

SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELL'ARTERIOSCLEROSI (SISA)

XV Convegno Regionale Sezione Triveneto

Verona, sabato 19 maggio 2015

COMUNICAZIONI ORALI GIOVANI RICERCATORI**Aterosclerosi e trombosi:
come intervenire?***Abstracts selezionati dalla Commissione Scientifica***EFFETTI DELLA DIETA RICCA
IN POMODORO SULLA FUNZIONE
ENDOTELIALE DOPO PASTO GRASSO
IN VOLONTARI SANI:
STUDIO CROSS OVER SINGOLO CIECO**

A. Dalbeni, G. Scaturro, F. Dalle Vedove, G. Cavallon,
M. Degan, D. Treggiari, P. Minuz, C. Fava
*Dipartimento di Medicina, Sezione di Medicina Interna C,
Università degli Studi di Verona, Verona*

Il consumo di pomodoro è stato associato negli studi epidemiologici ad una riduzione del rischio cardiovascolare. Esso contiene numerosi composti biologicamente attivi e potenzialmente salutari quali vitamina C e licopene. Alcuni studi hanno esplorato l'effetto in acuto ed in cronico del consumo di pomodoro sulla funzione vascolare con risultati contrastanti. Scopo della tesi era valutare l'effetto sulla funzione vascolare della salsa di pomodoro (80 gr al giorno per sette giorni) confrontata con una dieta priva di pomodoro in volontari sani prima e dopo il consumo di un pasto ricco di grassi accompagnato o meno da ulteriori 80 gr di salsa di pomodoro. Lo studio presenta un disegno a cross-over con un periodo di wash out di almeno 4 settimane tra le due fasi. I test vascolari a cui abbiamo sottoposto i pazienti sono stati:

- 1) la funzione endoteliale mediata da flusso (FMD) mediante metodica ecografica;
- 2) lo "stiffness index (SI) ed il reflection index (RI) mediante tecnica fortoplestismografica;
- 3) la distensibilità e la compliance carotidiche mediante un sistema ecografico. Abbiamo incluso 17 maschi sani di età compresa tra 21 e 32 anni.

Tutte le misure vascolari effettuate al basale nella prima giornata di studio non sono risultate significativamente diverse nei soggetti a seconda che avessero assunto o meno il pomodoro nella settimana precedente. Dopo il pasto grasso invece tutti i soggetti indipendentemente dall'assunzione o meno del pomodoro hanno mostrato una riduzione del RI ($61,95 \pm 9,18\%$

rispetto a $73,45 \pm 10,05\%$ nei soggetti che avevano assunto il pomodoro; $64,83 \pm 9,70\%$ rispetto a $70,73 \pm 10,19\%$ nei soggetti che non avevano assunto pomodoro; $P < 0,001$), indice di relativa vasodilatazione. Inoltre, solo i soggetti che avevano assunto pomodoro hanno mostrato rispetto al basale un incremento del diametro dell'arteria brachiale ($4,25 \pm 0,45$ mm rispetto a $4,08 \pm 0,39$ mm, $P < 0,05$), una riduzione della pressione diastolica ($69,79 \pm 7,28$ mmHg rispetto a $73,07 \pm 6,63$ mmHg, $P < 0,05$) ed un incremento della frequenza cardiaca ($65,21 \pm 8,41$ bpm rispetto a $61,68 \pm 9,73$ bpm, $P < 0,05$) 120 minuti dopo il pasto. Invece, i soggetti che non avevano assunto pomodoro hanno mostrato un incremento significativo dello SI 210 minuti dopo il pasto rispetto al basale ($6,98 \pm 1,24$ m/sec rispetto a $6,58 \pm 1,31$ m/sec, $P < 0,05$). Non abbiamo osservato modificazioni significative della FMD in tutti i punti dello studio. I nostri dati sono compatibili con un effetto del pomodoro in acuto, in aggiunta al pasto grasso, nel modificare alcuni indici emodinamici e in particolare di rigidità arteriosa.

