

# STUDI CLINICI, HEALTH CLAIM E RACCOMANDAZIONI SECONDO EVIDENCE-BASED MEDICINE IN NUTRACEUTICA

## Clinical trials, health claims and evidence-based medicine recommendations in nutraceuticals

Angela Pirillo<sup>1</sup>, Paolo Magni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale E. Bassini, Cinisello Balsamo (MI)

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

### Keywords

Nutraceutical  
Clinical trial  
Clinical trial registry  
EFSA  
Health claims

### Abstract

Differently from drugs, which are subjected to rigorous pre-clinical and clinical protocols before obtaining the marketing authorization, nutraceuticals are often used in the absence of clinical studies proving their effectiveness and safety in humans. Hence, there is a need to conduct clinical trials in accordance with established rules to determine the effectiveness, the safety and the long-term effects of a nutraceutical. These rules include clinical trials with high methodological quality, an adequate number of subjects, clear endpoints, and the registration of the clinical trial into public registries, where all information is made available. The publication of clinical trials with these features allows, by the mean of accurate meta-analyses, an independent evaluation of the effectiveness and safety of a nutraceutical. Based on the scientific results obtained in high-quality clinical trials, the European Food Safety Agency (EFSA) provides its opinion about the health claims of a nutraceutical, i.e. any statement about a relationship between the nutraceutical and health. Another relevant aspect is the possibility that nutraceuticals are used in combination with other drugs, as "add-on therapy", with the purpose to integrate or improve the effect of the drug. This further implies the need for rigorous studies able to evaluate potential drug-nutraceutical interactions and to assess the actual effectiveness of this combination treatment.

### Introduzione

*I nutraceutici, in base alla attuale legislazione italiana, rientrano nella categoria regolatoria degli integratori alimentari per i quali, per l'immissione sul mercato, è ad oggi essenzialmente prevista la notifica al Ministero della Salute, senza una specifica sperimentazione clinica.*

Un farmaco, ai fini dell'uso clinico-terapeutico, è sottoposto, come noto, a un rigido percorso di validazione, prima dell'autorizzazione all'immissione in commercio. Lo scopo è quello di valutarne l'efficacia clinica, ma anche la sicurezza d'uso, per poter determinare il rapporto rischio/beneficio associato alla sua somministrazione. Questo percorso, che può durare molti anni, comprende una fase di sperimentazione pre-clinica con studi in vitro, che permettono di definire un potenziale effetto terapeutico ed eventualmente identificare i possibili meccanismi d'azione, e studi in vivo in modelli animali appropriati, seguiti da una lunga fase di sperimentazione clinica sull'uomo. Sulla base degli attuali aspetti regolatori (in Italia, in Europa e in altri Paesi), la complessità sperimentale associata allo sviluppo di un farmaco è spesso presente solo in minima parte nel processo di sviluppo dei nutraceutici. Questi, rientrando nella categoria degli integratori alimentari, vengono immessi in commercio dopo notifica al Ministero della Salute e sono utilizzati anche in assenza di studi clinici che ne possano comprovare l'efficacia. Spesso, le proprietà salutistiche dei nutraceutici (e in generale degli integratori alimentari) vengono talora dedotte da studi di piccola entità o non controllati. Data l'ampia varietà di metodi e protocolli sperimentali e clinici utilizzati durante la sperimentazione di un farmaco, è razionale pensare di applicarne alcuni tra i più validi anche per lo sviluppo di un nutraceutico.

