore normale per i soggetti di sesso maschile <3.5
- [Log (trigliceridi, mg / dl) / HDL-C, mg / dl]; Un valore <0,5 è considerato come il valore soglia al di sopra del quale vi è un aumento del rischio aterogenico in entrambi i sessi [51, 52].

Tali indici sono stati determinati al fine di ottimizzare la capacità predittiva del profilo lipidico. Infatti, tali rapporti possono fornire ulteriori informazioni sui fattori di rischio CV che sono difficili da quantificare con analisi laboratoristiche di routine. Inoltre, possono rappresentare un quadro più preciso delle alterazioni metaboliche e CV, che sono strettamente correlate alle frazioni lipidiche.

### 2.5. Misure antropometriche e valutazione della composizione corporea

I parametri antropometrici di tutti i partecipanti sono stati registrati secondo metodi standard [53]. Il peso corporeo (kg) è stato misurato con l'approssimazione di 0,01 kg, utilizzando una bilancia (seca 711, Amburgo, Germania). L'altezza (m) è stata misurata utilizzando uno stadiometro con l'approssimazione di 0,1 cm (seca 220, Amburgo, Germania). Il BMI è stato calcolato come il peso corporeo diviso per l'altezza al quadrato ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

Per la valutazione della composizione corporea, tutti i soggetti arruolati hanno eseguito l'analisi dell'impedenza bioelettrica (BIA). Resistenza, reattanza e angolo di fase alla frequenza di 50 kHz sono stati misurati utilizzando uno strumento BIA 101S (Akern/RIL System-Florence). L'analisi della composizione corporea è stata valutata attraverso l'acqua corporea totale (TBW), l'acqua intracellulare (ICW), l'acqua extracellulare (ECW), l'indice di massa cellulare (BCMI), la massa magra (FFM), la massa grassa (FM) e la massa muscolare (MM) [54].

### 2.6. Monitoraggio della pressione arteriosa sistolica e diastolica

La pressione sanguigna sistolica e diastolica (PA) è stata monitorata a T0 e T1. I pazienti sono stati fatti sedere in una posizione rilassata per 5 minuti, quindi è stata eseguita la misurazione. Il bracciale è stato posizionato a livello del cuore. La pressione arteriosa è stata misurata tre volte ad intervalli di 1-2 minuti. Sono state effettuate ulteriori misurazioni solo se le prime due presentavano una differenza tra loro superiore a 10 mmHg. Il valore riportato era la media tra le ultime due misurazioni, sia per la PA sistolica che per quella diastolica. Durante la prima visita, la PA è stata misurata in entrambe le braccia; in caso di differenze tra i due è stato registrato il più alto. Inoltre, è stata registrata la frequenza cardiaca per escludere la presenza di eventuali aritmie [55].

## 2.7. Misurazione dello spessore dell'intima-media carotidea

Lo spessore medio-intimale carotideo (CIMT) è stato misurato all'inizio e alla fine dello studio. Tutti gli esami ecografici sono stati eseguiti dallo stesso operatore (AN con 10 anni di esperienza in ecografia). Nel nostro studio, un dispositivo a ultrasuoni MyLab70 VXG (Esaote, Genova, Italia), con una sonda lineare LA523, a una gamma di frequenza 2-9 MHz, è stato utilizzato per raggiungere tutti gli esami. Il CIMT è stato valutato con un esame ecografico in modalità B, a livello dell'arteria carotide comune destra. È stata ottenuta una sezione longitudinale della carotide comune destra; Sono state eseguite tre diverse misurazioni CIMT, circa 1 cm sotto la biforcazione, nell'area priva di placca, sulla parete distale dell'arteria carotide comune destra, utilizzando un'applicazione semiautomatica. Lo spessore CIMT era il risultato del valore medio delle tre misurazioni ottenute [56].

## 2.8. Questionari

Ai soggetti arruolati sono stati somministrati due questionari: PREDIMED e IPAQ a T0 e T1. Il PREDIMED è stato somministrato per valutare l'aderenza alla dieta mediterranea e per assicurarsi che eventuali cambiamenti nella composizione corporea, stato infiammatorio o altri parametri laboratoristici osservati nei soggetti arruolati fossero realmente dovuti alla somministrazione dell'OFS piuttosto che a cambiamenti nelle abitudini alimentari. L'IPAQ è stato somministrato per valutare il grado di attività fisica prima, durante e dopo il trattamento con l'OFS, al fine di escludere possibili cambiamenti dei parametri laboratoristici e di composizione corporea indotti da un diverso grado di attività fisica.

## 2.9. Analisi statistica e grafica

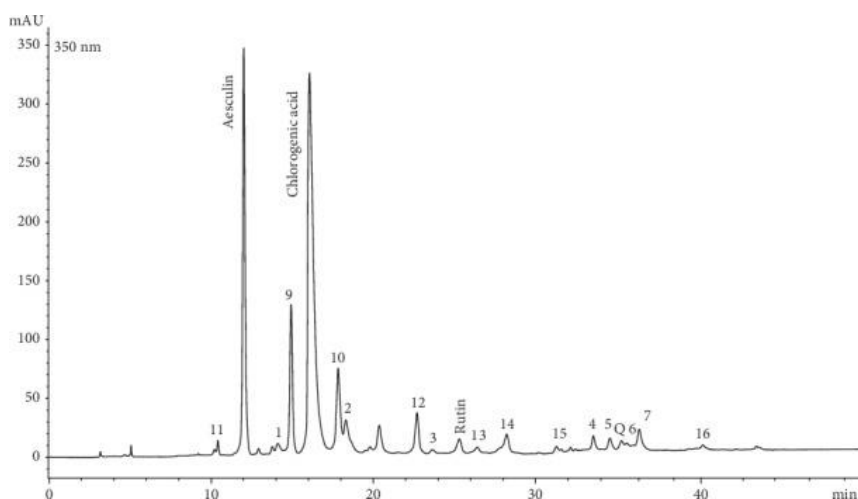
I dati sono riportati come media  $\pm$  deviazione standard per le variabili parametriche. La normalità di tutte le variabili continue è stata controllata utilizzando il test di Kolmogorov-Smirnov. Le differenze tra la linea di base e i risultati finali per i valori parametrici sono state testate con un test t accoppiato. Il livello minimo di significatività delle differenze è stato fissato a  $p < 0,05$ . Il confronto tra i gruppi è stato eseguito con l'ANOVA univariata con una covariata per variabili parametriche continue. Inoltre, le brevi matrici di dati delle comorbidità PREDIMED, IPAQ e CVD sono state analizzate con il test di McNemar [57]. Questa analisi è stata eseguita utilizzando Statistical Package for the Social Sciences Windows, versione 15.0 (SPSS, Chicago, Illinois, USA). La visualizzazione grafica del risultato è stata ottenuta da GraphPad Prism (La Jolla, CA, USA).

## 3. Risultati

### 3.1. Caratterizzazione chimica degli integratori alimentari

La Figura 2 mostra il profilo cromatografico dell'estratto OFS, acquisito a 350 nm. I composti identificati sono riportati in legenda e comprendono flavonoidi, cumarine, acidi fenolici, ed in particolare acidi idrossicinnamici e derivati della quercetina. L'analisi quantitativa HPLC-DAD mostra che i composti presenti in quantità maggiori sono esculina e acido clorogenico.

