

Effetto del *Lactobacillus paracasei* I1688 e del *Lactobacillus salivarius* I1794 (psmix®) sui lipidi ematici nell'ipercolesterolemia lieve

Effect of mixture 12:1 *Lactobacillus paracasei* I1688 and of *Lactobacillus salivarius* I1794 (psmix®) on lipids in mild hypercholesterolemia

Summary

The purpose of this study was to test the effect on hypercholesterolemia after the assumption of PSmix (Fiorilac® PS) in patient with mild hypercholesterolemia. The study population was aged between 35 and 65 years, affected by mild hypercholesterolemia (200-250 mg/dL) and never treated. Exclusion criteria were familial hypercholesterolemia, diabetes, ischemic heart disease, heart failure, previous stroke, high consumption of alcohol and/or concomitant treatment with diuretics and/or thyroid hormones. Thirty-eight patients were recruited into the study. After two weeks pre-treatment, patients fulfilling the inclusion criteria were instructed to assume daily PSmix for 12 weeks. The dietary habits of the patients were monitored using a questionnaire, but not modified by physicians; they also reported the use of drugs. After two weeks pre-treatment and after twelve weeks active treatment were evaluated plasma levels of total cholesterol (TC), HDL cholesterol (HDL-C) and triglycerides (Tg). LDL cholesterol (LDL-C) was calculated using the Friedewald formula. This study suggests that oral administration of PSmix is effective in improving lipid parameters in patients with mild hypercholesterolemia. It induces a modest but significant reduction in TC (8,6%, -18.4 mg/dl; <0.01) and LDL-C (10.9%, -15.4 mg/dl; <0.01). The increase of HDL was not significant, however this trend contributed to significantly improve the LDL/HDL (11,3%, $p < 0,01$), which went from 2:56 to 2:24 at baseline to end of treatment. No significant change in Tg was reported. In conclusion, this study demonstrates that oral administration of PSmix can play a positive effect on cholesterolemia and plasma LDL, which are lowered significantly in subjects with mild hypercholesterolemia, thus avoiding side effects of drugs.

Fogari R, Mugellini A, Santoro T, et al. Effect of mixture 12:1 *Lactobacillus paracasei* I1688 and of *Lactobacillus salivarius* I1794 (psmix®) on lipids in mild hypercholesterolemia. *Trends Med* 2010; 10(2):107-111.

©2010 Pharma Project Group srl. ISSN: 1594-2848

Roberto Fogari, Amedeo Mugellini, Tara Santoro, Ilaria Ferrari, Giuseppe Derosa

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica,
Università degli Studi di Pavia

Key words:

PSmix
hypercholesterolemia
probiotics
LDL
Lactobacilli

✉ **Roberto Fogari**

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica
Sezione di Medicina Interna, Malattie Vascolari e Metaboliche
Clinica Medica II
Università degli Studi di Pavia
Piazzale Golgi, 2
27100 Pavia

I lattobacilli sono normali componenti della flora intestinale umana che si ritiene svolgano numerosi effetti benefici a carico della funzione intestinale e del metabolismo lipidico. Per questi motivi vi è un notevole interesse nello sviluppo di prodotti contenenti questi batteri, sia somministrati da soli che aggiunti ad altri nutrienti¹⁻³.

Uno degli effetti positivi che conseguirebbe all'assunzione di lattobacilli è la riduzione della colesterolemia, come documentato da numerosi studi eseguiti sia nell'animale che nell'uomo⁴.

L'effetto ipocolesterolemizzante dei lattobacilli consegue alla loro capacità di indurre la deconiugazione enzimatica degli acidi biliari, in quanto molte specie di lattobacilli contengono l'enzima in grado di idrolizzare i sali biliari⁵⁻⁸. La deconiugazione dei sali biliari comporta due conseguenze: da un lato viene drasticamente ridotta la loro capacità di solubilizzare i li-

pidi nel lume intestinale e quindi ne viene ridotto l'assorbimento, dall'altro i sali biliari deconiugati sono di per sé stessi meno solubili e quindi, invece di venire riassorbiti dall'intestino vengono escreti in grande quantità con le feci^{9,10}. La riduzione della colesterolemia conseguirebbe quindi da un lato dalla maggior necessità di colesterolo per la sintesi *de novo* di acidi biliari al fine di rimpiazzare quelli persi con le feci, dall'altro al minor assorbimento intestinale di colesterolo per la sua ridotta solubilità. Perché abbia luogo questo effetto probiotico dei lattobacilli somministrati per via orale, è necessario che essi siano in grado di sopravvivere al passaggio attraverso il succo gastrico e non tutti sono in grado di superare tale barriera⁴.

