

SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELLA ATEROSCLEROSI (SISA)

XVIII Congresso della Sezione Triveneto

Padova, 13 Maggio 2017

Il XVIII Congresso della Sezione Triveneto della Società Italiana per lo Studio della Aterosclerosi (S.I.S.A.), che si è svolto il giorno Sabato 13 maggio 2017 a Padova, ha dedicato i suoi lavori all'Aterosclerosi come una sfida tra presente e futuro. Una sessione si è occupata di offrire un ampio aggiornamento sulla Ipercolesterolemia familiare, una patologia sotto-diagnosticata e sotto-trattata sia nell'adulto che nell'adolescente: è stato affrontato il problema dell'ottimizzazione della terapia e, allo scopo di accrescere la consapevolezza dei medici circa la diagnosi e il trattamento di questa malattia, è stato presentato un caso clinico. Un Simposio congiunto SISA - ANMCO - ARCA è stato dedicato agli anticorpi monoclonali anti PCSK9, nuovi farmaci ipocolesterolemizzanti: in particolare si è parlato della proteina PCSK9, sono stati presentati i risultati dei recentissimi Studi Clinici con gli inibitori di PCSK9 sulla regressione della placca aterosclerotica e sulla prevenzione cardiovascolare, infine si è discusso delle indicazioni regionali sulla appropriatezza di utilizzo di questi farmaci. In un'altra sessione ci si è focalizzati sulla gestione dei fattori di rischio cardiovascolare, cioè si è parlato delle nuove Linee Guida EAS/ESC sulla gestione delle Dislipidemie, dei nutraceutici nel trattamento dell'ipercolesterolemia, dell'ipertrigliceridemia come fattore di rischio cardiovascolare e di pancreatite e del trattamento dell'ipertrigliceridemia da quello convenzionale alla terapia genica, del ruolo dell'aferesi lipoproteica in soggetti ad elevato rischio cardiovascolare con elevati livelli di lipoproteina(a) e infine un aggiornamento sulla terapia del diabete di tipo 2 cercando di capire il significato della fenotipizzazione della stessa. In un Simposio congiunto SISA - SIAPAV - SIMI si è affrontato il tema degli anticoagulanti orali diretti: dalla descrizione delle caratteristiche delle singole molecole, agli studi con gli anticoagulanti orali diretti nella prevenzione dell'ictus da Fibrillazione Atriale e nella Trombosi Venosa Profonda, al monitoraggio della terapia e gestione delle complicanze emorragiche da anticoagulanti orali diretti fino ai dati tratti da un registro che offre lo spaccato reale dell'utilizzo di questi farmaci.

COMUNICAZIONI ORALI

RANKL EXPRESSION IS INCREASED IN PERIPHERAL MONONUCLEAR CELLS OF PATIENTS WITH SEVERE AORTIC VALVE STENOSIS AND PROMOTES PRO-CALCIFIC DIFFERENTIATION OF VALVE CELLS

R. Buso, E. Faggin, E. Bertacco, G. Zoppellaro, G. Tarantini, S. Iliceto, E. Covolo, G. Faggian, C. Vassanelli, G. Benfari, Z. Olivari, A. Daniotti, P. Pantano, P. Pauletto, M. Rattazzi
Medicina Interna 1°, Dipartimento di Medicina Interna, Ospedale Cà Foncello Treviso, Azienda ULSS n. 2 Marca Trevigiana

Background. Calcific aortic valve disease (CAVD) is now the leading valvular heart disease. Mediators of bone remodeling such as the OPG/RANK/RANKL triad, FGF-23/Klotho axis, and pyrophosphate (PPi) have been recently involved in vascular calcification. It is unclear whether these molecules can play a role in the pathogenesis of CAVD and/or predict the disease progression.

Methods. We enrolled 50 patients affected by CAVD and a comparable group of subjects without valve disease. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were collected from each subject and RNA was extracted to assess gene expression of OPG/RANK/RANKL. Serum levels of OPG, FGF-23 and PPi were determined through dedicated ELISA assays. CT scan images of patients with CAVD have been obtained and used to quantify the extent of calcium deposits within the valves. Bovine interstitial aortic valve cells (BVIC) have been seeded *in vitro* on type-I collagen matrix and treated for nine days with RANKL (100 ng/ml) and inorganic phosphate (Pi, 0.6 mmol/L) to study the induction of matrix mineralization.