Figura 2: Profilo cromatografico acquisito a 350 nm dell'estratto idroalcolico.



1-7 = acidi fenolici 435; 9-10 = cumarine; 11-16 = flavonoidi (derivati della quercetina); Q = quercetina.

La Tabella 1 riporta le quantità delle diverse sottoclassi di composti attivi presenti nell'OFS analizzato.

Tabella 1: Dati qualitativi e quantitativi espressi in mg / ge mg / capsula dalle misurazioni HPLC-DAD.

Composti	mg/g	mg/cps
Acidi fenolici	5.49	2.31
Coumarine	1.0	0.42
Flavonoidi	0.91	0.38

I dati mostrati sono la media di tre determinazioni (deviazione standard <3%).

Per quanto riguarda il contenuto totale di polifenoli, l'attività antiossidante e antiradicalica, sono stati considerati i dati di due test: il test del reagente Folin-Ciocalteu, che è correlato all'attività antiossidante del prodotto commerciale, e il test DPPH·, che tiene conto dell'attività antiradicalica del campione. I dati sono riportati in Tabella 2. I risultati ottenuti mostrano che il contenuto totale in composti antiossidanti attivi per grammo di integratore alimentare è pari a 7,28 GAE esprimendo una buona capacità antiossidante totale. Tale risultato può essere correlato alla capacità antiossidante in vitro sulle LDL umane [43 - 45]. La capacità antiradicalica totale è superiore all'80% in accordo con una buona capacità antiossidante totale del campione analizzato.

Tabella 2: Dati del contenuto fenolico totale (TPC) espresso come mg GAE / 100 g di campione; Dati DPPH · espressi come AA%.

	TPC GAE	AA%
Campione di OFS	7.28	85.17

Abbreviazioni: TPC: contenuto fenolico totale; AA: attività antiradicalica; GAE: equivalenti di acido gallico; OFS, Integratore alimentare orale.

### 3.2. Effetto dell'OFS sulla valutazione corporea e sui parametri di laboratorio nei pazienti con CKD e nei soggetti sani

Le caratteristiche epidemiologiche della popolazione in studio, insieme alla valutazione di omogeneità dei due gruppi rispetto all'età e alla composizione corporea, sono riportate in Tabella 3.

Tabella 3: Risultati epidemiologici della popolazione di studio e valutazione dell'omogeneità dei gruppi di studio.

	Casi	Controlli	<i>p</i> (ANOVA test)
N	23	10	
Età (years)	68.5 ± 12,5 <sup>a</sup>	65.1 ± 9.4 <sup>a</sup>	ns
Altezza (m)	1.62 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.67 ± 0.10 <sup>a</sup>	ns
Peso (Kg)	75.8 ± 17.3 <sup>a</sup>	77 ± 11.2 <sup>a</sup>	ns
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	28.9 ± 5.3 <sup>a</sup>	27.8 ± 4.2 <sup>a</sup>	ns

<sup>a</sup> Dati espressi come media ± deviazione standard. Abbreviazione: BMI: indice di massa corporea.

La Tabella 4 riassume i parametri laboratoristici esaminati nei pazienti affetti da CKD e nel gruppo di controllo a T0 e T1, con la rispettiva significatività statistica relativa al possibile effetto indotto dall'OFS su tali parametri. In particolare, è stata osservata una riduzione statisticamente significativa della TC a T1 ( $185,4 \pm 47,1$  mg / dl vs  $176,8 \pm 44,7$  mg / dl;  $p = 0,044$ ) nei pazienti con CKD. Inoltre, nei pazienti nefropatici, è stato osservato anche un miglioramento dello stato infiammatorio a T1, mostrato dalla significativa riduzione della proteina C reattiva (PCR) ( $5,1 \pm 9,8$  mg / dl vs  $3,6 \pm 7,2$  mg / dl;  $p=0,048$ ) e della velocità di eritrosedimentazione (ESR) ( $48,3 \pm 23,2$  mm / h contro  $40,7 \pm 22,6$  mm / h;  $p=0,019$ ).

Tabella 4: Parametri laboratoristici dei pazienti con CKD e gruppo di controllo.

	CKD patients			Control Group		
	T0	T1	T0 vs T1	T0	T1	T0vsT1
Creatinina (mg/dL)	$2.5 \pm 1.4^a$	$2.5 \pm 1.5^a$	ns <sup>b</sup>	$0.8 \pm 0.1^a$	$0.8 \pm 0.1^a$	ns <sup>b</sup>
e-GFR (mL/min/1.72 m <sup>2</sup> )	$32.0 \pm 18.3^a$	$34.1 \pm 21.4^a$	ns <sup>b</sup>	$93.5 \pm 20.4^a$	$92.1 \pm 14.4^a$	ns <sup>b</sup>
Albuminuria (mg/dL)	$424.5 \pm 614.5^a$	$451.1 \pm 651.9^a$	ns <sup>b</sup>	$2.5 \pm 3.9^a$	$12.2 \pm 28.1^a$	ns <sup>b</sup>
Azotemia (mg/dL)	$85.0 \pm 34.4^a$	$80.5 \pm 30.8^a$	ns <sup>b</sup>	$32.6 \pm 8.0^a$	$34.8 \pm 4.7^a$	ns <sup>b</sup>
Albumina (g/dL)	$4.34 \pm 0.30^a$	$4.20 \pm 0.35^a$	ns <sup>b</sup>	$4.29 \pm 0.2^a$	$4.35 \pm 0.3^a$	ns <sup>b</sup>
Sodio (mEq/L)	$139.78 \pm 3.2^a$	$140.1 \pm 2.6^a$	ns <sup>b</sup>	$141.7 \pm 2.6^a$	$140.0 \pm 2.9^a$	ns <sup>b</sup>
Potassio (mEq/L)	$4.8 \pm 0.6^a$	$4.8 \pm 0.7^a$	ns <sup>b</sup>	$4.5 \pm 1.0^a$	$4.7 \pm 0.6^a$	ns <sup>b</sup>
Calcio (mg/dL)	$9.7 \pm 0.8^a$	$9.7 \pm 0.7^a$	ns <sup>b</sup>	$9.4 \pm 0.4^a$	$9.7 \pm 0.4^a$	ns <sup>b</sup>
Fosforo (mg/dL)	$3.6 \pm 0.8^a$	$3.7 \pm 0.8^a$	ns <sup>b</sup>	$3.5 \pm 0.5^a$	$3.6 \pm 0.5^a$	ns <sup>b</sup>
TC (mg/dL)	$185.4 \pm 47.1^a$	$176.4 \pm 44.7^a$	$p = 0.044^b$	$205.8 \pm 60.2^a$	$214 \pm 15.7^a$	ns <sup>b</sup>
HDL-C (mg/dL)	$51.5 \pm 12.5^a$	$52.1 \pm 10.9^a$	ns <sup>b</sup>	$50.3 \pm 13.5^a$	$52.9 \pm 11.9^a$	ns <sup>b</sup>
Trigliceridi (mg/dL)	$136.3 \pm 59.7^a$	$133.8 \pm 75.2^a$	ns <sup>b</sup>	$100.5 \pm 46.2^a$	$108.9 \pm 66.2^a$	ns <sup>b</sup>
LDL-C (mg/dL)	$107.9 \pm 39.5^a$	$100.9 \pm 40.3^a$	ns <sup>b</sup>	$127.2 \pm 43.2^a$	$142.6 \pm 12.9^a$	ns <sup>b</sup>
Sideremia (µg/ dL)	$79.4 \pm 29.9^a$	$82.0 \pm 39.7^a$	ns <sup>b</sup>	$89.9 \pm 25.5^a$	$85.7 \pm 20.7^a$	ns <sup>b</sup>
Ferritina (ng/mL)	$139 \pm 131.2^a$	$138.7 \pm 129.3^a$	ns <sup>b</sup>	$195.2 \pm 163.9^a$	$179.4 \pm 139.7^a$	ns <sup>b</sup>
Transferrina (mg/dL)	$247.4 \pm 44.5^a$	$244.7 \pm 40^a$	ns <sup>b</sup>	$255.7 \pm 39.6^a$	$248.5 \pm 34.7^a$	ns <sup>b</sup>
Acido urico (mg/dL)	$6.0 \pm 1.2^a$	$6.0 \pm 1.4^a$	ns <sup>b</sup>	$5.1 \pm 1.0^a$	$4.9 \pm 1.0^a$	ns <sup>b</sup>
PCR (mg/L)	$5.1 \pm 9.8^a$	$3.6 \pm 7.2^a$	$p = 0.048^b$	$0.8 \pm 0.1^a$	$0.8 \pm 0.1^a$	ns <sup>b</sup>
VES (mm/h)	$48.3 \pm 23.2^a$	$40.7 \pm 22.6^a$	$p = 0.019^b$	$93.5 \pm 20.4^a$	$92.1 \pm 14.4^a$	ns <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Dati espressi come media  $\pm$  deviazione standard; <sup>b</sup> test applicato: t -test per dati accoppiati. Abbreviazioni: e-GFR: velocità di filtrazione glomerulare stimata; TC: colesterolo totale; HDL-C: colesterolo lipoproteico ad alta densità; LDL-C: colesterolo lipoproteico a bassa densità; PCR: proteina C reattiva; VES: velocità di sedimentazione eritrocitaria. I valori di  $p \leq 0,05$  sono considerati statisticamente significativi.