---

Corrispondenza: Paolo Magni. Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, via Balzaretti, 9 - 20133 Milano, Italia. E-mail: paolo.magni@unimi.it

**Box****Come nasce un farmaco (e come dovrebbe nascere un nutraceutico)?**

1. Identificazione di una molecola con potenziale attività farmacologica
2. Sperimentazione pre-clinica per definire tossicità e meccanismi d'azione:
  - in vitro
  - in modelli animali
3. Sperimentazione clinica (sull'uomo):
  - fase 1 (in volontari sani per definire tollerabilità, farmacocinetica, farmacodinamica)
  - fase 2 (su un numero limitato di pazienti per definire attività ed efficacia)
  - fase 3 (su un numero elevato di pazienti per definire sicurezza ed efficacia)
4. Farmacovigilanza post-marketing

In questo contesto, appare ragionevole condurre una fase di ricerca pre-clinica, in vitro e su modelli animali, che permettano di studiare i meccanismi d'azione molecolare e cellulare, l'assorbimento, la biodistribuzione, il metabolismo e l'escrezione del composto nutraceutico, la tossicità acuta e cronica, la genotossicità e la tossicità della riproduzione e dello sviluppo e le possibili interazioni cinetiche e dinamiche. Successivamente, occorrono studi clinici condotti secondo le norme della buona pratica clinica (*Good Clinical Practice*), previo parere positivo del comitato etico di riferimento, e con la valutazione di outcome clinici adeguati alle funzioni fisiologiche che si pensa di modulare o alle condizioni di rischio patologico su cui si pensa di intervenire con il nutraceutico oggetto di interesse. Questi studi clinici vanno condotti su un numero adeguato (in termini statistici) di soggetti con caratteristiche appropriate per la valutazione dell'efficacia del composto indagato e con durata dell'intervento tale da permettere di definire non solo l'efficacia salutistica, ma anche, e soprattutto, la sicurezza, la possibilità di interazioni cinetiche e/o dinamiche con altri nutrienti o farmaci e, non da ultimo, l'incidenza di eventuali eventi avversi.

## Studi clinici e nutraceutici: aspetti attuali e prospettive future

*Gli studi clinici randomizzati, placebo-controllati e in doppio cieco rappresentano uno dei migliori strumenti per valutare l'efficacia clinica dei nutraceutici, oltre che dei farmaci.*

La definizione dell'efficacia salutistica e della sicurezza di un nutraceutico passa necessariamente attraverso studi clinici e traslazionali/pre-clinici condotti secondo precise regole. Con la Direttiva 2001/20/EC del Parlamento Europeo e del Consiglio Europeo del 4 aprile 2001 vengono definite regole sulla cui base possono essere condotte sperimentazioni cliniche. Al riguardo, ormai da alcuni anni, anche in ambito nutraceutico vari studi clinici di intervento presentano un disegno sperimentale di buona qualità, con uno schema in doppio cieco, randomizzato e contro placebo [1-5]. La pubblicazione di studi clinici di qualità rappresenta quindi un passaggio fondamentale nella definizione della possibile attività salutistica di un nutraceutico; tuttavia, per evitare la pubblicazione selettiva di studi con esito positivo, che può portare a conclusioni errate riguardo le proprietà di una sostanza, sarebbe opportuna la registrazione dello studio clinico su un registro pubblico, come avviene per i farmaci, in modo che sia possibile verificare l'esistenza anche di studi a sfavore. L'*International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)* raccomanda che tutte le riviste scientifiche richiedano, come condizione per la pubblicazione, la registrazione dello studio clinico prima o al momento del reclutamento del primo paziente (<http://www.icmje.org/recommendations/browse/publishing-and-editorial-issues/clinical-trial-registration.html>). Esistono al riguardo vari registri pubblici (ClinicalTrials.gov, ClinicalTrialsRegister.eu, [www.controlled-trials.com](http://www.controlled-trials.com)) che forniscono informazioni riguardanti il protocollo dello studio, lo sponsor, il composto valutato e lo stato dello studio, così come informazioni riguardanti i soggetti reclutati, le loro caratteristiche di inclusione ed esclusione, gli end point e gli eventi avversi.