Results. The two groups were comparable in term of age, gender, lipid profile, kidney function, and blood pressure levels. A significant increase in PTH (43,3 ng/L \pm 28,1 vs 30,2 ng/L \pm 16,6, p=0,006) and Pi levels (1,07 mmol/L \pm 0,33 vs 0,94 mmol/L \pm 0,16, p=0,012) was found in patients affected by CAVD. The gene expression analysis showed significantly higher expression of RANKL in the PBMC from CAVD patients as compared to controls (fold change 5,62 \pm 1,76 vs 1,57 \pm 0,32, p=0,018). RANK expression was identical in the two groups and OPG was not detectable in the cells. No differences between cases and controls were found in serum levels of FGF-23 and PPi levels whereas circulating OPG was significantly increased in subjects with CAVD (1754,40 pg/mL \pm 108,5 vs 1323 pg/mL \pm 90,8) (p=0,003). As for the image analysis of valve calcium accumulation, we found a direct significant correlation between expression levels of RANKL in PBMC and the degree of calcium deposition (r=0,358, p=0,032).

Finally, *in vitro* studies showed that treatment of BVIC with RANKL and Pi was followed by significant increase in type-I collagen matrix mineralization as compared to control and Pi alone (Pi 0,030 \pm 0,006 vs RANKL+Pi 0,223 \pm 0,092 mg/mg collagen weight, p=0,001).

Conclusions. We observed that RANKL expression is increased in PBMC of patients with CAVD and it is directly correlated with the degree of valve calcification. In addition, RANKL is able to promote pro-calcific differentiation of VIC, suggesting a direct pathogenic role during valve disease progression.

COMPOSIZIONE DEGLI ACIDI GRASSI DEI FOSFOLIPIDI PLASMATICI, ASSETTO LIPIDICO, PARAMETRI OSSIDATIVI E INFIAMMATORI IN UNA POPOLAZIONE DI PESCATORI

P. Bigolin, M. Biolo, P. Scarinzi, C. Panzavolta, A. Antonucci; R. Marin, D. Vianello, G. Pagin, S. Bertocco, G. Gessoni*; A. Boscolo Bariga*, L. Previato, F. Fabris, E. Manzato; S. Zambon, A. Zambon

Dipartimento di Medicina, Università di Padova;

**Laboratorio di Analisi, Ospedale di Chioggia*

Introduzione. Gli studi sugli effetti metabolici del consumo abituale di pesce riguardano soprattutto popolazioni nordiche mentre poco è attualmente noto per popolazioni con una dieta ricca di pesce di mare di basse latitudini.

Scopo. Il nostro studio ha coinvolto un gruppo di pescatori residenti a Chioggia, una cittadina costiera del mare Adriatico del Nord, per indagare il consumo abituale di pesce, la composizione degli acidi grassi dei fosfolipidi plasmatici, l'assetto lipidico, le LDL ossidate (LDLox), i parametri infiammatori e per valutare le possibili relazione tra tutti questi fattori.

Soggetti e Metodi. Sono stati raccolti i dati antropometrici e il questionario alimentare, rivolto in particolare al consumo di pesce, di 208 pescatori di età compresa tra i 19 ed i 71 anni; sono stati determinati i parametri ematochimici presso il Servizio di Medicina di Laboratorio dell'Azienda ULSS14 di Chioggia e la composizione percentuale degli acidi grassi dei fosfolipidi plasmatici (Gas Cromatografia capillare), di Apoproteina B (immuno-turbidimetria) e di LDLox (ELISA) presso il laboratorio del Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi della Clinica Medica 1, Dipartimento di Medicina, Università di Padova.