Per quanto riguarda gli indici aterogenici, come riportato in Tabella 5, a T1, è stato osservato un miglioramento significativo nel rapporto TC/HDL-C ( $3,8 \pm 1,3$  vs  $3,5 \pm 1,2$ ;  $p = 0,010$ ) nei pazienti con CKD. Altri indici non hanno presentato variazioni secondarie alla somministrazione dell'OFS.

Tabella 5. Indici aterogenici dei pazienti nefropatici.

	T0	T1	T0 vs T1
TC/HDL-C	$3.8 \pm 1.3^a$	$3.5 \pm 1.2^a$	$p=0,010^b$
LDL-C/HDL-C	$2.2 \pm 2.0^a$	$2.1 \pm 1.0^a$	ns <sup>b</sup>
Log Trig/HDL-C	$0.044 \pm 0.01^a$	$0.043 \pm 0.01^a$	ns <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Dati espressi come media  $\pm$  deviazione standard; <sup>b</sup> test applicato: t -test per dati accoppiati. Abbreviazioni: TC: colesterolo totale; LDL-C: colesterolo lipoproteico a bassa densità; HDL-C: colesterolo lipoproteico ad alta densità; Log Trig: logaritmo dei trigliceridi. I valori di  $p \leq 0,05$  sono considerati statisticamente significativi.



Nella Tabella 6, sono riportati alcuni parametri cardiovascolari esaminati nei pazienti con CKD, come CIMT, mediante esame ecografico e presenza di eventi cardiovascolari (come infarto, ictus e aritmia) a T0 e T1, ma questi parametri non hanno mostrato alcuna variazione significativa nel due tempi dello studio.

Tabella 6 Parametri cardiovascolari dei pazienti nefropatici.

	T0	T1	T0 vs T1
Attacco di cuore (%)	21,7	21,7	ns <sup>b</sup>
Ictus (%)	8,7	8,7	ns <sup>b</sup>
Aritmia cardiaca (%)	4,3	4,3	ns <sup>b</sup>
Spessore medio-intimale della carotide destra (mm)	1,3 ± 0,27 <sup>a</sup>	1,2 ± 0,25 <sup>a</sup>	ns <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Dati espressi come media ± deviazione standard; Test applicato: <sup>b</sup> test di McNemar e <sup>c</sup> t-test per dati accoppiati. Valori di  $p \leq 0,05$  sono considerati statisticamente significativi. Abbreviazione: ns: non significativa.

La Tabella 7 mostra i parametri relativi alla valutazione della composizione corporea, monitorati grazie a misurazioni antropometriche e analisi BIA. Nei pazienti con CKD, è stata evidenziata una significativa riduzione della resistenza a T1 (499,4 ± 83,5 ohm vs 486,7 ± 77 ohm;  $p=0,001$ ). Per quanto riguarda il contenuto di acqua corporea, è stato osservato un aumento significativo della TBW a T1 (52,4 ± 6,5% vs 53,3 ± 6,8%;  $p=0,035$ ) con una migliore redistribuzione dell'acqua extracellulare (54,2 ± 6,3% vs 52,7 ± 5,7%;  $p=0,03$ ) e del compartimento intracellulare (45,9 ± 6,0% vs 47,2 ± 6,0%;  $p=0,049$ ). È stato anche osservato un aumento significativo della FFM (66,6 ± 8,1% contro 67,6 ± 8,5%;  $p=0,030$ ). Il miglioramento della redistribuzione TBW ha mostrato un effetto positivo sui valori di PA sistolica e diastolica, come riportato in Tabella 8.

Tabella 7: Parametri di composizione corporea dei pazienti con CKD e gruppo di controllo.