**LA VARIABILITÀ GENETICA COMUNE DEI
LOCI IRS1, ENPP1 E TRIB3 È ASSOCIATA
A TRATTI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE
E FENOTIPI METABOLICI IN SOGGETTI
AFFETTI DA DIABETE MELLITO TIPO 2
NEL VERONA NEWLY DIAGNOSED TYPE 2
DIABETES STUDY (VNDS)**

M. Dauriz¹, M. Trombetta¹, S. Bonetti¹, D. Travia¹,
L. Boselli¹, L. Santi¹, E. Bonora¹, R.C. Bonadonna²
¹*Divisione di Endocrinologia, Diabete e Metabolismo,
Dipartimento di Medicina, Università e AOUI di Verona;*
²*Divisione di Endocrinologia, Dipartimento di Medicina
Clinica e Sperimentale, Università e AOU di Parma*

Premesse e Scopo. L'insulino-resistenza (IR) è una caratteristica peculiare del diabete tipo 2 (DMT2), è coinvolta nella fisiopatologia delle malattie cardiovascolari (CVD) e spesso

si accompagna ad una compromessa funzione beta-cellulare (BF). In questo contesto, è possibile che la variabilità genetica comune di alcuni geni coinvolti nella cascata del segnale insulinico possa spiegare, almeno in parte, la relazione esistente tra DMT2, CVD e BF. In questo studio abbiamo pertanto cercato di verificare se la variabilità genetica comune dei loci *IRS1*, *ENPP1* e *TRIB3* è associata a tratti di rischio cardiovascolare e fenotipi metabolici in soggetti affetti da DMT2 arruolati nel Verona Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Study (VNDS).

Metodi e Risultati. In 597 soggetti con DMT2 neodiagnosticato, privi di trattamento farmacologico e con negatività degli anticorpi anti-GAD sono stati effettuati:

- 1) genotipizzazione di 10 polimorfismi indipendenti e selezionati per catturare il 90% della variabilità genetica comune dei loci *IRS1*, *ENPP1* e *TRIB3*, noti quali principali regolatori della cascata del segnale insulinico;
- 2) eco-Doppler carotideo;
- 3) ECG standard (n=450);
- 4) clamp euglicemico iperinsulinemico, gold-standard per la determinazione della sensibilità insulinica;
- 5) stima della BF con modello matematico nelle sue componenti derivativa e proporzionale.

Dopo correzione per età, sesso e abitudine tabagica i polimorfismi rs4675095-T (*IRS1*) and rs4897549-A (*ENPP1*) sono risultati significativamente associati a più severa aterosclerosi carotidea, mentre rs7265169-A (*TRIB3*) era associato ad anomalie ischemiche dell'ECG. Dopo correzione per età, sesso e indice di massa corporea rs6939185-G e rs858340-G (*ENPP1*) erano significativamente associati a maggiore IR; rs6939185-G (*ENPP1*), rs6139007-A e rs7265169-C (*TRIB3*) a peggiore controllo derivativo della BF; rs6139007-A e rs6076472-G (*TRIB3*) a migliore controllo proporzionale della BF.

Conclusioni. La variabilità genetica comune dei principali geni regolatori della cascata del segnale insulinico potrebbe spiegare, almeno in parte, l'associazione tra IR e CVD o alterata BF nel DMT2. I nostri risultati inoltre suggeriscono che il rischio genetico verosimilmente agisce ben prima che il fenotipo clinico dell'iperglicemia si manifesti ed esercita i propri effetti sul fenotipo cardio-metabolico sin dalle fasi più precoci della malattia diabetica.

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01526720.