La presenza di questi registri ha aumentato l'integrità dei risultati riportati in letteratura riducendo di fatto il *publication bias* (o errore sistematico di pubblicazione). Tuttavia, ci sono ancora molte riviste che pubblicano studi clinici su nutraceutici o *functional foods* senza richiedere la registrazione dello studio clinico come prerequisito per la pubblicazione. D'altra parte, è anche vero che non tutti gli studi clinici che

---

***I nutraceutici hanno spesso una natura complessa, ad esempio perché sono utilizzati in forma di estratto o di fitocomplesso o ancora sono proposti come associazione di più composti attivi con differenti meccanismi d'azione. Ciò ne può renderne più complessa la valutazione dell'efficacia e della sicurezza.***

---

vengono registrati hanno come esito finale una pubblicazione, e questo suggerisce che la registrazione in sé non è sufficiente a garantire la trasparenza dello studio stesso. Ma d'altra parte, poiché la *European Food Safety Agency* (EFSA) per poter dare un parere su un'indicazione salutistica richiede prove scientifiche che possano confermare tale effetto, negli ultimi anni si è posto il problema, da parte delle aziende produttrici di nutraceutici, di allocare un adeguato investimento economico per condurre studi clinici di qualità che abbiano le caratteristiche richieste, tenendo conto degli standard scientifici completamente modificati rispetto a 10-15 anni fa, anche per quanto riguarda i prodotti di origine naturale, quali i nutraceutici stessi.

La natura stessa del nutraceutico, che a volte si presenta come fitocomplesso o comunque miscela naturale di varie sostanze, lo rende molto diverso dal farmaco. Infatti, gli effetti di un nutraceutico sono di solito inferiori rispetto a quelli determinati da un farmaco e possono essere influenzati in modo più marcato da numerosi fattori, quali le abitudini alimentari, il fumo e altri fattori. Questo rende, per certi versi, ancora più complicata la dimostrazione scientifica di un effetto positivo sulla salute e richiede, quindi, un maggior rigore nella definizione e conduzione dello studio clinico. Naturalmente, la definizione del quesito clinico di fondo (*primary question*) a cui deve rispondere lo studio clinico è fondamentale per il successo dello studio stesso. Ciò implica una conoscenza già approfondita dei meccanismi d'azione a livello molecolare e cellulare, del metabolismo del composto, dei possibili target, delle dosi efficaci e della possibile durata del trattamento determinati dagli studi pre-clinici. Va inoltre tenuto conto che uno studio clinico ha delle implicazioni etiche che impongono la corretta scelta dei possibili soggetti da reclutare e la definizione di end point coerenti con il tipo di sostanza oggetto di studio. La scelta errata della popolazione da studiare o degli end point da valutare può portare al fallimento dello studio clinico.

Un singolo studio clinico chiaramente non può dare risposte definitive nella valutazione dell'attività di un nutraceutico, né in termini di efficacia, né in termini di sicurezza. Quindi, per dare fondatezza scientifica all'utilizzo di un nutraceutico da solo o in combinazione con altri nutraceutici o come *add-on therapy* (o trattamento aggiuntivo) con farmaci, è importante poter condurre delle rigorose metanalisi che, combinando i risultati di studi clinici indipendenti, possano dare una stima complessiva dell'effetto del trattamento, che metta in evidenza eventuali aspetti critici, quali l'eterogeneità degli studi inclusi (ad es. soggetti reclutati, misure di outcome, ecc.) e che pesi il valore di ogni singolo studio nella determinazione dell'effetto globale riportato [6-8].

## **EFSA e health claims: valore e criticità**

---

***La European Food Safety Agency è stata attivata nel 2002 per fornire consulenza scientifica sulle norme che regolamentano la sicurezza alimentare in Europa. È incaricata della valutazione del rischio e dell'elaborazione di pareri basati sulle informazioni scientifiche disponibili per fornire una solida base all'attività legislativa europea nel campo della sicurezza alimentare.***