	CKD patients			Control group		
	T0	T1	T0 vs T1	T0	T1	T0 vs T1
Resistenza (R), (ohm)	499.4 ± 83.5 <sup>a</sup>	486.7 ± 77 <sup>a</sup>	$p=0,001^b$	529.1 ± 56.9 <sup>a</sup>	506.9 ± 46.0 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>
Reattanza (Xc), (ohm)	40.8 ± 10.9 <sup>a</sup>	39.9 ± 11 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>	50.3 ± 9.9 <sup>a</sup>	49.1 ± 9.7 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>
Angolo di fase (°)	4.7 ± 1.1 <sup>a</sup>	4.7 ± 1.1 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>	5.4 ± 0.9 <sup>a</sup>	5.6 ± 1.0 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>
BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	28.9 ± 5.3 <sup>a</sup>	28.9 ± 5.3 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>	28.9 ± 5.3 <sup>a</sup>	28.9 ± 5.3 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>
Weight (Kg)	75.3 ± 17.3 <sup>a</sup>	76 ± 17.3 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>	75.3 ± 17.3 <sup>a</sup>	76 ± 17.3 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>
TBW (%)	52.4 ± 6.5 <sup>a</sup>	53.3 ± 6.8 <sup>a</sup>	$p=0,035^b$	50.5 ± 4.8 <sup>a</sup>	51.8 ± 5.4 <sup>a</sup>	$p=0,017^b$
ICW (%)	45.9 ± 6.0 <sup>a</sup>	47.2 ± 6.0 <sup>a</sup>	$p=0,049^b$	51.1 ± 5.4 <sup>a</sup>	51.7 ± 4.8 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>
ECW (%)	54.2 ± 6.3 <sup>a</sup>	52.7 ± 5.7 <sup>a</sup>	$p=0,030^b$	52.1 ± 4.7 <sup>a</sup>	50.7 ± 4.4 <sup>a</sup>	$p=0,047^b$
FM (%)	33.3 ± 7.9 <sup>a</sup>	32.4 ± 8.6 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>	31.5 ± 6.9 <sup>a</sup>	29.8 ± 7.9 <sup>a</sup>	$p=0,014^b$
FFM (%)	66.6 ± 8.1 <sup>a</sup>	67.6 ± 8.5 <sup>a</sup>	$p=0,03^b$	68.5 ± 6.9 <sup>a</sup>	70.2 ± 8.0 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>
MM (%)	38.8 ± 6.7 <sup>a</sup>	39.1 ± 6.0 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>	42.9 ± 6.1 <sup>a</sup>	44.6 ± 7.6 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>
BCMI (Kg/m <sup>2</sup> )	8.7 ± 1.9 <sup>a</sup>	8.8 ± 2.0 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>	9.5 ± 1.4 <sup>a</sup>	9.8 ± 1.3 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Dati espressi come media ± deviazione standard; <sup>b</sup> test applicato: t-test per dati accoppiati. Abbreviazioni: BMI: indice di massa corporea; TBW: acqua corporea totale; ICW: acqua intracellulare; ECW: acqua extracellulare; FM: massa grassa; FFM: massa magra; MM: massa muscolare; BCMI: indice di massa cellulare corporea. I valori di  $p \leq 0,05$  sono considerati statisticamente significativi.

Tabella 8: Pressione sanguigna dei pazienti con CKD e gruppo di controllo.

	CKD patients			Control group		
	T0	T1	T0 vs T1	T0	T1	T0 vs T1
Pressione sistolica (mmHg)	137 ± 17 <sup>a</sup>	131 ± 16 <sup>a</sup>	$p=0,044^b$	115.5 ± 11.9 <sup>a</sup>	110.8 ± 11.2 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>
Pressione diastolica (mmHg)	78 ± 9 <sup>a</sup>	75 ± 9 <sup>a</sup>	$p=0,003^b$	73.1 ± 7.2 <sup>a</sup>	72.4 ± 9.1 <sup>a</sup>	ns <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Dati espressi come media ± deviazione standard; <sup>b</sup> test applicato: t-test per dati accoppiati. Abbreviazioni: i valori di  $p \leq 0,05$  sono considerati statisticamente significativi.

Al fine di escludere l'influenza sui parametri esaminati indotta da possibili modificazioni dello stile di vita, e per valutare i reali effetti dell'OFS, sono stati somministrati i questionari PREDIMED e IPAQ a T0 e T1. Il PREDIMED ha valutato l'adesione alla Dieta Mediterranea, mentre l'IPAQ ha monitorato i cambiamenti nell'attività fisica dei soggetti arruolati. Come evidenziato nelle Tabelle 9 e 10, in entrambi i gruppi, durante lo studio non è stato registrato alcun cambiamento nello stile di vita.

Tabella 9: Questionario PREDIMED.

	CKD patients			Controls		
	T0	T1	P (McNemar's test)	T0	T1	P (McNemar's test)
Minima aderenza (%)	8	8	ns	0	0	ns
Media aderenza (%)	87	87	ns	80	80	ns
Massima aderenza (%)	5	5	ns	20	20	ns

Tabella 10: Questionario IPAQ.

	CKD patients			Controls		
	T0	T1	P (McNemar's test)	T0	T1	P (McNemar's test)
Inattivo (%)	57	53	ns	60	60	ns
Sufficientemente attivo (%)	35	39	ns	40	40	ns
Molto attivo (%)	8	8	ns	0	0	ns

Per quanto riguarda il gruppo di controllo sano, come mostrato nelle Tabelle 4 e 8, i parametri di laboratorio non mostrano alcuna variazione significativa dopo la somministrazione dell'OFS. Mentre per la composizione corporea, anche nel gruppo di controllo sano si è registrato un aumento del TBW ( $50,5 \pm 4,8\%$  vs  $51,8 \pm 5,4\%$ ;  $p=0,017$ ) associato ad una significativa riduzione dell'ECW ( $52,1 \pm 4,7\%$  vs  $50,7 \pm 4,4\%$ ;  $p=0,047$ ) (Tabella 7) e della FM ( $31,5 \pm 6,9\%$  vs  $29,8 \pm 7,9\%$ ;  $p=0,014$ ).

#### 4. Discussione

Il presente studio ha esaminato i potenziali effetti benefici e cardioprotettivi di un OFS contenente composti naturali bioattivi di *Capsicum annum* L., *Garcinia cambogia*, *Centella asiatica* L., *carciofo* e *Aesculus hippocastanum* L. su pazienti nefropatici di sesso maschile rispetto a un gruppo di soggetti sani. Tale OFS è stato selezionato sulla base del suo potenziale antinfiammatorio, antiossidante e antiradicalico confermato dalla caratterizzazione chimica qualitativa e quantitativa dei composti attivi.

Numerosi studi hanno evidenziato che la riduzione del GFR e l'aumento dell'albuminuria sono associati all'aumentato rischio di insorgenza delle CVD [58, 59]. Inoltre, la riduzione fisiologica del GFR sembra essere correlata alle differenze di genere; infatti, Halbesma et al. [60] ha sottolineato le differenze di genere nella diminuzione annuale di GFR, in particolare  $-0,33$  ml / min /  $1,73$  m<sup>2</sup> per anno nelle donne e  $-0,55$  ml / min /  $1,73$  m<sup>2</sup> per anno negli uomini. Gli autori hanno dimostrato che i valori della pressione arteriosa sistolica nelle donne erano mediamente inferiori di 10 mmHg rispetto a quelli degli uomini. Considerando la PA come uno dei principali determinanti dell'aterosclerosi e della progressione verso l'ESRD, si può dedurre che le differenze di genere possono essere in parte attribuite a questo aumento della PA sistolica. Un'altra possibile spiegazione riguardo alla differenza di genere nel declino del GFR può essere spiegata dal diverso assetto ormonale osservato nei due sessi.

Inoltre, è stato stimato, analizzando l'escrezione urinaria di azoto ureico e la sodiuria nelle 24 ore, che l'assunzione di proteine e sali è inferiore nei soggetti di sesso femminile rispetto a quelli di sesso maschile [60]. Pertanto, il noto aumento del rischio CV nei pazienti con CKD è principalmente dovuto all'elevata prevalenza sia di AH che di DM, caratteristica di questi soggetti.

L'AH mostra una relazione di causa-effetto con la CKD: l'ipertensione rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo della CKD, oltre ad essere causata da quest'ultima [61]. Pertanto, al fine di prevenire eventi CV nei pazienti nefropatici, la pressione arteriosa dovrebbe essere inferiore a 140/90 mmHg, mentre i valori ottimali per un effetto reno-protettivo dovrebbero essere inferiori a 130/80 mmHg, soprattutto se i pazienti presentano sia una diminuzione del GFR che un aumento dell'albuminuria [62, 63].