RIGIDITÀ ARTERIOSA COME PREDITTORE DI OUTCOME CLINICO IN PAZIENTI ANZIANI CON SCOMPENSO CARDIACO DIASTOLICO

E. Disegna, A. Ghirelli, F. Fantin, G. Comellato, G. Manzato, M. Zamboni
Dipartimento di Medicina, Sezione di Geriatria,
Università degli Studi di Verona

È noto che lo scompenso cardiaco, soprattutto diastolico, è strettamente correlato alla rigidità arteriosa.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare il ruolo predittivo di 2 indici di rigidità arteriosa, quali la PWVcf e cr, in 25 soggetti con scompenso cardiaco diastolico, di età compresa tra 73 e 95 anni, sull'andamento clinico dello scompenso cardiaco diastolico e di valutare le modifiche dei valori di PWVcf e cr dal momento del ricovero, alla sua stabilizzazione e alla

dimissione dopo trattamento farmacologico dello scompenso cardiaco diastolico.

In tutti i soggetti sono state valutate variabili metaboliche (glicemia, colesterolo totale, LDL, HDL, trigliceridi), peso corporeo, pressione arteriosa (PAS, PAD, PAM, PP) andamento clinico e comorbidità presenti in anamnesi al momento del ricovero. Tutti i soggetti sono stati sottoposti a tonometria arteriosa transcutanea per la rilevazione di diverse variabili emodinamiche (AP, AI, PWVcr, PWVcf) e ad ecocardiografia Doppler transtoracica per la rilevazione di alcuni parametri ecocardiografici, tra cui la FE.

La PWVcf si è ridotta in modo statisticamente significativo dopo trattamento per scompenso cardiaco, anche dopo aggiustamento per variazione di PD durante il ricovero. In un modello di regressione logistica stepwise la comorbidità è emersa come unico predittore significativo del numero di giorni di degenza spiegandone circa il 24% della varianza.

In un modello di regressione logistica binaria la PWVcf è risultata predittore unico di outcome clinico negativo, considerato come un passaggio alla terapia diuretica per os superiore a 5 giorni dall'inizio del ricovero, con un OR pari a 1,46 (IC=1,01-2,06, p=0,04).

I risultati di questo studio suggeriscono l'utilizzo della PWVcf come predittore di outcome clinico in pazienti con scompenso cardiaco diastolico.

INFILTRAZIONE LIPIDICA MIOCARDICA IN PAZIENTI CON E SENZA CORONAROPATIA

G. Franceschetti, G. Mazzali, E. Zoico, S. Faccioli, M. Pedrotti, V. Rizzatti, M. Zamboni
Dipartimento di Medicina, Sezione di Geriatria,
Università degli Studi di Verona

Background. L'accumulo di grasso a livello miocardico può avvenire sotto forma di tessuto adiposo epicardico o nel miocardio sotto forma di goccioline lipidiche, dette lipid droplets (LD). Lo scopo è stato quello di confrontare il grado di steatosi miocardica tra soggetti con e senza coronaropatia (CAD) e identificare in quali cellule sono contenute le LD.

Materiali, Metodi e Risultati. Abbiamo studiato soggetti di sesso maschile che venivano sottoposti a intervento di cardiocirurgia sia per bypass aortocoronarico (CAD, n=23), sia per sostituzione valvolare (non-CAD, n=18). Sono stati valutati per ogni paziente indice di massa corporea, circonferenza vita, glicemia, insulina, HOMA index, leptina, adiponectina e Hs-PCR. Sono state raccolte biopsie di miocardio atriale dall'atrio destro durante incannulazione dell'appendice atriale. È stata utilizzata immunohistochimica per perilipina 1 (PLIN1) e 2 (PLIN2) per caratterizzare le LD e la loro localizzazione rispettivamente in adipociti o all'interno delle cellule miocardiche.

