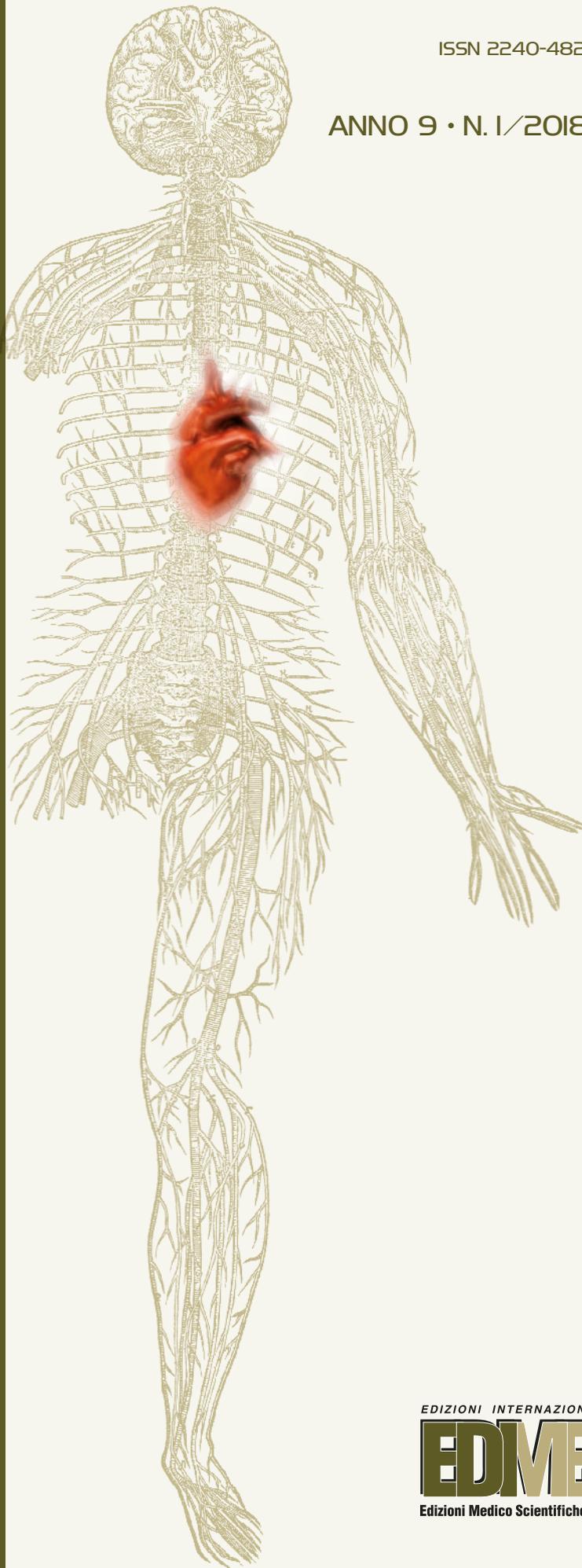


ISSN 2240-4821

ANNO 9 • N. 1/2018



EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

EDMES

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI

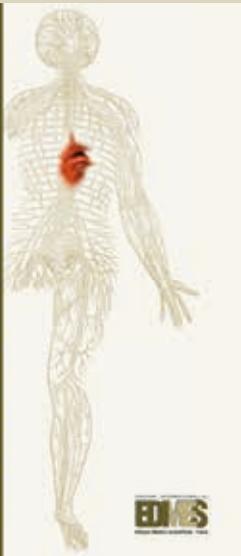
Zetia™ *ezetimibe*

Depositato presso AIFA in data 22/11/2017 - Prima della prescrizione consultare il Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto



Inquadrare il QR code per accedere al Riassunto
delle Caratteristiche di Prodotto di ZETIA





Rivista ufficiale della Società Italiana
per lo Studio dell'Aterosclerosi (SISA)

Direttori emeriti

A. Ventura
G.F. Salvoli
G. Crepaldi
E. Mannarino
R. Fellin
A. Mezzetti

Direttore scientifico

E. Manzato (Padova)

Editore

L. Cattin (Trieste)

Vice Editore

F. Angelico (Roma)

Responsabili di area

Review e Linee Guida – D. Sommariva (Milano)
Ricerca e Farmacologia – G.D. Norata (Milano)
Studi Clinici – M. Pirro (Perugia)
Epidemiologia – Salvatore Panico (Napoli)