---

L'EFSA, nata nel 2002 per fornire consulenza scientifica indipendente sul tema delle norme che regolamentano la sicurezza alimentare in Europa, è un organismo incaricato della valutazione del rischio e dell'elaborazione di pareri basati sulle informazioni scientifiche disponibili per fornire una solida base all'attività legislativa europea e dei singoli Stati membri nel campo della sicurezza alimentare. Il Regolamento (CE) N. 1924/2006 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 20 dicembre 2006 stabilisce regole che garantiscono l'uso di indicazioni nutrizionali e sulla salute presenti sulle etichette degli alimenti che abbiano fondatezza scientifica, allo scopo di tutelare il consumatore. L'esistenza di regole europee stabilite permette una tutela consapevole della salute del consumatore, in quanto non consente di riportare in etichetta effetti non veritieri. Infatti il Regolamento stabilisce che un'indicazione nutrizionale o salutistica non può essere falsa, ambigua o fuorviante, né generare nel consumatore dubbi sulla sicurezza o sull'adeguatezza nutrizionale di altri alimenti, o incoraggiare o tollerare un consumo eccessivo di un determinato alimento; tale indicazione non può affermare, suggerire o sottintendere che una dieta varia ed equilibrata non possa fornire quantità adeguate di tutte le sostanze nutritive, né fare riferimento a variazioni delle funzioni corporee che potrebbero suscitare o sfruttare timori nel consumatore.

Naturalmente, le indicazioni sulla salute (*health claims*) consentite devono essere corredate di tutte le condizioni necessarie per il loro impiego e devono includere anche eventuali restrizioni. Esistono anche delle restrizioni sull'impiego di alcune indicazioni sulla salute, comprese quelle che suggeriscono che la salute potrebbe essere compromessa dal mancato consumo dell'alimento, o che facciano riferimento a percentuale

o entità di perdita di peso o infine che riferiscano il parere di un singolo medico o associazione.

Il successivo Regolamento (UE) N. 432/2012 della Commissione Europea del 16 maggio 2012 ha definito un elenco di indicazioni sulla salute consentite e il registro europeo delle indicazioni nutrizionali e salutistiche (*EU Register of Nutrition and Health Claims*) sugli alimenti riporta tutte le indicazioni salutistiche autorizzate, le condizioni e le restrizioni d'uso, così come le indicazioni salutistiche non autorizzate e le ragioni per cui non sono applicabili. Esiste una procedura specifica (Regolamento 1924/2006) per richiedere l'autorizzazione di utilizzo di indicazione salutistica, che prevede la trasmissione della domanda alla competente autorità nazionale, la quale a sua volta informa l'EFSA; quest'ultima, per formulare il parere scientifico valuta se la richiesta per l'indicazione salutistica abbia fondamento scientifico e soddisfi tutti i criteri inclusi nel regolamento. Recentemente è stato pubblicato un documento guida che chiarisce quali sono i principi scientifici generali in base a cui l'EFSA valuta le richieste di *health claims* e indica quali sono gli elementi necessari per la compilazione delle richieste di approvazione [9].

## Necessità di valide linee guida, basate su evidenze, in nutraceutica

*Le più recenti linee guida per la diagnosi e la terapia di patologie specifiche frequentemente riportano, accanto alle terapie farmacologiche, anche l'uso di alcuni nutraceutici di comprovata efficacia e sicurezza. Un esempio sono gli acidi grassi omega-3 nel settore delle dislipidemie e delle patologie cardiovascolari.*

Così come vengono definite linee guida per la diagnosi e la terapia di patologie specifiche, sulla base delle evidenze scientifiche, allo stesso modo è opportuno che vengano definite linee guida anche per i nutraceutici, poste magari all'interno dei precedenti documenti. Ad esempio, le più recenti linee guida per il trattamento delle dislipidemie riportano una serie di trattamenti farmacologici disponibili per i vari target lipidici con comprovata efficacia terapeutica stabilita da numerosi studi clinici [10]. Tra le varie opzioni, vengono anche indicati gli acidi grassi omega-3 (acido eicosapentaenoico [EPA] e acido docosaesaenoico [DHA]), componenti dell'olio di pesce e utilizzati per la riduzione dei livelli plasmatici di trigliceridi, con indicazione dei vari studi clinici che hanno verificato l'effetto ipotrigliceridemizzante, e vengono definite la sicurezza di tali composti e le eventuali possibili interazioni con altri farmaci [10]. Allo stesso modo, viene indicata la possibilità di utilizzare integratori alimentari e *functional foods*, come ad esempio fitosteroli, proteine della soia, fibre alimentari, policosanoli e estratto di riso rosso fermentato, che hanno un'efficacia scientificamente provata nella modulazione dei livelli plasmatici di lipidi, e viene suggerito che possano essere utilizzati come alternativa o in aggiunta a farmaci ipolipidemizzanti [10].