Sia PLIN1 che PLIN2 sono risultate essere significativamente maggiori in soggetti CAD rispetto ai non CAD (rispettivamente: 0,35±0,04 OD vs 0,28±0,05 OD; p<0,004; 0,27±0,05 OD vs 0,22±0,05 OD; p<0,004). PLIN 1 è risultata associata in modo significativo alla leptina e alla Hs-PCR e negativamente associata ad adiponectina, mentre PLIN2 è risultata associata a BMI, circonferenza vita, leptina e negativamente ad adiponectina. Dopo aver preso in considerazione l'assenza/presenza di ipertensione arteriosa e CAD/non CAD, l'adiponectina è risultata

inversamente associata con PLIN 1 (R2 0,523), mentre sia circonferenza vita che adiponectina erano positivamente associate con PLIN2 (R2 0,399).

Conclusioni. La steatosi miocardica è risultata essere significativamente aumentata in soggetti con CAD rispetto a soggetti non-CAD sia per quanto riguarda adipociti metabolicamente attivi interspersi tra i cardiomiociti sia per deposizione lipidica all'interno dei cardiomiociti; l'adiponectina sierica e la circonferenza vita sono risultate essere predittori indipendenti di steatosi miocardica.

ESPRESSIONE DEI GENI HDAC9 E TWIST1. POSSIBILI BIOMARCATORI DI VULNERABILITÀ DELLA PLACCA CAROTIDEA?

M. Macri¹, S. Ferronato², S. De Marchi³, F. Dalle Vedove³, S. Mazzucco³, S. Tamburin³, M. Gomez Lira², A. Scuro¹
¹Chirurgia Vascolare Mininvasiva ed Endovascolare, Policlinico G.B. Rossi, Università degli Studi di Verona;
²Biologia e Genetica, Università degli Studi di Verona;
³Angiologia, Policlinico G.B. Rossi, Università degli Studi di Verona

Introduzione. L'individuazione dei soggetti ad alto rischio di ictus aterotrombotico è fondamentale per porre la corretta indicazione alla TEA carotidea. L'identificazione delle modificazioni nelle placche e la ricerca dei biomarcatori di vulnerabilità delle stesse è un importante campo di ricerca per questo scopo. Studi di associazione genetica su scala genomica hanno mostrato l'associazione di un polimorfismo del gene HDAC9 (che codifica per l'enzima istone deacetilasi-9) con l'ictus aterotrombotico. I meccanismi specifici che sottendono questa associazione sono tuttavia ancora da definire. Scopo di questo studio è determinare l'espressione del gene HDAC9 e di TWIST1 in pazienti operati di TEA carotidea (sintomatici ed asintomatici) ed analizzare la loro correlazione con l'instabilità istologica della placca studiata con metodo Lovett.

Materiale e Metodi. L'analisi di espressione su placca è stata condotta su 41 pazienti sottoposti a TEA carotidea (22 sintomatici e 19 asintomatici). Le placche carotidee asportate sono state classificate sottoponendole ad analisi istologica. La classificazione è stata effettuata seguendo il metodo proposto da Lovett. JK et al. nello studio Histological Correlates of Carotid Plaque Surface Morphology on Lumen Contrast Imaging, Circulation, 2004; 110: 2190-2197. All'analisi istologica, 35 placche sono risultate essere instabili e 6 stabili. In particolare tutti i pazienti sintomatici sono risultati avere placche instabili, mentre gli asintomatici presentavano entrambe le tipologie di placche. L'RNA è stato estratto da placca e valutato mediante Real Time-PCR.

Risultati e Discussione

L'espressione di HDAC9 e di TWIST1 non è risultata correlata con la sintomaticità di placca, mentre TWIST1 è risultato avere una correlazione statisticamente significativa con la stabilità istologica della placca ($p=0,02$). In particolare bassi valori di espressione di TWIST1 sono risultati associati alla presenza di una placca instabile. Tale correlazione non è invece risultata statisticamente significativa per HDAC9.

La correlazione tra bassa espressione di TWIST1 e placca instabile è risultata essere ancora migliorando analizzando il solo

sottogruppo dei pazienti asintomatici ($p=0,0109$) che sono coloro che più beneficerebbero di un marcatore di instabilità.

Analizzando i parametri istologici delle placche TWIST1 è risultato correlare inversamente, in modo molto significativo, specie con il livello di neoangiogenesi di placca.