Comitato di Redazione

C.M. Barbagallo (Palermo)
A. Belfiore (Bari)
M. Del Ben (Roma)
O. Guardamagna (Torino)
M.R. Mannarino (Perugia)
T. Montalcini (Catanzaro)
L. Pisciotta (Genova)
A. Poli (Milano)
T. Sampietro (Pisa)
R. Sarzani (Ancona)
G.B. Vigna (Ferrara)
A. Zambon (Padova)

Segreteria editoriale

V. Flores d'Arcais
E. Loggia
R. Zecca

Via Balzaretti, 7 - 20133 Milano
E-mail: giornalearteriosclerosi@sisa.it

In copertina: De Humani Corporis Fabrica
di Andreas Vesalius (Basilea, 1543)

SOMMARIO

■ UPDATE SISA

Ezetimibe: efficacia, sicurezza e sostenibilità economica 5
Ezetimibe: efficacy, safety and economic sustainability
Matteo Pirro, Maurizio Averna, Alberico L. Catapano, Enzo Manzato

■ FOCUS

Epigenetica e rischio cardiovascolare in età pediatrica 21
Epigenetics and cardiovascular risk in childhood
Francesco Martino, Eliana Martino

■ AGGIORNAMENTO

La sitosterolemia: un raro disordine genetico forse sotto-diagnosticato 29
Sitosterolemia: a rare genetic disorder perhaps underdiagnosed
Stefano Bertolini, Sebastiano Calandra

■ FISIOPATOLOGIA DELLA PLACCA

**Effetto degli anticorpi anti-PCSK9 nella stabilizzazione
e regressione della placca aterosclerotica: il mito ancora vivo
della restaurazione vascolare** 47
**Effect of PCSK9 inhibition on coronary plaque stabilization
and regression:
the still alive myth of vascular restoration**
Antonio Landi, Massimo Napodano

■ MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ

**L'industria farmaceutica: la ricerca, il business,
i rapporti con l'università** 62
**Pharmaceutical industry, research, business, and relations
with the university**
Cesare Sirtori

EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

EDIMES

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

Edizioni Internazionali srl

Divisione EDIMES
EDIZIONI MEDICO SCIENTIFICHE - PAVIA
Via Riviera 39 - 27100 Pavia
Tel. 0382526253 r.a. - Fax 0382423120
E-mail: edint.edimes@tin.it



Consiglio Direttivo SISA

Enzo Manzato - *Presidente*
 Anna Belfiore
 Giulia Chiesa
 Francesco Cipollone
 Gennaro Marotta
 Antonino Saitta
 Anna Solini
 Patrizia Tarugi
 Gaetano Vaudo
 Maurizio Averna - *Past President*
 Marcello Arca - *Segretario*

Presidenti Sezioni Regionali SISA

Marco Bucci (Adriatica)
 Piero Portincasa (Appulo-Lucana)
 Arcangelo Iannuzzi (Campania)
 Sergio D'Addato (Emilia-Romagna)
 Lorenzo Loffredo (Lazio)
 Alberico L. Catapano (Lombardia)
 Luigi Gentile (Piemonte-Liguria-
 Valle d'Aosta)
 Mauro Mantega (Sardegna)
 Francesco Purrello (Siculo-Calabra)
 Anna Maria Gori (Toscana)
 Sabina Zambon (Triveneto)
 Giovanni Ciuffetti (Umbria)

Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi

Viale Maresciallo Pilsudski, 118
 00197 Roma

Autorizzazione Trib. di Milano n. 242
 del 21/09/2016

Direttore Responsabile: P. E. Zoncada

Norme editoriali

Pubblicità/Abbonamenti

Redazione *GIA*
 Via Balzaretto, 7
 20133 Milano
 Tel. 0249636373
 Fax 0249633384
 E-mail: giornalearteriosclerosi@sisa.it

Condizioni di abbonamento

Canone per l'Italia € 65,00, per l'estero € 75,00.

Periodicità

Trimestrale

Scopi

Il "Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi" (*GIA*), è un periodico di aggiornamento che nasce come servizio per i medici, operatori sanitari e studenti di medicina e delle professioni sanitarie, con l'intenzione di rendere più facilmente disponibili informazioni e revisioni critiche nel campo dell'arteriosclerosi e delle malattie ad essa correlate.