## Aspetti controversi e prospettive future

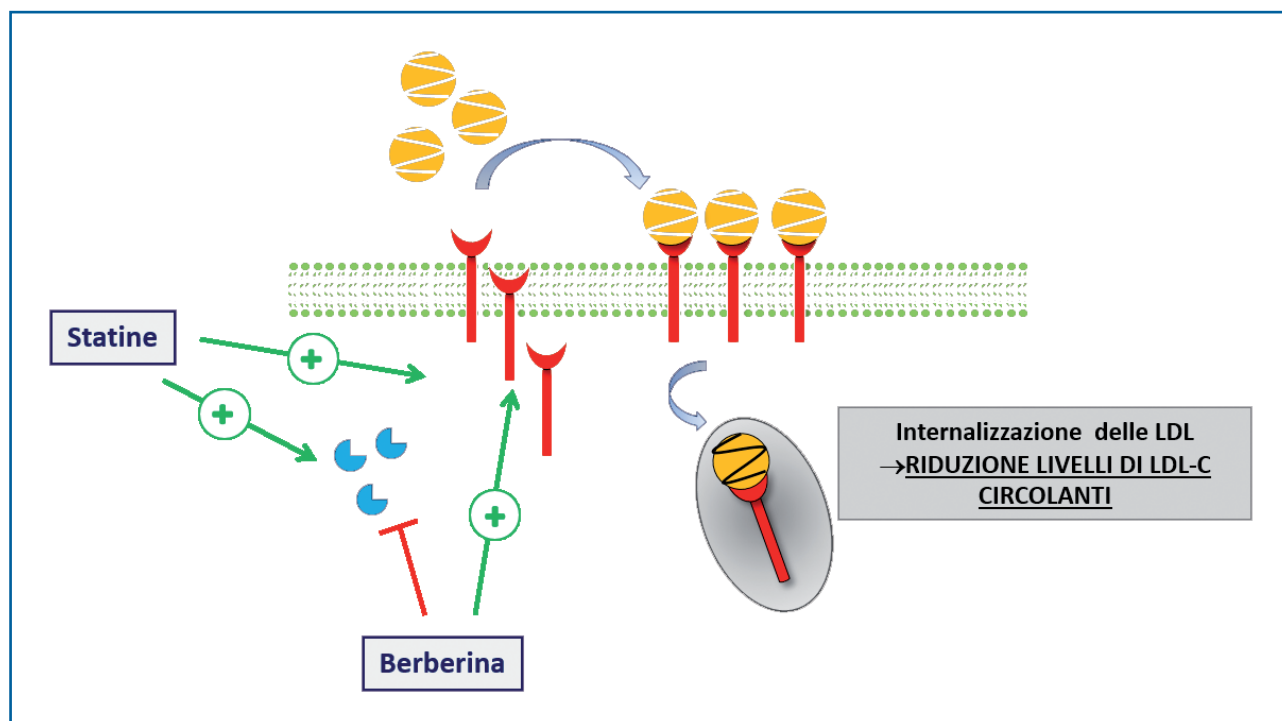
Così come la fase di sviluppo di un farmaco prima della sua approvazione prevede un lungo processo di studio con requisiti ben definiti, anche la successiva fase di utilizzo è sottoposta a una rigorosa farmacovigilanza (Fase 4, sorveglianza post-marketing), cioè a un processo che permette di valutare, una volta sul mercato, la sicurezza dei farmaci per poter determinare se il rapporto rischio/beneficio rimane favorevole per la popolazione. Questa fase può inoltre identificare reazioni avverse non evidenziate durante la fase di sperimentazione clinica (ad es., effetti avversi che richiedono anni per la loro comparsa) e quindi permette di valutare la sicurezza e l'efficacia a lungo termine. Inoltre, i farmaci vengono sottoposti a sperimentazioni cliniche a lungo termine che includono anche la valutazione della capacità del farmaco di ridurre i cosiddetti *hard end point*, ossia quegli eventi patologici ben definiti che possono essere misurati in modo oggettivo, come gli eventi cardiovascolari.