In base a questi dati abbiamo avviato un nuovo studio con un protocollo modificato che, valutando l'espressione di TWIST1 a livello plasmatico nei soli pazienti asintomatici, possa valutare l'espressione di TWIST1 come marcatore di instabilità di placca.

CALCIFICAZIONI VALVOLARI CARDIACHE IN PAZIENTI CON DIABETE MELLITO TIPO 2 E STEATOSI EPATICA NON ALCOLICA (NAFLD)

A. Mantovani¹, M. Pernigo², C. Bergamini², S. Bonapace³, L. Bertolini⁴, L. Zenari⁴, I. Pichiri¹, M. Dauriz¹, G. Zoppini¹, E. Bonora¹, G. Targher¹

¹Sezione di Endocrinologia, Diabete e Metabolismo, Dipartimento di Medicina, Università e Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona;

²Sezione di Cardiologia, Dipartimento di Medicina, Università and Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona;

³Divisione di Cardiologia, Ospedale "Sacro Cuore", Negrar (VR);

⁴Divisione di Medicina Generale, Ospedale "Sacro Cuore", Negrar (VR)

Background e Scopo. È noto che la presenza di calcificazioni valvolari cardiache, in particolare la sclerosi valvolare aortica (AVS) e la calcificazione dell'annulus mitralico (MAC), si associa ad un'aumentata incidenza di eventi cardiovascolari. È altresì noto che la steatosi epatica non alcolica (NAFLD) rappresenta un fattore di rischio cardiovascolare emergente, che è assai frequente nei pazienti affetti da diabete mellito tipo 2 (T2DM). Attualmente non è ancora chiaro se la NAFLD si associ ad un'aumentata prevalenza di calcificazioni valvolari cardiache (AVS e MAC) nei pazienti con T2DM.

Metodi. In questo studio sono stati consecutivamente reclutati 247 pazienti con T2DM (M/F=179/68; età media 69 anni), che erano regolarmente afferenti presso il Servizio di Diabetologia (nell'arco di 12 mesi) e che erano clinicamente esenti da pregressa cardiopatia ischemica, cardiomiopatia valvolare, abuso alcolico ed epatopatia cronica da causa nota. La diagnosi di NAFLD è stata formulata mediante ecografia epatica ed esclusione delle altre cause note di epatopatia cronica. In tutti i pazienti è stata eseguita un'ecocardiografia.

Risultati. Nel campione esaminato, 139 (56,3%) pazienti non avevano calcificazioni a livello della valvola aortica e mitralica (CVC-0), 65 (26,3%) avevano AVS o MAC (CVC-1) mentre i rimanenti 43 (17,4%) pazienti presentavano sia MAC che AVS (CVC-2). Complessivamente, la NAFLD era presente in 175 (70,8%) pazienti e la sua prevalenza era significativamente maggiore nei pazienti con CVC-2 rispetto a quelli con CVC-1 e con CVC-0 (86,1% vs 83,1% vs 60,4%, rispettivamente; $p<0,001$). La NAFLD era significativamente associata alla presenza di AVS e/o MAC (odds ratio [OR] 3,51, 95% CI 1,89-6,51, $p<0,001$). Tale associazione rimaneva significativa anche dopo aggiustamento per sesso, età, fumo di sigaretta, pressione arteriosa, HbA1c, lipidi plasmatici, filtrato glomerulare stimato

(eGFR), uso di farmaci (ipoglicemizzanti, anti-ipertensivi ed ipolipemizzanti) e presenza di disfunzione diastolica ventricolare all'esame ecocardiografico (adjusted OR 2,97, 95% CI 1,31-6,70, $p < 0,01$).