Lo scopo della rivista è quello di assistere il lettore fornendogli:

- revisioni critiche di argomenti di grande rilevanza nel campo dell'arteriosclerosi sia per quanto riguarda gli aspetti di base che gli aspetti clinico-applicativi;
- quesiti relativi agli argomenti trattati per una verifica di auto apprendimento;
- opinioni di esperti qualificati sui nuovi sviluppi delle conoscenze sull'arteriosclerosi;
- lavori originali relativi ad aspetti di ricerca sanitaria nell'ambito dell'arteriosclerosi e delle malattie ad essa correlate.

TIPOLOGIA E STRUTTURA DEGLI ARTICOLI

GIA accetta le seguenti categorie di contributi: lavori originali, rassegne, casi clinici e forum dei lettori. Titolo e, se previsti, parole chiave e sommario dovranno essere sia in italiano che in inglese.

Le tabelle dovranno pervenire in formato editabile (word, excel, txt, ecc...).

Le figure dovranno essere inviate oltre al formato originario anche in formato grafico (pdf, jpg, png, ecc...).

Lavori originali

I lavori originali saranno sottoposti a processo di "peer review". La lunghezza del testo non deve superare le 4.000 parole (esclusa la bibliografia)

ma incluso l'abstract, con un massimo di 4 figure o tabelle. Il frontespizio dovrà contenere:

- 1) Titolo
- 2) Autori e loro affiliazione
- 3) Nome e affiliazione dell'autore corrispondente.
 - **Sommario:** dovrà essere strutturato (premesse, obiettivi, metodi, risultati, conclusioni) e non dovrà superare le 250 parole.
 - **Parole chiave:** Si raccomanda di indicare 4-6 parole chiave.
 - **Testo:** Il corpo del testo dovrà comprendere: a) Introduzione b) Materiali e metodi c) Risultati d) Discussione e) Tavole f) Figure g) Bibliografia.

Bibliografia

Citazione di articoli su riviste: Es. 1: Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Familial hypercholesterolemia and coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 160: 421-429, 2004. Es. 2: Humphries SE, Whittall RA, Hubbart CS et al. Genetic causes of familial hypercholesterolemia in patients in the UK: a relation to plasma lipid levels and coronary heart disease risk. *J Med Genet* 43: 943-949, 2006

Citazioni di capitoli di libri Assmann G, von Eckardstein A, Brewer H. Familial anaphalipoproteinemia: Tangier disease. In "The metabolic and molecular bases of inherited disease", Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle I, eds, 8th ed. New York, McGraw-Hill, 2001; 2937-60.

Rassegne

Il frontespizio dovrà contenere:

- 1) Titolo;
- 2) Autori e loro affiliazione;
- 3) Nome e affiliazione dell'autore corrispondente.

La lunghezza del testo non deve superare di norma le 5.000 parole, incluso, sommario, glossario, e l'elenco puntato degli argomenti affrontati (bullet points). Il numero massimo di figure e tabelle è 5. Il numero massimo di voci bibliografiche è 50.

Le rassegne devono includere in appendice un questionario di auto-apprendimento relativo all'argomento affrontato nella rassegna.

- **Sommario:** non dovrà superare le 250 parole.
- **Parole chiave:** Si raccomanda di indicare 4-6 parole chiave.
- **Testo:** L'autore è invitato a suddividere la rassegna in capitoli e sotto-capitoli.

Al termine del testo è opportuno inserire un capitolo dedicato alle prospettive future con particolare riferimento agli aspetti clinico-applicativi.

Glossario: È uno strumento di comunicazione fortemente raccomandato.

Esso dovrebbe contenere una concisa ma esauriente spiegazione dei termini "nuovi o meno comuni" utilizzati nella rassegna. Qualora l'autore lo ritenga utile, al glossario può essere allegata una o più "finestre esplicative" dedicate ad argomenti a cui si fa riferimento nella rassegna e che non sono discussi in sufficiente dettaglio nel corpo del testo.

Elenco degli argomenti trattati: A conclusione della rassegna l'autore è invitato a fornire un conciso elenco puntato degli aspetti più rilevanti affrontati.

Bibliografia: Le citazioni bibliografiche dovranno essere numerate secondo l'ordine di comparsa nel testo. Le pubblicazioni citate dovranno contenere il nome di tutti gli autori (fino a un massimo di 4). Nel caso gli autori fossero più di quattro, si mette dopo il terzo autore la scritta et al.