Il *L. paracasei* I 1688 e il *L. salivarius* I 1794 sono due normali saprofiti della microflora intestinale e vantano una elevata capacità di adesione e permanenza nell'intestino umano. E' stato anche dimostrato che sono in grado di giungere all'intestino vivi e vitali dopo somministrazione orale¹¹. Questi microrganismi, isolati, brevettati e depositati presso l'Institut Pasteur di Parigi, sono stati associati in una formulazione, utilizzabile in bustine, nel rapporto 12:1 (PSmix). Non è stato però fino ad ora studiato l'eventuale effetto della loro somministrazione orale sulla colesterolemia. Il presente studio è stato condotto per valutare l'effetto ipocolesterolemizzante della somministrazione orale di PSmix in pazienti affetti da ipercolesterolemia di grado lieve.

Pazienti e metodi

La popolazione dello studio è stata selezionata in funzione dei seguenti criteri di inclusione: pazienti ambulatoriali di entrambi i sessi, di età compresa tra 35 e 65 anni, affetti da ipercolesterolemia lieve (200-250 mg/dL) e mai trattati con farmaci antidislipidemi. Sono stati esclusi dallo studio i soggetti con ipercolesterolemia familiare, diabete, cardiopatia ischemica, scompenso cardiaco, pregresso stroke, nonché i soggetti che riferivano elevato consumo di alcool e quelli in trattamento con diuretici e/o ormoni tiroidei. Il protocollo dello studio è stato approvato dal Comitato Etico locale e ad ogni paziente è stato chiesto di firmare il consenso informato al momento dell'arruolamento.

Dopo un periodo di due settimane di pretrattamento durante il quale i pazienti furono mante-

nuti con le loro normali abitudini di vita, comprese quelle dietetiche, i pazienti rispondenti ai criteri di inclusione furono istruiti ad assumere una bustina al dì di una preparazione commerciale contenente PSmix (Fiorilac® PS) per 12 settimane. Una bustina del prodotto, oltre a PSmix (0,1-10x10⁹ UFC) contiene anche vitamine del gruppo B.

Nessuna indicazione dietetica fu prescritta per tutta la durata dello studio. Tuttavia le abitudini alimentari dei pazienti furono monitorate usando un questionario che ai pazienti fu richiesto di compilare durante il periodo di studio e che si riferiva anche all'eventuale consumo di altri farmaci. Alla fine delle due settimane di pretrattamento e delle dodici di trattamento attivo vennero valutati i livelli plasmatici di colesterolo totale, colesterolo HDL e trigliceridi. Il prelievo di sangue venoso venne sempre effettuato al mattino a digiuno da almeno 12 ore tra le 8 e le 9. Il colesterolo totale, l'HDL, i trigliceridi furono determinati per mezzo di un analizzatore automatico 7450 (Hitachi Co.). Il colesterolo LDL fu calcolato con la formula di Friedewald. Sono stati valutati gli effetti collaterali spontaneamente riportati dai pazienti e la compliance è stata valutata contando le bustine rimaste.

Analisi statistica

La dimensione del campione è stata calcolata sulla variabile principale (colesterolemia totale) e corrisponde a 36 pazienti valutabili per un valore α 0,05 e β 0,80. Calcolando un drop-out pari al 10% sono stati arruolati 40 pazienti. I dati sono espressi come media \pm DS. E' stato utilizzato il *t* di Student per dati appaiati per tutte le variabili obiettivo. Le differenze osservate sono state considerate significative se $p < 0.05$.

Risultati

Sono stati valutati 41 pazienti di cui 38 sono stati reclutati nello studio. Tre pazienti sono stati esclusi in quanto avevano valore di colesterolemia < 200 mg/dL in due casi e superiori a 250 mg/dL in un caso. Le principali caratteristiche cliniche e demografiche dei 38 pazienti arruolati sono riportate nella tabella 1. Tutti i pazienti arruolati hanno completato le 12 settimane dello studio con una compliance al trattamento del 98,8%.

I principali risultati ottenuti sono esposti nella tabella 2. Il colesterolo totale ha presentato una riduzione media di 18,9 mg/dL (8,6%) che si è

Tabella 1. Caratteristiche demografiche e parametri clinici all'inclusione.