Conclusioni. Questo studio dimostra, per la prima volta, che la NAFLD si associa ad un'aumentata prevalenza di calcificazioni valvolari cardiache (AVS e/o MAC) in pazienti ambulatoriali affetti da T2DM, indipendentemente dalla presenza di altri fattori di rischio cardiovascolare concomitanti. Ulteriori studi sono necessari per confermare tali risultati e per esaminare i meccanismi attraverso cui la NAFLD potrebbe favorire lo sviluppo e la progressione delle calcificazioni valvolari cardiache.

RECENTI EVIDENZE DEL RUOLO DELLO STRESS DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO E DELLA VIA DI SEGNALE NRF2/ARE NELLA CARDIOPATIA ISCHEMICA CRONICA E NEL DIABETE MELLITO TIPO 2

C. Mozzini, U. Garbin, A. Fratta Pasini, C. Stranieri, A. Pasini, E.L. Cominacini

Dipartimento of Medicina, Sezione di Medicina generale, Malattie aterotrombotiche e degenerative, Università degli Studi di Verona

Background. Recenti evidenze dimostrano che lo stress del reticolo endoplasmatico (RE) sia implicato nella patogenesi della cardiopatia ischemica cronica (CAD) e del diabete mellito tipo 2 (DMT2). Stress del RE con conseguente accumulo di proteine mal ripiegate porta all'attivazione del cosiddetto "unfolded protein response" (UPR). Quando però lo stress del RE è eccessivo e il carico di proteine mal ripiegate aumenta, viene indotta una risposta apoptotica RE-correlata.

Metodi. Sono stati analizzati markers di UPR e di apoptosi RE-indotta in monociti circolanti (PBMC) di 29 CAD e 28 controlli.

Inoltre, come markers di stress ossidativo, sono stati analizzati i prodotti ossidati del fosfolipide 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine (oxPAPC) nel plasma e nei PBMC e l'espressione della via di segnale Nrf2/ARE, protettiva nei confronti del danno ossidativo.

Nella seconda parte dello studio sono stati valutati oxPAPC e malondialdeide (MDA), inoltre markers di UPR e di apoptosi RE-correlata, la via di segnale Nrf2/ARE e l'attivazione del fattore di trascrizione pro-infiammatorio NF-kB in 15 pazienti con DMT2 non a target glicemico e in altrettanti controlli.

Risultati. L'espressione genica e proteica di BiP, marker di UPR, e di CHOP, marker di apoptosi RE-correlata, risultavano significativamente più elevate nei CAD rispetto ai controlli, così come le concentrazioni di oxPAPC nel plasma e nei PBMC ($p < 0,01$). Lo studio in vitro ha dimostrato che concentrazioni crescenti di oxPAPC inducevano in maniera dose-dipendente l'espressione di CHOP e di altre proteine apoptosi-correlate ($p < 0,01$), con però progressivo decremento della risposta Nrf2/ARE ($p < 0,01$).

Nella seconda parte dello studio, le concentrazioni di oxPAPC nel plasma e nei PBMC, i livelli plasmatici di MDA e l'espressione di BiP e CHOP risultavano significativamente più elevate nei pazienti con DMT2 rispetto ai controlli ($p < 0,01$). L'espressione di Nrf2 e del gene correlato HO-1 risultavano più basse, a fronte però di un incremento dell'attività di NF-kB ($p < 0,01$). Lo studio in vitro ha dimostrato che condizioni di iperglicemia, se prolungata, inducevano apoptosi RE-correlata, senza adeguata risposta Nrf2/ARE.

Conclusioni. Nei PBMC dei CAD vi era attivazione dell'UPR e dell'apoptosi RE-indotta verosimilmente relativa all'aumentato stress ossidativo.

Nei PBMC dei pazienti con DMT2 non a target vi era attivazione dell'UPR e dell'apoptosi RE-indotta, verosimilmente dovuta all'iperglicemia cronica, in entrambi i casi senza adeguata risposta Nrf2/ARE.

Questi studi in conclusione supportano l'ipotesi del coinvolgimento dello stress del RE, dello stress ossidativo e dell'infiammazione nella patogenesi di CAD e DMT2.