Questionario di auto-apprendimento: Per ogni rassegna il questionario dovrà contenere 5-10 domande con risposta a scelta multipla.

Casi clinici

Si riferisce alla presentazione di un caso clinico, preparato su richiesta da medici esperti, che ha lo scopo di rafforzare standard di comportamento clinico, diagnostico e/o terapeutico, basati sulle evidenze.

Forum su Medicina, Scienza e Società

Si tratta di articoli brevi o lettere all'editore (1.500 parole) sollecitati ad esperti, riguardanti commenti e/o opinioni su temi di particolare attualità. Il testo non dovrà superare le 1.500 parole. Non è richiesto un sommario. Le voci bibliografiche non devono superare il numero di 10 e devono essere riportate come indicato per le rassegne.

NOTE PER GLI AUTORI

Il testo dell'articolo deve essere predisposto utilizzando il programma Microsoft Word per Windows o Macintosh. I dischetti devono riportare sull'apposita etichetta il nome del primo autore, il titolo abbreviato dell'articolo, il programma di scrittura e la versione, ed il nome del contenuto/file.

L'autore è tenuto ad ottenere l'autorizzazione di "Copyright" qualora riproduca nel testo tabelle, figure, microfotografie od altro materiale iconografico, già pubblicato altrove. Tale materiale illustrativo dovrà essere riprodotto con la dicitura "per concessione di..." seguito dalla citazione della fonte di provenienza.

PRESENTAZIONE DEL NUMERO

Per consentire la rapida acquisizione delle informazioni, viene fornito un breve riassunto degli articoli.

Update SISA

Ezetimibe: Efficacia, Sicurezza e Sostenibilità

Ezetimibe, inibitore selettivo dell'assorbimento intestinale degli steroli, riduce la colesterolemia LDL del 15-20% sia in monoterapia che in associazione con altri farmaci ipolipemizzanti, aggiunta alle statine nei pazienti ad alto rischio, riduce gli eventi ischemici cardiovascolari; per la sua tollerabilità è particolarmente utile nei pazienti con intolleranza alle statine; il suo rapporto costo-beneficio risulta sostenibile, tanto più che ne è **prossima la scadenza brevettuale**.

Focus

Epigenetica e Rischio in Età Pediatrica

Fattori genetici e ambientali possono interagire dando origine a modificazioni epigenetiche con anormale espressione fenotipica senza cambiamenti nella sequenza nucleotidica del DNA; la nutrizione materna è un importante modificatore del profilo epigenetico prima della nascita e l'ipercolesterolemia materna durante la gravidanza può causare ipercolesterolemia fetale, disfunzione endoteliale e formazione di lesioni aterosclerotiche primordiali.

Aggiornamento

La Sitosterolemia

La Sitosterolemia è un disordine genetico a trasmissione autosomica recessiva di 2 geni adiacenti sul cromosoma 2, *ABCG5* e *ABCG8*, la cui base fisiopatologica è rappresentata da un difetto della via metabolica che previene l'assorbimento intestinale e la ritenzione degli steroli vegetali (fitosteroli e fitostanoli)

nell'organismo; la sua prevalenza nella popolazione generale potrebbe aggirarsi intorno a 500/1.000.000, maggiore negli ipercolesterolemici con LDL-C ≥ 190 mg/dL; le manifestazioni cliniche sono variabili, simili, in alcuni casi, all'ipercolesterolemia familiare (FH) classica, in altri quasi asintomatiche.

Fisiopatologia della Placca

Effetto degli Anticorpi Anti-Pcsk9 sulla Placca Aterosclerotica

Gli anticorpi anti-PCSK9 riducono i livelli di colesterolo LDL ai valori più bassi mai raggiunti, con un buon profilo di sicurezza; il *GLAGOV trial* ha mostrato un effetto additivo sulla regressione della placca aterosclerotica rispetto al trattamento con statine; altri fattori, come il "plaque burden", il rimodellamento vasale e la composizione tissutale della placca contribuiscono al rischio cardiovascolare "residuo" nei pazienti con cardiopatia ischemica.