Risultati. I soggetti sono stati divisi in tre gruppi in base al consumo abituale di pesce (0-1, 2-3 porzioni a settimana, ≥ 1 porzioni al giorno). All'aumentare della frequenza di consumo di pesce la concentrazione percentuale degli acidi grassi polinsaturi n-3 (PUFA) totali aumenta (4,52 \pm 1,13% vs 5,24 \pm 1,52% vs 5,32 \pm 1,74%, p=0,001 ANOVA), in particolare gli acidi grassi eicosapentaenoico (EPA) e docosaesaenoico (DHA), mentre quella dei PUFA n-6 si riduce (37,19 \pm 2,50% vs 36,05 \pm 2,62% vs 35,59 \pm 2,63%, p=0,002 ANOVA). I tre gruppi non hanno messo in luce differenze statisticamente significative per quanto riguarda l'assetto lipidico e i parametri infiammatori. Analizzando l'intero gruppo, i PUFA n-3 totali (in particolare EPA e DHA) correlano con il colesterolo delle LDL (r=0,312, p=0,000), DHA correla con LDLox (r=0,206, p=0,024), mentre i PUFA n-3 non hanno evidenziato una correlazione significativa con i trigliceridi. I PUFA n-3 (in particolare EPA e DHA) correlano inversamente con i leucociti (r=-0,245, p=0,000), mentre i PUFA n-3 totali si associano all'aumento dell'interleuchina-6 (r=0,168, p=0,016).

Conclusioni. Il consumo di pesce si riflette sulla composizione percentuale degli acidi grassi dei fosfolipidi plasmatici; gli acidi grassi polinsaturi n-3 assunti con la dieta dai pescatori studiati soggetti non comportano evidenti modifiche antiaterogene, anche se si associano ad un effetto antinfiammatorio.

APPROCCIO TERAPEUTICO E RAGGIUNGIMENTO DEI TARGET LIPIDICI IN UNA POPOLAZIONE DI PAZIENTI AFFERENTI ALL'AMBULATORIO DISLIPIDEMIE DELL'UNIVERSITÀ DI PADOVA

M. Biolo, P. Scarinzi, E. Cinel, M. Barichello, C. Panzavolta, P. Bigolin, A. Antonucci, S. Bertocco, L. Previato, F. Fabris, E. Manzato, S. Zambon, A. Zambon
Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Padova

Introduzione. La riduzione del colesterolo LDL è notoriamente associata ad una significativa riduzione del rischio cardiovascolare. Il numero di pazienti che raggiungono il target terapeutico risulta però decisamente basso.

Scopo dello studio. Studiare le caratteristiche cliniche, il profilo lipidico, i pattern terapeutici e la risposta alla terapia ipolipemizzante di una popolazione di pazienti afferenti all'ambulatorio dislipidemie dell'Università di Padova.

Soggetti e Metodi. 327 pazienti (189 femmine e 138 maschi; 171 di età <65 anni e 156 ≥65 anni) in terapia ipolipemizzante di cui sono stati considerati dati anamnestici e antropometrici, fattori di rischio cardiovascolare, segni clinici di ipercolesterolemia familiare, patologia carotidea e malattia cardiovascolare, assetto lipidico pre- e post-trattamento, variazioni di CPK, AST e ALT, utilizzo di statina o di altro trattamento ipolipemizzante, raggiungimento dei target di colesterolo LDL e non-HDL.