Il presente studio evidenzia che dopo 5 settimane di somministrazione dell'OFS selezionato, nei pazienti nefropatici si registra una significativa riduzione dei valori di pressione arteriosa sistolica e diastolica. Questo risultato può essere spiegato dall'effetto antipertensivo esercitato dagli estratti di carciofo, Centella asiatica L. e Capsicum annum L. Precedenti studi *in vitro* hanno dimostrato come gli estratti di foglie di carciofo possono aumentare l'espressione genetica dell'ossido nitrico sintasi endoteliale (eNOS) e indurre la produzione di ossido nitrico (NO) nelle cellule endoteliali vascolari umane [64]. I risultati sono coerenti con uno studio randomizzato controllato con placebo condotto su 107 soggetti maschi leggermente ipertesi o sani, che ha dimostrato un calo della pressione sanguigna sistolica e diastolica dopo 12 settimane di somministrazione orale di succo concentrato di foglie di carciofo [65].

Per quanto riguarda la Centella asiatica L., si ipotizza che il suo effetto antipertensivo sia prodotto dal flavonoide quercetina. Tale ipotesi è stata confermata in uno studio condotto su animali su ratti Wistar maschi, in cui l'ipertensione è stata indotta dalla somministrazione di N-nitro-L-arginina metil estere (L-NAME). Dopo 30 minuti di somministrazione di L-NAME, è stato somministrato un estratto di Centella asiatica L. che ha indotto la riduzione dei valori di PA sistolica e diastolica agendo sulla produzione di eNOS e NO [66].

Un ulteriore effetto antipertensivo potrebbe essere correlato al Capsicum annum L. Infatti, il composto attivo presente nel suo estratto, denominato capsaicina, inibisce l'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) [67] e i canali del  $Ca^{2+}$  di tipo L presenti sulle cellule muscolari lisce [68]. Inoltre, promuove la natriuresi e la diuresi, attraverso la stimolazione del potenziale recettore transitorio vanilloide di tipo 1 (TRPV1), un recettore coinvolto nell'omeostasi emodinamica ed elettrolitica [69]. Tale effetto potrebbe anche spiegare la riduzione dell'ECW osservata nel nostro studio sia nei pazienti con CKD che nel gruppo di controllo.

Nel gruppo di controllo sano, il presente studio ha evidenziato una significativa riduzione della FM% dopo la somministrazione dell'OFS; tale risultato può essere correlato agli effetti antiobesogenici del Capsicum annum L., caratterizzato dall'attivazione della termogenesi, induzione della sazietà, ossidazione dei grassi [70], aumento del consumo energetico [71], inibizione della differenziazione degli adipociti [72] e modulazione del rilascio di adipocitochine [73]. Inoltre, la riduzione della FM può essere attribuita anche alle azioni della Garcinia cambogia, come l'induzione della sazietà e il mantenimento del peso corporeo [74]. Di conseguenza, la riduzione della FM% determina un aumento della TBW%. Questo perché la FFM ha un contenuto d'acqua molto elevato, stimato al 73% (nei modelli multicompartimentali), rispetto alla relativa scarsità d'acqua che caratterizza l'FM [75].

In questo studio, la riduzione del TC e dell'indice di rischio aterogenico TC/HDL-C nei pazienti con CKD potrebbe essere attribuita agli effetti ipolipemizzanti degli estratti di carciofo e Capsicum annum L. È stato infatti dimostrato che il carciofo agisce sul metabolismo lipidico inducendo una riduzione della produzione di colesterolo, riducendo la sua biosintesi attraverso l'inibizione della  $\beta$ -idrossi  $\beta$ -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasi [76] e favorendone l'escrezione. Inoltre, il carciofo aumenta la produzione di bile, che a sua volta aumenta l'eliminazione del colesterolo [77, 78]. Riguardo all'azione ipolipemizzante del Capsicum annum L., sia studi *in vitro* che quelli *in vivo* hanno dimostrato come può ridurre TC, trigliceridi e LDL-C e indurre un possibile aumento del HDL-C [79]. Mueller et al. [80] hanno dimostrato, in uno studio *in vitro*, come la capsaicina sia in grado di indurre una moderata transattivazione del recettore attivato da proliferatori perossisomiali  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ), agendo così positivamente sul profilo lipidico. Questi dati supportano lo studio *in vivo* di Kwon et al. [81]. Gli autori hanno suddiviso i conigli bianchi maschi della Nuova Zelanda in due gruppi, uno era il gruppo di controllo a cui era stata somministrata una dieta a base di carne macinata, contenente l'1% di colesterolo, e l'altro era stato sottoposto alla stessa dieta con aggiunta di peperoncino per 12 settimane. Al termine dello studio il gruppo a cui era somministrato il peperoncino ha mostrato un'attività significativamente inferiore della proteina di trasferimento degli esteri del colesterolo (CETP) e livelli significativamente più bassi di TC, trigliceridi e indice aterogenico [(TC) - (HDL-C) / (HDL-C)] rispetto a il gruppo di controllo.

L'ultimo importante effetto osservato nel nostro studio è il miglioramento dei parametri infiammatori nei pazienti nefropatici. Tale effetto è particolarmente rilevante per le implicazioni cliniche, poiché l'infiammazione cronica rappresenta una delle caratteristiche più salienti del fenotipo uremico [82 - 84]. Il miglioramento dello stato infiammatorio (caratterizzato dalla riduzione sia della PCR che della VES) può essere spiegato dall'azione

antinfiammatoria del *Capsicum annum* L. Una serie di studi hanno evidenziato le proprietà antinfiammatorie della capsaicina, in grado di inibire i mediatori dell'infiammazione come l'interleuchina-6, il fattore di necrosi tumorale- $\alpha$  e le prostaglandine E2. Inoltre, uno studio su animali ha evidenziato come il succo di *Capsicum Baccatum* L. possa esercitare un'azione antinfiammatoria inibendo la produzione di citochine in prossimità del sito di infiammazione riducendo il reclutamento di neutrofili e citochine pro-infiammatorie nell'essudato [85, 86].

Durante le 9 settimane di somministrazione dell'OFS, non avevamo osservato alcun evento CV (come infarto, ictus o aritmia). Inoltre, all'arruolamento, i pazienti con CKD mostravano livelli di CIMT più elevati rispetto al range di normalità [87, 88], indicativo di una disfunzione endoteliale frequentemente presente in questi pazienti [89]. Questo parametro non ha subito modifiche significative al T1, probabilmente a causa del breve periodo di somministrazione dell'OFS. Tuttavia, abbiamo osservato un miglioramento dello stato infiammatorio a T1, che è direttamente correlato alla CIMT nei pazienti uremici [90]; pertanto, si può ipotizzare che aumentando i tempi di somministrazione dell'OFS si possa ottenere una significativa riduzione del CIMT.

I limiti del presente studio risiedono nella dimensione esigua del campione e nell'assenza di un parametro di laboratorio che monitori biomarcatori specifici dello stress ossidativo.

## 5. Conclusioni

I nostri risultati relativi ai pazienti nefropatici di sesso maschile hanno evidenziato una significativa riduzione dei valori della PA sistolica e diastolica, del TC e dell'indice aterogenico come TC / HDL-C; inoltre si osserva un impatto positivo sullo stato infiammatorio. Tutti questi parametri contribuiscono alla riduzione del rischio CV nella popolazione in studio. Di conseguenza, i dati ottenuti pongono le basi per l'esecuzione di uno studio clinico randomizzato su un campione di pazienti più ampio, così da confermare l'azione cardioprotettiva e antinfiammatoria esercitata dall'OFS sui pazienti nefropatici. Inoltre, sarebbe interessante testare lo stesso OFS su popolazioni di pazienti affette da altre malattie cronico-degenerative non trasmissibili come cancro e/o DM.