Medicina, Scienza e Società

L'Industria Farmaceutica nello Sviluppo di Nuovi Farmaci

Di recente ha colpito la notizia che Pfizer ha interrotto le ricerche nell'area delle patologie cerebrali, dopo l'insuccesso di un suo farmaco indirizzato al trattamento della malattia di Alzheimer; la stessa Pfizer, poco più di 10 anni fa, aveva interrotto gli studi nel settore cardiovascolare per il fallimento del torcetrapib nella terapia HDL. Quella farmaceutica è un'industria come tutte le altre, il cui successo si misura a Wall Street dove, dei 10 titoli con più forte capitalizzazione nel 2017, ben 9 sono Biotech.

Informiamo i lettori che, a partire da questo numero, gli *abstract* dei congressi regionali saranno pubblicati soltanto in formato elettronico, come supplemento al numero.



32°

CONGRESSO

NAZIONALE

S.I.S.A.

BOLOGNA 25/27.11.2018

SEDE CONGRESSUALE

Royal Hotel Carlton

Via Montebello, 8 • 40121 Bologna
Tel. 051 249361

SEGRETARIA S.I.S.A.



SOCIETÀ ITALIANA
PER LO STUDIO
DELL'ATEROSCLEROSI

V.le Maresciallo Pilsudski, 118
00197 Roma

Tel. 06 845431 • Fax 06 84543700
E-mail info@sisa.it • Web www.sisa.it

SEGRETARIA ORGANIZZATIVA



aristeia

V.le Maresciallo Pilsudski, 118
00197 Roma

Tel 06 845431 • Fax 06 84543700
E-mail roma@aristeia.com
Web www.aristeia.com



SOCIETÀ ITALIANA
PER LO STUDIO
DELL'ATEROSCLEROSI



www.sisa.it

UPDATE SISA

EZETIMIBE: EFFICACIA, SICUREZZA E SOSTENIBILITÀ ECONOMICA

Ezetimibe: efficacy, safety and economic sustainability

MATTEO PIRRO¹, MAURIZIO AVERNA², ALBERICO L. CATAPANO³, ENZO MANZATO⁴

¹U.O. Medicina Interna, Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Perugia;

²Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica (DIBIMIS),
Università degli Studi di Palermo;

³Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano
e IRCCS Multimedica, Milano;

⁴Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Padova

SUMMARY

Persistent elevations of plasma LDL cholesterol levels are one of the main causative factors of atherosclerosis and ischemic cardiovascular events. Different cholesterol-lowering interventions have been demonstrated to be effective in reducing cardiovascular risk both in primary and secondary prevention. Ezetimibe, a selective inhibitor of the intestinal absorption of sterols, reduces LDL cholesterol by approximately 15-20%, both as monotherapy and in combination with other lipid-lowering agents. The addition of ezetimibe to statin treatment in high-risk patients may promote a certain degree of regression of coronary atherosclerosis and a statistically significant reduction of the risk of future ischemic cardiovascular events. Furthermore, its high tolerability profile makes ezetimibe particularly useful for the treatment of patients with statin intolerance. In light of these data, the use of ezetimibe is recommended for cholesterol-lowering both in primary and secondary prevention, either alone or in combination with various statins. In addition, the continuous use of ezetimibe is mandatory in Italy in order to allow the reimbursement of the novel anti-PCSK9 antibodies. This obligation, enshrined in a special AIFA monitoring register, is motivated by the ezetimibe efficacy and safety data, the high costs of the anti-PCSK9 antibodies and, last but not least, by the favorable pharmacoeconomic estimates to the use of ezetimibe particularly in patients at higher cardiovascular risk. It is true, in fact, that in these patients the prolonged treatment with ezetimibe is associated with a fully sustainable cost-benefit ratio, especially since the patent expiration and, therefore, the sale costs of the generic molecule is next.

Keywords: *Ezetimibe; cholesterol; cardiovascular risk; prevention; atherosclerosis.*

Indirizzo per la corrispondenza

Matteo Pirro, MD, PhD
Unit of Internal Medicine
University of Perugia, Perugia, Italy
Hospital "Santa Maria della Misericordia"
Piazzale Menghini, 1 - 06129 Perugia
E-mail: matteo.pirro@unipg.it