Risultati. Nelle femmine l'età è risultata significativamente maggiore, così come il peso e l'altezza nei maschi. La familiarità per dislipidemia, la presenza di xantommi, xantelasmi e gerontoxon è risultata significativamente maggiore nelle femmine. Nei soggetti con età ≥65 anni sono risultati significativamente più presenti l'ipertensione arteriosa, il diabete mellito, il gerontoxon, la stenosi carotidea e la malattia cardiovascolare; nei soggetti con età <65 anni invece l'abitudine al fumo, la familiarità per dislipidemia e per malattia cardiovascolare precoce. Il colesterolo totale (media±DS: 285±49 vs 267±58 mg/dl, p<0,05), HDL (67±20 vs 47±19 mg/dl, p<0,05) e LDL (190±46 vs 172±54 mg/dl, p<0,05) sono risultati significativamente più elevati nelle femmine, mentre i trigliceridi (336±332 vs 160±127 mg/dl, p<0,05) e ALT (32,8±15,2 vs 24,8±13,6 U/l, p<0,05) nei maschi. Non sono emerse differenze significative tra maschi e femmine per quanto riguarda colesterolo non HDL, CPK e AST. Nella popolazione di età ≥65 anni non sono emerse differenze significative per quanto riguarda colesterolo totale, LDL, HDL, non HDL, transaminasi e CPK rispetto ai pazienti di età <65 anni. Il trattamento ipolipemizzante ha comportato nei due sessi una riduzione significativa di colesterolo totale (maschi: 202±40,5 vs 265,3±60,7 mg/dl, p<0,05; femmine: 209,8±35,8 vs 286,4±51,8 mg/dl, p<0,05, post vs pre rispettivamente), LDL (maschi: 121,3±33,3 vs 171,6±58,3 mg/dl, p<0,05; femmine: 123±30,8 vs 189,4±49,6 mg/dl, p<0,05, post vs pre rispettivamente), non-HDL (maschi: 152,5±42 vs 221,4±59,4 mg/dl, p<0,05; femmine: 145±36,3 vs 222,1±53,4 mg/dl, p<0,05, post vs pre rispettivamente) e trigliceridi (maschi: 170,7±111 vs 334,9±305,6 mg/dl, p<0,05; femmine: 128,3±123,6 vs 170,9±137,1 mg/dl, p<0,05, post vs pre rispettivamente); nei maschi anche un incremento significativo del colesterolo HDL (49,8±17,1 vs 46,4±18,5 mg/dl, p<0,05). Sia nei soggetti di età <65 anni sia nei soggetti di età ≥65 anni, la terapia ha determinato una riduzione significativa di colesterolo totale, LDL, non-HDL e trigliceridi, senza variazioni significative di transaminasi e CPK. Il target di colesterolo LDL è stato raggiunto dal 41,8% dei pazienti in prevenzione primaria e dal 18,8% in prevenzione secon-

daria; dei soggetti <65 anni hanno raggiunto il target LDL il 33,3% in prevenzione primaria e il 20% in prevenzione secondaria, mentre dei soggetti ≥65 anni il 51,6% in prevenzione primaria e il 18,2% in prevenzione secondaria. Il target di colesterolo non-HDL è stato invece raggiunto dal 16,7% dei pazienti in prevenzione secondaria, di questi dal 20% dei soggetti <65 anni e dal 15,4% dei soggetti ≥65 anni.

Conclusioni. è stata dimostrata l'efficacia del trattamento ipolipemizzante a prescindere dal sesso e dall'età dei pazienti senza significativi incrementi delle transaminasi e della CPK. In accordo con la letteratura, il raggiungimento dei target di colesterolo LDL e non-HDL è stato inferiore a quanto auspicabile soprattutto nei pazienti in prevenzione secondaria.

NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE IS INDEPENDENTLY ASSOCIATED WITH AN INCREASED RISK OF HEART BLOCK IN HOSPITALIZED PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

A. Mantovani¹, R. Rigolon¹, V. Cavalieri¹, I. Pichiri¹, S. Bonapace², G. Morani³, G. Zoppini¹, E. Bonora¹, G. Targher¹

¹Section of Endocrinology, Diabetes and Metabolism Disease, Department of Medicine, University and Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata of Verona; ²Division of Cardiology, 'Sacro Cuore' Hospital, Negrar (VR); ³Section of Cardiology, Department of Medicine, University and Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata of Verona

Background and aim. Recent studies have suggested that nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is associated with an increased risk of cardiac tachyarrhythmias (mainly atrial fibrillation) in patients with and without type 2 diabetes. The aim of this study was to assess whether an association also exists between NAFLD and heart block.

Methods. We retrospectively evaluated a hospital-based cohort of 751 patients with type 2 diabetes discharged from our Division of Endocrinology during years 2007-2014. Standard electrocardiograms were performed on all patients. NAFLD was diagnosed by ultrasonography. The fibrosis (FIB)-4 score was used to identify advanced liver fibrosis.

Results. Overall, 524 (69.8%) patients had NAFLD and 202 (26.9%) had heart block (defined as at least one block among first-degree atrio-ventricular block, second-degree block, third-degree block, left bundle brunch block, right bundle brunch block, left anterior hemiblock or left posterior hemiblock) on electrocardiograms. Patients with NAFLD had a greater prevalence of heart block than those without NAFLD (31.3% vs 16.7%, P<0.0001); this prevalence was particularly increased in NAFLD patients with high FIB-4 score. NAFLD was associated with an increased risk of heart block (adjusted-odds ratio 2.79, 95%CI 1.72-4.55) even after adjusting for age, sex, hypertension, hemoglobin A1c, microvascular complication status, prior ischemic heart disease, medication use and other potential confounders.