**Ringraziamenti:** Ringraziamo l'Azienda Farmaceutica Marispharma Srl e la Dott.ssa Maria Paola Tanzi per la fornitura gratuita dell'OFS. Siamo in debito con il Prof. Simone Manca di Villahermosa per il supporto clinico e con la Dott.ssa Tiziana Berardicurti per l'assistenza infermieristica.

**Conflitto di interessi:** Gli autori dichiarano che non vi è conflitto di interessi per quanto riguarda la pubblicazione di questo documento.

## Riferimenti

1. Cortaredona S., Ventelou B. The extra cost of comorbidity: multiple illnesses and the economic burden of non-communicable diseases. *BMC Medicine*. 2017;15(1):p. 216. doi: 10.1186/s12916-017-0978-2.
2. Noce A., Marrone G., di Daniele F., et al. Impact of gut microbiota composition on onset and progression of chronic non-communicable diseases. *Nutrients*. 2019;11(5):p. 1073. doi: 10.3390/nu11051073.
3. Allen L. Are we facing a noncommunicable disease pandemic? *Journal of Epidemiology and Global Health*. 2017;7(1):5–9. doi: 10.1016/j.jegh.2016.11.001.
4. Shlisky J., Bloom D. E., Beaudreault A. R., et al. Nutritional considerations for healthy aging and reduction in age-related chronic disease. *Advances in Nutrition*. 2017;8(1):17.2–1726. doi: 10.3945/an.116.013474.
5. Hernandez-Ledesma B., Hsieh C. C., Martinez-Villaluenga C. Food bioactive compounds against diseases of the 21st century 2016. *BioMed Research International*. 2017;2017:2. doi: 10.1155/2017/1750823.1750823
6. Hill N. R., Fatoba S. T., Oke J. L., et al. Global prevalence of chronic kidney disease - a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11(7, article e0158765) doi: 10.1371/journal.pone.0158765.
7. Nitta K., Okada K., Yanai M., Takahashi S. Aging and chronic kidney disease. *Kidney and Blood Pressure Research*. 2013;38(1):109–120. doi: 10.1159/000355760.
8. Levey A. S., Bosch J. P., Lewis J. B., Greene T., Rogers N., Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction Equation. *Annals of Internal Medicine*. 1999;130(6):461–470. doi: 10.7326/0003-4819-130-6-199903160-00002.

9. di Lullo L., Bellasi A., Barbera V., et al. Pathophysiology of the cardio-renal syndromes types 1-5: an uptodate. *Indian Heart Journal*. 2017;69(2):255–265. doi: 10.1016/j.ihj.2017.01.005.
10. Kopple J. D. National Kidney Foundation K/DOQI clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. *American Journal of Kidney Diseases*. 2001;37(1):S66–S70. doi: 10.1053/ajkd.2001.20748.
11. Levin A., Singer J., Thompson C. R., Ross H., Lewis M. Prevalent left ventricular hypertrophy in the predialysis population: identifying opportunities for intervention. *American Journal of Kidney Diseases*. 1996;27(3):347–354. doi: 10.1016/s0272-6386(96)90357-1.
12. Braam B., Lai C. F., Abinader J., Bello A. K. Extracellular fluid volume expansion, arterial stiffness and uncontrolled hypertension in patients with chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2019 doi: 10.1093/ndt/gfz020.
13. Vasavada N., Agarwal R. Role of excess volume in the pathophysiology of hypertension in chronic kidney disease. *Kidney International*. 2003;64(5):1772–1779. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00273.x.
14. Hung S. C., Kuo K. L., Peng C. H., et al. Volume overload correlates with cardiovascular risk factors in patients with chronic kidney disease. *Kidney International*. 2014;85(3):703–709. doi: 10.1038/ki.2013.336.
15. Pastore A., Noce A., di Giovamberardino G., et al. Homocysteine, cysteine, folate and vitamin B12 status in type 2 diabetic patients with chronic kidney disease. *Journal of Nephrology*. 2015;28(5):571–576. doi: 10.1007/s40620-014-0126-4.
16. Dessì M., Noce A., Dawood K. F., et al. Erythrocyte glutathione transferase: a potential new biomarker in chronic kidney diseases which correlates with plasma homocysteine. *Amino Acids*. 2012;43(1):347–354. doi: 10.1007/s00726-011-1085-x.
17. Pecoits-Filho R., Lindholm B., Stenvinkel P. The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome -- the heart of the matter. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2002;17(Supplement 11):28–31. doi: 10.1093/ndt/17.suppl\_11.28.
18. Dessì M., Noce A., Agnoli A., et al. The usefulness of the prognostic inflammatory and nutritional index (PINI) in a haemodialysis population. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases*. 2009;19(11):811–815. doi: 10.1016/j.numecd.2009.01.009.
19. Noce A., Fabrini R., Dessì M., et al. Erythrocyte glutathione transferase activity: a possible early biomarker for blood toxicity in uremic diabetic patients. *Acta Diabetologica*. 2014;51(2):219–224. doi: 10.1007/s00592-013-0497-3.
20. Fort J. Chronic renal failure: a cardiovascular risk factor. *Kidney International*. 2005;68:S25–S29. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.09906.x.
21. Go A. S., Chertow G. M., Fan D., McCulloch C. E., Hsu C. Y. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *New England Journal of Medicine*. 2004;351(13):1296–1305. doi: 10.1056/NEJMoa041031.
22. Fujii H., Goto S., Fukagawa M. Role of uremic toxins for kidney, cardiovascular, and bone dysfunction. *Toxins*. 2018;10(5):p. 202. doi: 10.3390/toxins10050202.
23. Vanholder R., Pletinck A., Schepers E., Glorieux G. Biochemical and clinical impact of organic uremic retention solutes: a comprehensive update. *Toxins*. 2018;10(1):p. 33. doi: 10.3390/toxins10010033.
24. Sarnak M. J., Levey A. S., Schoolwerth A. C., et al. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension*. 2003;42(5):1050–1065. doi: 10.1161/01.HYP.0000102971.85504.7c.
25. Taccone-Gallucci M., Noce A., Bertucci P., et al. Chronic treatment with statins increases the availability of selenium in the antioxidant defence systems of hemodialysis patients. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2010;24(1):27–30. doi: 10.1016/j.jtemb.2009.06.005.
26. Che R., Yuan Y., Huang S., Zhang A. Mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of renal diseases. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2014;306(4):F367–F378. doi: 10.1152/ajprenal.00571.2013.
27. Sureshbabu A., Ryter S. W., Choi M. E. Oxidative stress and autophagy: crucial modulators of kidney injury. *Redox Biology*. 2015;4:208–214. doi: 10.1016/j.redox.2015.01.001.
28. Noce A., Rovella V., Marrone G., et al. Hemodialysis biomarkers: total advanced glycation end products (AGEs) against oxidized human serum albumin (HSAox) *Acta Diabetologica*. 2019;56(12):1323–1331. doi: 10.1007/s00592-019-01413-7.
29. Bocedi A., Noce A., Rovella V., et al. Erythrocyte glutathione transferase in kidney transplantation: a probe for kidney detoxification efficiency. *Cell Death & Disease*. 2018;9(3):p. 288. doi: 10.1038/s41419-018-0289-3.
30. Iseki K. Gender differences in chronic kidney disease. *Kidney International*. 2008;74(4):415–417. doi: 10.1038/ki.2008.261.