Poiché un nutraceutico viene proposto in quanto ha o dovrebbe avere effetti benefici sulla salute, è importante che venga gestito il più possibile come un farmaco, anche in termini di standard produttivi e di sorveglianza post-marketing. Infatti, la presenza sul mercato di un così elevato numero di prodotti definibili in vario modo "nutraceutici", che possono contenere composti di diversa origine o provenienti da Paesi dove mancano adeguati controlli di produzione, così come la possibilità di acquistare tali prodotti online, rende più complicato il controllo della qualità e, come conseguenza, della sicurezza di tali sostanze. Inoltre, la mancanza di obbligo di studi clinici che ne valutino efficacia e sicurezza prima dell'immissione sul mercato non permette di valutare l'eventuale tossicità di una esposizione a lungo termine. Proprio per ovviare

**Un aspetto da valutare in futuro mediante studi clinici adeguati è la possibilità di usare i nutraceutici in aggiunta ai farmaci (“add-on therapy”), per migliorarne efficacia e sicurezza, riducendone gli effetti avversi.**

a queste problematiche, sarebbe necessaria una qualche forma di “nutraceutico-vigilanza”, che consenta di verificare, secondo gli stessi parametri definiti per i farmaci, la sicurezza e gli eventuali effetti a lungo termine dell’assunzione di un determinato nutraceutico, in termini di riduzione degli eventi clinici maggiori e di incidenza di effetti avversi.

Infine, una nuova possibilità, non ancora completamente esplorata dagli studi clinici, è quella di associare il nutraceutico al farmaco come *add-on therapy*. Infatti, la maggior parte delle patologie ha origine multifattoriale e spesso non viene affrontata adeguatamente con un singolo farmaco, ma con una strategia terapeutica che prevede l’utilizzo di più farmaci che possano intervenire su diversi aspetti della patologia stessa. In quest’area si inserisce il concetto di associare farmaci e integratori alimentari ad azione nutraceutica ai fini di un migliore successo nel trattamento. La categoria di persone che può rientrare in questo discorso comprende soggetti che potrebbero assumere nutraceutici come *add-on* alla loro terapia, per esempio nel caso in cui non riescano, con il solo farmaco, a raggiungere l’obiettivo terapeutico [11] o in caso di intolleranza al farmaco. Quindi lo scopo del nutraceutico non è in questo caso quello di sostituire il farmaco, ma di integrare o migliorare l’effetto del farmaco stesso. E’ per esempio il caso della berberina o degli acidi grassi polinsaturi omega-3, che possono essere somministrati in aggiunta a terapie farmacologiche. Le statine riducono i livelli di colesterolo plasmatico anche attraverso l’aumento dell’espressione del recettore LDL (LDLR) epatico, ma aumentano anche l’espressione di *proprotein convertase subtilisin/kexin type 9* (PCSK9), che ne è un regolatore negativo. Ciò ha come effetto finale un’attività terapeutica della statina inferiore a quella attesa [12]. La berberina, un alcaloide ad azione nutraceutica, oltre ad aumentare l’espressione di LDLR, riduce anche quella di PCSK9 [13]. Per questo, la berberina, se combinata con una statina, potrebbe bilanciarne l’effetto su PCSK9 [14], portando così ad un’aumentata attività farmacologica [15] e/o a minori effetti avversi del farmaco [16] (Figura 1).