Conclusions. This is the first observational study to show that NAFLD and its severity are strongly associated with an approximately 2.8-fold higher risk of heart block in hospitalized patients with type 2 diabetes, independent of multiple risk factors and diabetes-related variables.

PROFILO LIPOPROTEICO, LDL OSSIDATE E ATEROSCLEROSI PERIFERICA IN SOGGETTI DIABETICI NEFROPATICI

C. Panzavolta, P. Scarinzi, P. Bigolin, M. Biolo, A. Antonucci, R. Marin, D. Vianello, I. Cortella, C. Maneschi, S. Bertocco, L. Previato, E. Manzato, F. Fabris, S. Zambon, A. Zambon
Dipartimento di Medicina, Università di Padova

Introduzione. Il Diabete Mellito di tipo 2 (DM2) si associa ad un aumento della morbilità e della mortalità cardiovascolare, in parte correlato alla presenza di alterazioni metaboliche quali l'iperglicemia e la dislipidemia; inoltre la morbilità e la mortalità nei pazienti con DM2 sono aumentate in presenza di nefropatia.

Scopo dello studio. Individuare le differenze qualitative e quantitative del profilo lipidico in soggetti diabetici con e senza nefropatia e valutare la possibile associazione tra le alterazioni delle lipoproteine e l'aumento dell'aterosclerosi nei pazienti con nefropatia.

Soggetti e Metodi. Lo studio include 47 soggetti con DM2; 22 con associata nefropatia e 25 senza nefropatia; la nefropatia diabetica viene definita da una velocità di filtrazione glomerulare stimata (eGFR) <60 ml/min/1.73 m² o dalla presenza di albuminuria. Per ogni paziente sono stati raccolti dati antropometrici, clinici, biochimici, colesterolo totale, colesterolo HDL e non-HDL, trigliceridi, e l'albuminuria; per il calcolo della eGFR è stata utilizzata la formula di Cockcroft Gault. La distribuzione delle classi lipoproteiche è stata studiata mediante l'ultracentrifugazione in gradiente di densità. La presenza di aterosclerosi subclinica e di *Claudicatio Intermittens* sono state indagate rispettivamente con l'indice ABI (PA caviglia/PA braccio) e il questionario di Edimburgo.

Risultati. I soggetti diabetici nefropatici presentano maggiori livelli di trigliceridi (media±DS: 168,0±91,5 vs 112,0±63,4 mg/dl; p=0,029), maggiori concentrazioni di LDL ossidate (65,63±10,72 vs 53,86±11,19 U/L; p=0,044) e aumento della densità delle LDL (Rf 0,324±0,08 vs 0,351±0,11; p=0,048) rispetto ai soggetti diabetici senza nefropatia. Inoltre, i soggetti diabetici nefropatici presentano maggiore aterosclerosi periferica: ABI<0,9 in 68% vs 18%, p<0,01; valore ABI 0,86±0,06 vs 1,09±0,04, p=0,037, e risultano maggiormente colpiti da *Claudicatio Intermittens* (45% vs 16%; p=0,044). I livelli di LDL ossidate sono correlati direttamente e in maniera significativa con i valori di colesterolo non-HDL, con il colesterolo delle VLDL e con la densità delle LDL. Nei soggetti diabetici i livelli sierici di LDL ossidate sono tanto più elevati quanto più le LDL sono piccole e dense. I risultati evidenziano una associazione significativa tra i livelli di LDL ossidate e i trigliceridi, così come con le concentrazioni di trigliceridi delle frazioni lipoproteiche VLDL, LDL e HDL. I livelli di LDL ossidate inoltre sono correlati ai valori di glicemia e HbA1c. I soggetti diabetici con ABI <0,9 mostravano maggiori livelli di colesterolo non HDL rispetto ai soggetti con ABI >0,9 (144,0±51,9 vs 117,5±31,8 mg/dl; p=0,049).