N°	38
M/F	19/19
Età (anni)	53.8 ± 7.7
Altezza (cm)	168.9 ± 7.6
Peso (Kg)	68.4 ± 7.5
BMI (Kg/m ²)	24.0 ± 1.9
Glicemia (mg/dL)	100.4 ± 7.6
Colesterolo totale (mg/dL)	220.7 ± 12.1
Colesterolo LDL (mg/dL)	140.8 ± 15.2
Colesterolo HDL (mg/dL)	55.0 ± 9.6
Trigliceridi (mg/dL)	107.2 ± 28.2

dimostrata essere altamente significativa ($p < 0,01$). L'analisi individuale ha permesso di evidenziare che il colesterolo totale si è ridotto in 30/38 pazienti studiati e che in 21 di essi la riduzione è stata superiore al 5%, che rappresenta il limite massimo di variabilità accettabile relativamente al metodo di laboratorio da noi usato. Il colesterolo LDL si è ridotto di 15,4 mg/dl (10,9%) ed anche questa riduzione è risultata altamente significativa ($p < 0,01$). L'HDL-colesterolo al contrario, pur mostrando un trend al miglioramento (aumento di 1 mg/dl pari all'1,8%) non si è modificato in maniera statisticamente significativa. Tale trend ha comunque contribuito al notevole

miglioramento del rapporto LDL/HDL che è diminuito dell'11,3% ($p < 0,01$). Non si sono osservate modificazioni del livello dei trigliceridi e del peso corporeo. Nessuno paziente ha riferito cambiamenti nella dieta, nel consumo di alcool o nell'attività fisica durante tutto il periodo dello studio.

Il prodotto è stato ben tollerato; solo 4 (11%) pazienti hanno lamentato effetti collaterali (tabella 3), comunque transitori e di entità non tale da richiedere né la sospensione né l'interruzione del trattamento.

Discussione

I risultati ottenuti nel presente studio indicano che la somministrazione orale di PSmix è efficace nel migliorare il quadro lipidico in pazienti affetti da ipercolesterolemia lieve, in quanto induce una modesta ma significativa riduzione del colesterolo totale e del colesterolo LDL, nonché un significativo miglioramento del rapporto LDL/HDL, passato da 2.56 al basale a 2.24 al termine del trattamento.

Questi risultati concordano con quanto osservato con altri probiotici in pressoché tutti gli studi effettuati su animali da esperimento ed in alcuni studi sull'uomo. Per quanto riguarda i primi, riduzioni significative del colesterolo totale sono state osservate con *L. acidophilus*⁹, *L. reuteri*¹², *L. casei*¹³ e *Bifidobacterium longum*¹⁴.

Tabella 2. Parametri considerati dopo la terapia con PSmix.

	Basale	Trattamento	p
Peso (Kg)	68.4 ± 7.5	68.5 ± 7.3	ns
Colesterolo totale (mg/dl)	220.7 ± 12.1	201.8 ± 21.1	< 0.01
Colesterolo LDL (mg/dl)	140.8 ± 15.2	125.4 ± 23.0	< 0.01
LDL/HDL	2.56 ± 0.64	2.24 ± 0.72	< 0.01
Colesterolo HDL (mg/dl)	55.0 ± 9.6	56.0 ± 9.9	ns
Trigliceridi (mg/dl)	107.2 ± 28.2	105.3 ± 20.5	ns

Tabella 3. Effetti collaterali verificatisi durante lo studio.

Pz	Evento avverso	Durata	Provvedimento	Esito
1	Stipsi	5 giorni	nessuno	risolto spontaneamente
2	Stipsi; Flatulenza	7 giorni	nessuno	risolto spontaneamente
3	Spasmi addominali (intestinali)	10 giorni	nessuno	risolto spontaneamente
4	Stipsi	8 giorni	nessuno	risolto spontaneamente

Per quanto riguarda gli studi sull'uomo i risultati non sempre sono stati univoci. Riduzioni significative del colesterolo totale ed LDL sono state osservate con *Enterococcus faecium* e *S. thermophilus*¹⁵⁻¹⁷ mentre il *Lactobacillus acidophilus* si sarebbe dimostrato privo di ogni effetto¹⁸. Il *Bifidobacterium longum* avrebbe dimostrato una qualche efficacia ma solo nei soggetti con ipercolesterolemia¹⁴.

Poiché fino ad ora non era disponibile alcun dato relativo al PSmix, abbiamo condotto il presente studio pilota in soggetti affetti da ipercolesterolemia lieve, registrando una riduzione dell'8,6 % del colesterolo totale e del 10,9% del LDL. L'HDL, sebbene abbia mostrato un trend all'aumento non si è modificato in maniera significativa, tuttavia tale trend ha comunque contribuito a migliorare in maniera significativa il rapporto LDL/HDL. Non abbiamo spiegazioni ovvie per interpretare questi risultati. Possiamo comunque escludere l'influenza di cambiamenti personali dello stile di vita, in quanto ogni soggetto era stato ripetutamente informato circa la necessità di conservare le ordinarie abitu-

dini di vita, senza introdurre in particolare alcun tipo di restrizione alimentare né alcun incremento dell'attività fisica per tutta la durata dello studio.