Introduzione

Le malattie cardiovascolari (MCV) rappresentano la principale causa di morbilità e mortalità nel mondo (1) e l'aumento dei livelli plasmatici di cole-

sterolo contribuiscono in modo significativo a questo rischio (2). Il trattamento con statine, specie alle dosi più alte, può garantire riduzioni dei livelli di colesterolo LDL che superano, in alcuni casi, il 50%; a questo si accompagna un sensibile miglioramento della prognosi CV (2). Malgrado l'enorme successo ottenuto dal trattamento con statine nella prevenzione degli eventi ischemici cardiovascolari, un numero non irrilevante di pazienti continua ad avere livelli elevati di colesterolo LDL, rimanendo così a rischio di presentare un primo evento o una recidiva CV. Tale situazione è riconducibile a molteplici cause: latenza od inappropriately della prescrizione del farmaco ipocolesterolemizzante, scarsa aderenza e persistenza terapeutica, intolleranza farmacologica, difficoltà oggettiva a raggiungere obiettivi terapeutici ambiziosi per il colesterolo LDL (es. in pazienti a rischio CV alto o molto alto), livelli basali di colesterolo

estremamente elevati (es. ipercolesterolemia familiare) (3).

Ezetimibe è una molecola di sintesi capace di ridurre l'assorbimento intestinale del colesterolo inibendo l'attività della proteina trasportatrice Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) (4, 5). Numerosi studi pre-clinici e clinici hanno permesso di chiarire che la terapia con ezetimibe si accompagna ad una riduzione significativa dell'assorbimento intestinale del colesterolo, con una variabilità dovuta alla diversa suscettibilità genetica individuale (es. polimorfismi del gene *NPC1L1*) (6). L'inibizione ezetimibe-mediata di NPC1L1 si traduce mediamente in una riduzione del colesterolo LDL di circa il 15-20% (7, 8).

A dispetto dei risultati insoddisfacenti dei primi trial clinici che hanno esplorato l'effetto anti-aterosclerotico di ezetimibe in pazienti ipercolesterolemici con ispessimento medio-intimale carotideo di grado lieve, quest'ultima si è dimostrata capace di promuovere la regressione sia pur modesta dell'aterosclerosi coronarica in pazienti con coronaropatia aterosclerotica (9). È importante ricordare che l'azione ipocolesterolemizzante ed anti-aterosclerotica di ezetimibe è avvalorata dall'esito del trial clinico *Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial* (IMPROVE-IT). In questo studio multi-centrico internazionale, il trattamento con ezetimibe-simvastatina in pazienti ricoverati per una sindrome coronarica acuta ha determinato rispetto alla sola simvastatina un abbassamento progressivo dei livelli di colesterolo LDL ed un miglioramento della prognosi cardiovascolare (10, 11).

Nel complesso, ezetimibe si è dimostrata essere ben tollerata, tanto in monoterapia quanto nella terapia di associazione con le diverse statine. A supporto di questa conclusione, trials clinici randomizzati, *review* sistematiche e meta-analisi hanno

Punti chiave

- Ezetimibe inibisce l'assorbimento intestinale di colesterolo e steroli vegetali interagendo con la proteina trasportatrice Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1).
- Sia in monoterapia che in combinazione con le statine, ezetimibe esercita un'azione ipocolesterolemizzante stabile nel tempo e scevra da effetti indesiderati di rilievo.
- L'azione ipocolesterolemizzante di ezetimibe, seppure meno eclatante delle statine, si è dimostrata efficace nel ridurre la progressione della malattia aterosclerotica ed il rischio di eventi ischemici cardiovascolari.
- L'impatto favorevole di ezetimibe sugli *endpoint* clinici cardiovascolari è dimostrato solo quando somministrata in combinazione con la statina in pazienti in prevenzione secondaria.
- La sostenibilità economica dell'intervento con ezetimibe, sia in monoterapia che in associazione, è direttamente proporzionale al livello di rischio cardiovascolare del paziente trattato ed alla durata del trattamento stesso.

confermato che ezetimibe in monoterapia risulta meglio tollerata delle statine, mentre nella terapia di associazione con statina non produce effetti sfavorevoli aggiuntivi rispetto alla statina in monoterapia (12, 13). In virtù dell'ottimo profilo di tollerabilità e della buona efficacia ipocolesterolemizzante, il trattamento con ezetimibe è raccomandato sia in associazione al trattamento con statina nei pazienti con ipercolesterolemia familiare o non familiare, che in monoterapia nei pazienti che presentano intolleranza alle statine ed in quelli affetti da sitosterolemia. In aggiunta, la prescrizione continuativa di ezetimibe è obbligatoria in Italia per potere accedere alla rimborsabilità dei nuovi farmaci anti-PCSK9.