**Figura 1** Effetto ipocolesterolemizzante della combinazione berberina+statina.

In presenza di PCSK9, LDLR viene degradato all'interno dell'epatocita, provocando l'aumento dei livelli circolanti di colesterolo LDL. Le statine, inibendo la sintesi del colesterolo endogeno, provocano un aumento dell'espressione del recettore delle LDL (LDLR), ma contemporaneamente inducono anche l'espressione di PCSK9, riducendo così il loro potenziale farmacologico. Analogamente, berberina aumenta l'espressione di LDLR ma, al contrario, inibisce l'espressione di PCSK9. La combinazione berberina-statina può quindi avere come effetto finale una maggiore riduzione di colesterolo LDL. LDLR, recettore LDL; PCSK9, proproteina convertasi subtilisina/kexina tipo 9.



Gli acidi grassi omega-3 hanno effetti positivi su diversi fattori di rischio cardiovascolare, inclusi i livelli plasmatici di trigliceridi, i mediatori dell'infiammazione e la pressione arteriosa [17-19]. Considerando i risultati ottenuti in numerosi studi clinici, l'EFSA ha approvato alcune indicazioni salutistiche consentite relative agli omega-3 (Regolamento (UE) n. 432/2012 della Commissione del 16 maggio 2012; Regolamento UE n. 536/2013 della Commissione dell'11 giugno 2013). Fra queste *Opinions* vi sono anche le seguenti:

- a) "EPA e DHA contribuiscono alla normale funzione cardiaca" [20];
- b) "DHA e EPA contribuiscono al mantenimento di livelli normali di trigliceridi nel sangue" [20];
- c) "DHA ed EPA contribuiscono al mantenimento di una normale pressione sanguigna" [21].

Tutte le indicazioni consentite devono essere accompagnate da informazioni relative alle dosi necessarie per ottenere l'effetto riportato. Spesso gli acidi grassi omega-3 vengono somministrati in combinazione con altri farmaci come *add-on therapy* e questo richiede studi clinici disegnati *ad hoc* che verifichino l'assenza di importanti interazioni nutraceutico-farmaco e valutino la reale efficacia di questa possibile combinazione in termini di riduzione degli eventi cardiovascolari.

## Conclusioni

La disponibilità di studi clinici ben disegnati e ben condotti, nonché registrati, anche in ambito nutraceutico rappresenta ormai un aspetto importante ai fini sia della validazione dei singoli prodotti, sia in generale della promozione della qualità globale in questo ambito. Questo approccio richiederà un nuovo e notevole sforzo economico e organizzativo da parte delle aziende e dei ricercatori e probabilmente potrà anche richiedere nuove norme in ambito regolatorio. Tutto ciò rappresenta senz'altro un valore per tutti i protagonisti della nutraceutica: la persona con richiesta di salute in senso lato, i professionisti sanitari (farmacista, medico di medicina generale, medico specialista), aziende produttrici e autorità regolatorie.