Per quanto riguarda i possibili meccanismi responsabili dell'effetto osservato le concomitanti modifiche del colesterolo totale e di quello LDL suggeriscono che sia verosimilmente la deconiugazione dei sali biliari il meccanismo principale, con conseguente maggiore escrezione di colesterolo, mentre probabilmente un ruolo meno importante è giocato dalla minor sintesi epatica.

In conclusione, il presente studio indica che la somministrazione orale di PSmix è in grado di svolgere un effetto positivo sui livelli ematici di colesterolo totale ed LDL, che vengono abbassati in maniera significativa nei soggetti con ipercolesterolemia lieve. Ciò potrebbe evitare in questi pazienti l'uso di farmaci ipocolesterolemizzanti oppure potrebbe coadiuvarne la loro azione permettendone l'uso a bassi dosaggi ed evitando così molte delle problematiche legate agli effetti collaterali di questi farmaci. **ITM**

Bibliografia

1. Young J. European market developments in prebiotic- and probiotic-containing foodstuffs. *Br J Nutr.* 1998; 80:S231-S233.
2. Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr* 1999; 39:13-126.
3. Sanders TA. Food production and food safety. *BMJ* 1999; 318:1689-1693.
4. Pereira DI, Gibson GR. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2002; 37:259-281.
5. Tahri K, Grill JP, Schneider F. Involvement of trihydroxyconjugated bile salts in cholesterol assimilation by bifidobacteria. *Curr Microbiol.* 1997; 34(2): 79-84
6. Usman, Hosono A. Bile tolerance, taurocholate deconjugation, and binding of cholesterol by *Lactobacillus gasseri* strains. *J Dairy Sci* 1999; 82:243-248.
7. De Smet I, De Boever P, Verstraete W. Cholesterol lowering in pigs through enhanced bacterial bile salt hydrolase activity. *Br J Nutr* 1998; 79:185-194.
8. du Toit M, Franz CM, Dicks LM, et al. Characterisation and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. *Int J Food Microbiol* 1998; 40:93-104.
9. De Rodas BZ, Gilliland SE, Maxwell CV. Hypocholesterolemic action of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 and calcium in swine with hypercholesterolemia induced by diet. *J Dairy Sci* 1996; 79:2121-2128.
10. Usman, Hosono A. Effect of administration of *Lactobacillus gasseri* on serum lipids and fecal steroids in hypercholesterolemic rats. *J Dairy Sci* 2000; 83:1705-1711.
11. Bonetti A. Assessment of the Persistence in the Human Intestinal Tract of Two Probiotic Lactobacilli *Lactobacillus salivarius* I 1794 and *Lactobacillus paracasei* I 1688 *Microbial Ecology in Health and Disease* 2002; 14:229-233.
12. Taranto MP, Medici M, Perdigon G, et al. Effect of *Lactobacillus reuteri* on the prevention of hypercholesterolemia in mice. *J Dairy Sci* 2000; 83:401-403.
13. Brashears MM, Gilliland SE, Buck LM. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus casei*. *J Dairy Sci* 1998; 81:2103-2110.
14. Xiao JZ, Kondo S, Takahashi N, et al. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volun-

- teers. *J Dairy Sci* 2003; 86:2452-2461.
15. **Agerbaek M, Gerdes LU, Richelsen B.** Hypocholesterolaemic effect of a new fermented milk product in healthy middle-aged men. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49:346-352.
 16. **Richelsen B, Kristensen K, Pedersen SB.** Long-term (6 months) effect of a new fermented milk product on the level of plasma lipoproteins—a placebo-controlled and double blind study. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50:811-815.
 17. **Kawase M, Hashimoto H, Hosoda M, et al.** Effect administration of fermented milk with *Streptococcus thermophilus* TMC 1543 on serum lipid levels induced by a high-cholesterol diet in adult subjects. *Milchwissenschaft* 2001; 56:496-499.
 18. **De Roos NM, Schouten G, Katan MB.** Yoghurt enriched with *Lactobacillus acidophilus* does not lower blood lipids in healthy men and women with normal to borderline high serum cholesterol levels. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53:277-280.

RESTOR *FAST*TM

INTEGRATORE ALIMENTARE

a base di Calcio, Magnesio, Vitamina D₃,
L-carnitina e L-leucina

*Favorisce il trofismo delle ossa
ed il metabolismo energetico del muscolo*

RIABYLEXTM

INTEGRATORE ALIMENTARE

a base di Creatina, Propionil-L-carnitina,
Coenzima Q₁₀, Riboflavina, Nicotinamide
e Acido pantotenico

*Favorisce la produzione di energia
ed il recupero del tono muscolare*