Conclusioni. I soggetti con nefropatia diabetica presentano alterazioni del profilo lipidico e delle lipoproteine tipiche del diabete, ma più pronunciate, e aumento dell'aterosclerosi, il che potrebbe spiegare la maggiore morbilità e mortalità cardiovascolare che affligge questi soggetti.

L'ESERCIZIO FISICO CONTROLLATO NEI PAZIENTI CON ARTERIOPATIA OSTRUTTIVA E CLAUDICATIO INTERMITTENS MIGLIORA LO STRESS OSSIDATIVO E FAVORISCE LA SOPRAVVIVENZA CELLULARE

A. Fratta Pasini, C. Stranieri, A.M. Rigoni*, S. De Marchi*, C. Mozzini, L. Cominacini
Dipartimento di Medicina, Sezione di Medicina Interna e Malattie Aterotrombotiche e Degenerative e *Sezione di Angiologia, Università di Verona, Policlinico Borgo Roma, AOUI Verona

Introduzione. I pazienti con arteriopatía ostruttiva degli arti inferiori (AOP) e claudicatio intermittens (CI) durante la deambulazione vanno incontro a ripetuti episodi di ischemia seguiti da riperfusione quando arrestano la marcia. Il rapido ripristino del flusso determina paradossalmente un danno ossidativo ai tessuti, il cosiddetto danno da ischemia/riperfusione (I-R), che genera specie reattive dell'ossigeno (ROS) in grado di favorire la citotossicità e l'apoptosi. Recenti evidenze dimostrano che brevi episodi di I-R che precedono "ischemic preconditioning" (IP) una prolungata I-R sono in grado di ridurre i danni indotti dall'ischemia.

SCOPO: In questo studio abbiamo valutato se l'esercizio fisico controllato, caratterizzato da ripetuti episodi di I-R, renda le cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) dei pazienti AOP e CI più resistenti ai danni da I-R attraverso la riduzione dello stress ossidativo e inducendo una risposta adattativa mediata dalle vie Unfolded Protein Response (UPR) e nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/antioxidant-response elements (ARE). Successivamente per capire se la CI possa essere un trigger di IP abbiamo esaminato l'effetto di ripetuti episodi di I-R sulla risposta adattativa in cellule monocitarie (THP-1).

Risultati. Tutti i pazienti arruolati (n. 24) sono stati sottoposti a un periodo di training esercizio fisico controllato (21 sessioni caratterizzate da 50 minuti di esercizio su tapis roulant). All'inizio e alla fine del periodo di training, i pazienti hanno eseguito un test massimale (treadmill test) come indicatore di risposta acuta all'I-R. Il training di esercizio fisico ha migliorato l'intervallo di marcia assoluto e l'intervallo di marcia libero dal dolore (p<0.01) e ha inoltre determinato una riduzione significativa della concentrazione plasmatica di malondialdeide (MDA) (p<0.01) e della produzione di ROS (p<0.01) nei PBMC derivanti dai pazienti, associata ad un contemporaneo aumento di GSH (p<0.01) sia in condizioni basali che in risposta al test massimale. Inoltre l'esercizio fisico ha indotto un miglioramento (p<0.01) dei parametri di citotossicità considerati (LDH leakage e % di PBMC apoptotici) e un'aumentata espressione genica delle vie di segnale UPR e Nrf2/ARE (p<0.01). Per quanto riguarda lo studio *in vitro*, abbiamo sottoposto cellule monocitarie a ripetuti episodi di I-R e valutato lo stress ossidativo e le risposte adattive cellulari. I nostri risultati evidenziano un'aumentata espressione genica delle vie di segnale UPR e Nrf2/ARE (p<0.01), mentre lo stress ossidativo e la citotossicità, dopo un iniziale aumento, si sono ridotti (p<0.01). La preincubazione delle cellule con inibitori di UPR e Nrf2 riduceva i positivi effetti sulla citotossicità.

Conclusioni. L'esercizio fisico controllato nei pazienti con AOP e CI attraverso le vie UPR e Nrf2/ARE può indurre una risposta adattativa all'ischemia simile all'IP, che è in grado di migliorare la sopravvivenza cellulare.