## Bibliografia

- [1] Ruscica M, Gomaschi M, Mombelli G et al. Nutraceutical approach to moderate cardiometabolic risk: results of a randomized, double-blind and crossover study with Armolipid Plus. *J Clin Lipidol.* 2014; 8: 61-68.
- [2] Hazim S, Curtis PJ, Schar MY, et al. Acute benefits of the microbial-derived isoflavone metabolite equol on arterial stiffness in men prospectively recruited according to equol producer phenotype: a double-blind randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2016; 103: 694-702.
- [3] Johnson M, Hassinger L, Davis J et al. A randomized, double blind, placebo controlled study of spirulina supplementation on indices of mental and physical fatigue in men. *Int J Food Sci Nutr.* 2016; 67: 203-206.
- [4] Majeed M, Nagabhushanam K, Natarajan S et al. *Bacillus coagulans* MTCC 5856 supplementation in the management of diarrhea predominant Irritable Bowel Syndrome: a double blind randomized placebo controlled pilot clinical study. *Nutr. J* 2016; 15: 21.
- [5] Taghizadeh M, Jamilian M, Mazloomi M et al. A randomized-controlled clinical trial investigating the effect of omega-3 fatty acids and vitamin E co-supplementation on markers of insulin metabolism and lipid profiles in gestational diabetes. *J Clin Lipidol.* 2016; 10: 386-93.
- [6] Chen C, Yu S, Shao S. Effects of Omega-3 Fatty Acid Supplementation on Glucose Control and Lipid Levels in Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015; 10: e0139565.
- [7] Fekete AA, Givens DI, Lovegrove JA. Casein-derived lactotripeptides reduce systolic and diastolic blood pressure in a meta-analysis of randomised clinical trials. *Nutrients.* 2015; 7: 659-81.
- [8] Pirro M, Mannarino MR, Bianconi V et al. The effects of a nutraceutical combination on plasma lipids and glucose: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacol Res.* 2016; 110: 76-88.
- [9] General scientific guidance for stakeholders on health claim applications. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. *EFSA Journal.* 2016; 14: 4367.
- [10] Catapano AL, Graham I, De Backer G et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias: The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J.* 2016.
- [11] Eussen SR, Verhagen H, Klungel OH et al. Functional foods and dietary supplements: products at the interface between pharma and nutrition. *Eur J Pharmacol.* 2011; 668 (Suppl. 1): S2-9.
- [12] Sahebkar A, Simental-Mendia LE, Guerrero-Romero F et al. Effect of statin therapy on plasma PCSK9 concentrations: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Diabetes Obes Metab* 2015;
- [13] Cameron J, Ranheim T, Kulseth MA et al. Berberine decreases PCSK9 expression in HepG2 cells. *Atherosclerosis.* 2008; 201: 266-273.
- [14] Li H, Dong B, Park SW et al. Hepatocyte nuclear factor 1alpha plays a critical role in PCSK9 gene transcription and regulation by the natural hypocholesterolemic compound berberine. *J Biol Chem.* 2009; 284: 28885-95.
- [15] Kong WJ, Wei J, Zuo ZY et al. Combination of simvastatin with berberine improves the lipid-lowering efficacy. *Metabolism* 2008; 57: 1029-37.
- [16] Pirillo A, Catapano AL. Statin intolerance: diagnosis and remedies. *Curr Cardiol Rep.* 2015; 17: 27.
- [17] Sanders TA. Plant compared with marine n-3 fatty acid effects on cardiovascular risk factors and outcomes: what is the verdict? *Am J Clin Nutr.* 2014; 100: 453S-458S.

- [18] Pirillo A, Catapano AL. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of atherogenic dyslipidemia. *Atheroscler*. 2013; 14: (Suppl.) 237-42.
- [19] Pirillo A, Catapano AL. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of hypertriglyceridaemia. *Int J Cardiol*. 2013; 170: S16-20.
- [20] Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), docosapentaenoic acid (DPA) and maintenance of normal cardiac function (ID 504, 506, 516, 527, 538, 703, 1128, 1317, 1324, 1325), maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 566), maintenance of normal blood pressure (ID 506, 516, 703, 1317, 1324), maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 506), maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 506, 527, 538, 1317, 1324, 1325), maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 527, 538, 1317, 1325, 4689), protection of the skin from photo-oxidative (UV-induced) damage (ID 530), improved absorption of EPA and DHA (ID 522, 523), contribution to the normal function of the immune system by decreasing the levels of eicosanoids, arachidonic acid-derived mediators and pro-inflammatory cytokines (ID 520, 2914), and "immunomodulating agent" (4690) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*. 2010; 8: 1796.
- [21] Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to EPA, DHA, DPA and maintenance of normal blood pressure (ID 502), maintenance of normal HDL-cholesterol concentrations (ID 515), maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 517), maintenance of normal LDL-cholesterol concentrations (ID 528, 698) and maintenance of joints (ID 503, 505, 507, 511, 518, 524, 526, 535, 537) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 2009; 7: 1263