Un ulteriore aspetto su cui ezetimibe può avere un impatto rilevante è quello farmaco-economico. Una recente sottoanalisi a 7 anni dello studio IMPROVE-IT (14) ha mostrato che, in pazienti con recente

sindrome coronarica acuta, l'aggiunta di ezetimibe alla terapia con statine riduce in modo significativo il numero di ricoveri per cause cardiovascolari ed i costi ad essi associati; tale beneficio è più eclatante nei pazienti a più alto rischio. In una proiezione *life-time* dell'analisi dei costi correlati al trattamento con ezetimibe generata dai risultati dello studio IMPROVE-IT è emerso che la terapia d'associazione ezetimibe-statina risulta economicamente vantaggiosa rispetto alla monoterapia con la sola statina (15). È verosimile inoltre che l'impiego delle formulazioni generiche di ezetimibe nei pazienti ad alto rischio cardiovascolare produrranno un ulteriore vantaggio legato ai minori costi di trattamento, tanto da portare ad un risparmio netto dei sistemi sanitari.

Meccanismo d'azione

Ezetimibe è un inibitore selettivo dell'assorbimento intestinale del coleste-

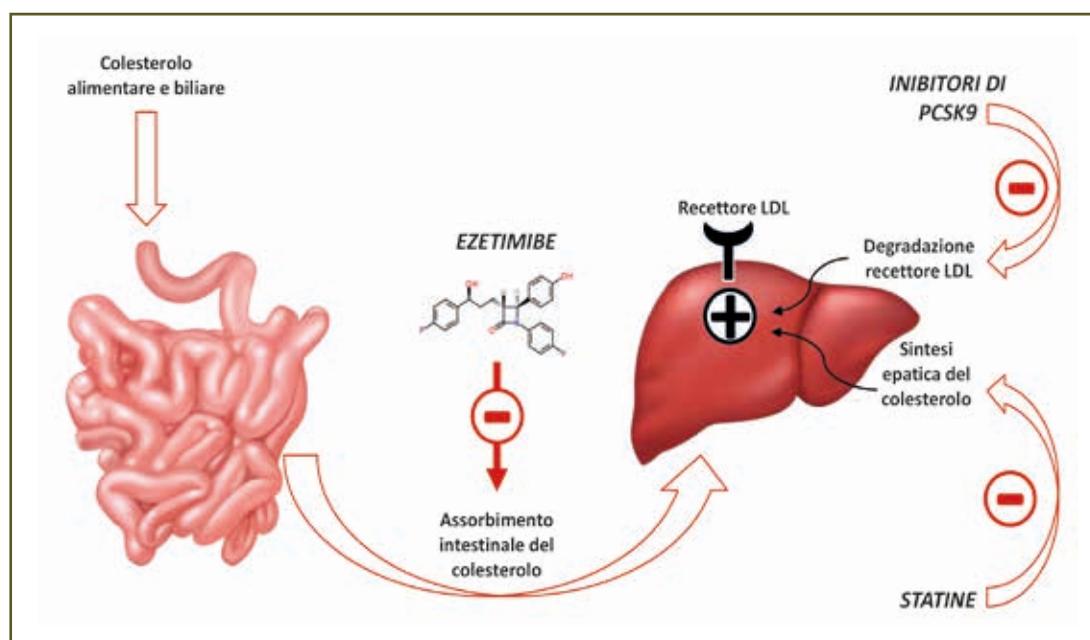


Figura I - Tappe principali del meccanismo di azione di ezetimibe, statine ed inibitori di PCSK9. L'effetto finale delle tre classi di farmaci è un incremento della disponibilità di recettori per le LDL.

rolo alimentare e biliare e degli steroli vegetali, che non influenza l'assorbimento di vitamine liposolubili, trigliceridi o acidi biliari (16). L'azione di ezetimibe si realizza localizzandosi a livello dell'orletto a spazzola degli enterociti dell'intestino tenue, dove esercita la sua azione di inibizione dell'assorbimento intestinale di colesterolo e steroli vegetali interagendo con la proteina trasportatrice NPC1L1 (*Figura 1*) (17, 18). A ciò consegue la riduzione del flusso di colesterolo che dall'intestino raggiunge il fegato, la deplezione dei depositi epatici di colesterolo, la aumentata espressione epatocitaria di recettori per le LDL e l'aumentata clearance del colesterolo circolante (19). Poiché l'azione di ezetimibe consiste principalmente nel limitare il circolo entero-epatico degli steroli, limitando in tal modo anche l'esposizione sistemica al colesterolo, gli effetti avversi del farmaco sono assai rari (20). In aggiunta all'azione ipocolesterolemizzante, sono stati ipotizzati possibili effetti pleiotropici di ezetimibe (21, 22).