31. Iseki K., Iseki C., Ikemiya Y., Fukiyama K. Risk of developing end-stage renal disease in a cohort of mass screening. *Kidney International*. 1996;49(3):800–805. doi: 10.1038/ki.1996.111.
32. Mattioli R., Mosca L., Sanchez-Lamar A., Tempera I., Hausmann R. Natural bioactive compounds acting against oxidative stress in chronic, degenerative, and infectious diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018;2018:2. doi: 10.1155/2018/3894381.3894381
33. Liu R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal of Nutrition*. 2004;134(12):3479S–3485S. doi: 10.1093/jn/134.12.3479S.
34. Liu R. H. Dietary bioactive compounds and their health implications. *Journal of Food Science*. 2013;78(Supplement 1):A18–A25. doi: 10.1111/1750-3841.12101.
35. Battino M., Forbes-Hernández T. Y., Gasparrini M., et al. Relevance of functional foods in the Mediterranean diet: the role of olive oil, berries and honey in the prevention of cancer and cardiovascular diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2018;59(6):893–920. doi: 10.1080/10408398.2018.1526165.
36. Talebi S., Bagherniya M., Atkin S. L., Askari G., Orafi H. M., Sahebkar A. The beneficial effects of nutraceuticals and natural products on small dense LDL levels, LDL particle number and LDL particle size: a clinical review. *Lipids in Health and Disease*. 2020;19(1):p. 66. doi: 10.1186/s12944-020-01250-6.
37. Heymsfield S. B., Allison D. B., Vasselli J. R., Pietrobelli A., Greenfield D., Nunez C. Garcinia cambogia (hydroxycitric acid) as a potential antiobesity agent: a randomized controlled trial. *JAMA*. 1998;280(18):1596–1600. doi: 10.1001/jama.280.18.1596.
38. Licata A., Minissale M. G. Weight-loss supplementation and acute liver failure: the case of Garcinia cambogia. *Internal and Emergency Medicine*. 2018;13(6):833–835. doi: 10.1007/s11739-018-1912-0.
39. Arora R., Kumar R., Agarwal A., Reeta K. H., Gupta Y. K. Comparison of three different extracts of *Centella asiatica* for anti- amnesic, antioxidant and anticholinergic activities: *in vitro* and *in vivo* study. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;105:1344–1352. doi: 10.1016/j.biopha.2018.05.156.
40. Sultan R. A., Mahmood S. B. Z., Azhar I., Ahmed S. W., Mahmood Z. A. Biological activities assessment of *Centella asiatica* (Linn.) *Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants*. 2014;20(3):319–327. doi: 10.1080/10496475.2013.869521.
41. Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R. M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 1999;299:152–178. doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
42. Dewanto V., Wu X., Adom K. K., Liu R. H. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(10):3010–3014. doi: 10.1021/jf0115589.
43. Huang D., Ou B., Prior R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005;53(6):1841–1856. doi: 10.1021/jf030723c.
44. Romani A., Lapucci C., Cantini C., Ieri F., Mulinacci N., Visioli F. Evolution of minor polar compounds and antioxidant capacity during storage of bottled extra virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007;55(4):1315–1320. doi: 10.1021/jf062335r.
45. Ninfali P., Mea G., Giorgini S., Rocchi M., Bacchiocca M. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *British Journal of Nutrition*. 2005;93(2):257–266. doi: 10.1079/bjn20041327.
46. Brand-Williams W., et al. Cuvelier M. E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 1995;28(1):25–30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
47. Del Bo C., Bernardi S., Marino M., et al. Systematic review on polyphenol intake and health outcomes: is there sufficient evidence to define a health-promoting polyphenol-rich dietary pattern? *Nutrients*. 2019;11(6):p. 1355. doi: 10.3390/nu11061355.
48. Cory H., Passarelli S., Szeto J., Tamez M., Mattei J. The role of polyphenols in human health and food systems: a mini-review. *Frontiers in Nutrition*. 2018;5:p. 87. doi: 10.3389/fnut.2018.00087.
49. Martínez-González M. A., García-Arellano A., Toledo E., et al. A 14-item Mediterranean diet assessment tool and obesity indexes among high-risk subjects: the PREDIMED trial. *PLoS One*. 2012;7(8, article e43134) doi: 10.1371/journal.pone.0043134.
50. Wannier M., Probst-Hensch N., Kriemler S., Meier F., Autenrieth C., Martin B. W. Validation of the long international physical activity questionnaire: Influence of age and language region. *Preventive Medical Reports*. 2016;3:250–256. doi: 10.1016/j.pmedr.2016.03.003.
51. Millán J., Pintó X., Muñoz A., et al. Lipoprotein ratios: physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vascular Health and Risk Management*. 2009;5:757–765.
52. Noce A., Canale M. P., Capria A., et al. Coronary artery calcifications predict long term cardiovascular events in non diabetic Caucasian hemodialysis patients. *Aging*. 2015;7(4):269–279. doi: 10.18632/aging.100740.

53. Lohman T. G., Roche A. F., Reynaldo Martorell H. M. *Anthropometric Standardization Reference Manual*. Champaign, IL: Human Kinetics Books; 1988.
54. Bellizzi V., Scalfi L., Terracciano V., et al. Early changes in bioelectrical estimates of body composition in chronic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2006;17(5):1481–1487. doi: 10.1681/ASN.2005070756.
55. Williams B., Mancia G., Spiering W., et al. 2018 ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension: the task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology and the European Society of Hypertension. *Journal of Hypertension*. 2018;36(10):1953–2041. doi: 10.1097/HJH.0000000000001940.
56. Touboul P. J., Hennerici M. G., Meairs S., et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus (2004-2006-2011). An update on behalf of the advisory board of the 3rd, 4th and 5th watching the risk symposia, at the 13th, 15th and 20th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, Brussels, Belgium, 2006, and Hamburg, Germany, 2011. *Cerebrovascular Diseases*. 2012;34(4):290–296. doi: 10.1159/000343145.
57. Xiang J. X. On two-sample McNemar test. *Journal of Biopharmaceutical Statistics*. 2015;26:217–226. doi: 10.1080/10543406.2014.1000548.
58. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *The Lancet*. 2010;375:2073–2081. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60674-5.
59. van der Velde M., Matsushita K., Coresh J., et al. Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality. A collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. *Kidney International*. 2011;79(12):1341–1352. doi: 10.1038/ki.2010.536.
60. Halbesma N., Brantsma A. H., Bakker S. J. L., et al. Gender differences in predictors of the decline of renal function in the general population. *Kidney International*. 2008;74(4):505–512. doi: 10.1038/ki.2008.200.
61. Kokubo Y., Nakamura S., Okamura T., et al. Relationship between blood pressure category and incidence of stroke and myocardial infarction in an urban Japanese population with and without chronic kidney disease: the Suita Study. *Stroke*. 2009;40(8):2674–2679. doi: 10.1161/STROKEAHA.109.550707.
62. Appel L. J., Wright J. T., Jr., Greene T., et al. Intensive blood-pressure control in hypertensive chronic kidney disease. *The New England Journal of Medicine*. 2010;363(10):918–929. doi: 10.1056/NEJMoa0910975.
63. Jafar T. H., Schmid C. H., Landa M., et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and progression of nondiabetic renal disease. A meta-analysis of patient-level data. *Annals of Internal Medicine*. 2001;135(2):73–87. doi: 10.7326/0003-4819-135-2-200107170-00007.
64. Li H., Xia N., Brausch I., Yao Y., Forstermann U. Flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) up-regulate endothelial-type nitric-oxide synthase gene expression in human endothelial cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2004;310(3):926–932. doi: 10.1124/jpet.104.066639.
65. Roghani-Dehkordi F., Kamkhah A. F. Artichoke leaf juice contains antihypertensive effect in patients with mild hypertension. *Journal of Dietary Supplements*. 2009;6(4):328–341. doi: 10.3109/19390210903280207.
66. Intharachatorn T., Srisawat R. Antihypertensive effects of Centella asiatica extract. *International Conference on Food and Agricultural Sciences*. 2013;55 doi: 10.7763/IPCBE.
67. Adefegha A., Oboh G. Phytochemistry and mode of action of some tropical spices in the management of type-2 diabetes and hypertension. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2013;7(7):332–346. doi: 10.5897/AJPPX12.014.
68. Sun F., Xiong S., Zhu Z. Dietary capsaicin protects cardiometabolic organs from dysfunction. *Nutrients*. 2016;8(5):p. 174. doi: 10.3390/nu8050174.
69. Zhang M. J., Yin Y. W., Li B. H., et al. The role of TRPV1 in improving VSMC function and attenuating hypertension. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2015;117(2-3):212–216. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2015.03.004.
70. Woo H. M., Kang J. H., Kawada T., Yoo H., Sung M. K., Yu R. Active spice-derived components can inhibit inflammatory responses of adipose tissue in obesity by suppressing inflammatory actions of macrophages and release of monocyte chemoattractant protein-1 from adipocytes. *Life Sciences*. 2007;80(10):926–931. doi: 10.1016/j.lfs.2006.11.030.
71. Ludy M. J., Moore G. E., Mattes R. D. The effects of capsaicin and capsiate on energy balance: critical review and meta-analyses of studies in humans. *Chemical Senses*. 2012;37(2):103–121. doi: 10.1093/chemse/bjr100.
72. Hwang J. T., Park I. J., Shin J. I., et al. Genistein, EGCG, and capsaicin inhibit adipocyte differentiation process via activating AMP-activated protein kinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005;338(2):694–699. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.09.195.

73. Kang J. H., Kim C. S., Han I. S., Kawada T., Yu R. Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein release from obese-mouse adipose tissues and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory responses of adipose tissue macrophages. *FEBS Letters*. 2007;581(23):4389–4396. doi: 10.1016/j.febslet.2007.07.082.
74. Fassina P., Scherer Adami F., Terezinha Zani V., et al. The effect of *Garcinia cambogia* as coadjuvant in the weight loss process. *Nutrición Hospitalaria*. 2015;32(6):2400–2408. doi: 10.3305/nh.2015.32.6.9587.
75. Montagnani M., Montomoli M., Mulinari M., Guzzo G., Scopetani N., Gennari C. Relevance of hydration state of the fat free mass in estimating fat mass by body impedance analysis. *Applied Radiation and Isotopes*. 1998;49(5-6):499–500. doi: 10.1016/s0969-8043(97)00180-2.
76. Saenz Rodriguez T., Garcia Gimenez D., de la Puerta Vazquez R. Choloretic activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract in rats. *Phytomedicine*. 2002;9(8):687–693. doi: 10.1078/094471102321621278.
77. Rondanelli M., Monteferrario F., Perna S., Faliva M. A., Opizzi A. Health-promoting properties of artichoke in preventing cardiovascular disease by its lipidic and glycemic-reducing action. *Monaldi Archives for Chest Disease*. 2013;80(1):17–26. doi: 10.4081/monaldi.2013.87.
78. Bundy R., Walker A. F., Middleton R. W., Wallis C., Simpson H. C. R. Artichoke leaf extract (*Cynara scolymus*) reduces plasma cholesterol in otherwise healthy hypercholesterolemic adults: a randomized, double blind placebo controlled trial. *Phytomedicine*. 2008;15(9):668–675. doi: 10.1016/j.phymed.2008.03.001.
79. Sanati S., Razavi B. M., Hosseinzadeh H. A review of the effects of *Capsicum annum* L. and its constituent, capsaicin, in metabolic syndrome. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2018;21(5):439–448. doi: 10.22038/IJBMS.2018.25200.6238.
80. Mueller M., Beck V., Jungbauer A. PPAR $\alpha$  activation by culinary herbs and spices. *Planta Medica*. 2011;77(5):497–504. doi: 10.1055/s-0030-1250435.
81. Kwon M. J., Song Y. S., Choi M. S., Song Y. O. Red pepper attenuates cholesteryl ester transfer protein activity and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Clinica Chimica Acta*. 2003;332(1-2):37–44. doi: 10.1016/s0009-8981(03)00118-9.
82. Cobo G., Lindholm B., Stenvinkel P. Chronic inflammation in end-stage renal disease and dialysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2018;33(Supplement 3):iii35–iii40. doi: 10.1093/ndt/gfy175.
83. Stenvinkel P., Heimbürger O., Paultre F., et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney International*. 1999;55(5):1899–1911. doi: 10.1046/j.1523-1755.1999.00422.x.
84. Zimmermann J., Herrlinger S., Pruy A., Metzger T., Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney International*. 1999;55(2):648–658. doi: 10.1046/j.1523-1755.1999.00273.x.
85. Surh Y. J. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: a short review. *Food and Chemical Toxicology*. 2002;40(8):1091–1097. doi: 10.1016/s0278-6915(02)00037-6.
86. Spiller F., Alves M. K., Vieira S. M., et al. Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan- and antigen-induced inflammation. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2008;60(4):473–478. doi: 10.1211/jpp.60.4.0010.
87. Ravani A., Werba J., Frigerio B., et al. Assessment and relevance of carotid intima-media thickness (C-IMT) in primary and secondary cardiovascular prevention. *Current Pharmaceutical Design*. 2015;21(9):1164–1171. doi: 10.2174/1381612820666141013121545.
88. Ebrahim S., Papacosta O., Whincup P., et al. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and Women. *Stroke*. 1999;30(4):841–850. doi: 10.1161/01.str.30.4.841.
89. Younis H. A., Nafady M. A., Mahmoud M. Value of carotid intimal-medial thickness as independent predictor of endothelial dysfunction in uremic patients. *The Egyptian Heart Journal*. 2011;63(2):73–78. doi: 10.1016/j.ehj.2011.09.008.
90. Kuswardhani T., Wiradharma K. G., Kandarini Y., Widiana G. R., Dwi Martadiani E. Factors associated with carotid intima-media thickness in patients on maintenance hemodialysis. *International Journal of General Medicine*. 2019;Volume 12:1–6. doi: 10.2147/IJGM.S178276.