Effetto ipolipemizzante

Ezetimibe, in monoterapia, riduce i livelli plasmatici di colesterolo LDL dal 7 al 18% (21). Una meta-analisi di 8 studi randomizzati controllati con placebo, che ha incluso oltre 2700 pazienti ipercolesterolemici, ha dimostrato che la monoterapia con ezetimibe 10 mg al giorno per un minimo di 12 settimane è in grado di ridurre la colesterolemia LDL mediamente del 18,5% rispetto al placebo (23). È da sottolineare, comunque, che può rilevarsi una certa variabilità inter-individuale nell'azione ipocolesterolemizzante del farmaco, probabilmente in relazione alla diversa espressione di varianti funzionali della proteina NPC1L1 (6). In effetti, sono stati identificati oltre 140 polimorfismi nel

gene *NPC1L1*, che in taluni casi possono condizionare le diverse risposte al trattamento con ezetimibe (6, 24). Ad esempio, sia Gazi et al. che Kalogirou et al. hanno potuto documentare ampie variazioni di efficacia di ezetimibe, che oscillano dal -45-60% al +11-13% (7,25). Da quanto detto è possibile dedurre l'esistenza di una gradualità di risposta ipocolesterolemizzante, che si traduce in pratica nella identificazione di soggetti "good responders" e "poor responders". La monoterapia con ezetimibe sembra esercitare anche una modesta azione sui livelli di colesterolo HDL, che solitamente aumentano dal 1% al 6%, seppure tale incremento non raggiunge in taluni casi il livello di significatività statistica (26). Dopo la somministrazione di ezetimibe i livelli plasmatici di trigliceridi diminuiscono generalmente tra il 2% ed il 9% (27). È da sottolineare che l'azione ipotrigliceridemizzante di ezetimibe è spesso maggiore in pazienti con elevati livelli plasmatici di trigliceridi a digiuno (21, 25).

Gli studi che hanno valutato l'efficacia ipolipemizzante di ezetimibe in combinazione con diverse statine hanno permesso di documentare due aspetti di rilievo:

- 1) ezetimibe è in grado di esercitare un'azione ipocolesterolemizzante additiva rispetto alla statina;
- 2) l'efficacia ipolipemizzante di ezetimibe in terapia d'associazione è generalmente superiore che in monoterapia (7, 8, 21).

Si è visto inoltre che in corso di monoterapia con ezetimibe l'assorbimento intestinale di colesterolo si riduce di oltre il 50%, mentre la sintesi di colesterolo tende ad aumentare (19), come dimostra, tra l'altro, l'incremento del rapporto la-tosterolo/colesterolo, generalmente impiegato come indicatore di attività della HMG-CoA reduttasi. È bene sottolineare che nonostante l'effetto inibitorio di ezeti-

mibe sull'assorbimento intestinale del colesterolo sia accompagnato da un aumento compensatorio della sintesi epatica del colesterolo, l'effetto netto del farmaco è ipocolesterolemizzante. Quando ezetimibe viene co-somministrato con una statina, l'aumento della sintesi epatica *de novo* di colesterolo risulta francamente contenuto. La riduzione ezetimibe-mediata dei livelli di colesterolo LDL dopo trattamento con ezetimibe in combinazione con una statina oscillano tra il 14% ed il 25%, mentre quelli di trigliceridi tra il 7% ed il 14% (28-30). Un dato di particolare rilievo è che l'impiego di ezetimibe in combinazione con una statina ad "intensità" d'azione moderata è in grado di produrre un effetto ipocolesterolemizzante analogo o addirittura superiore rispetto a quello prodotto da una statina ad elevata intensità. In aggiunta, la combinazione di ezetimibe con un anticorpo anti-PCSK9 ha dimostrato una efficacia ipocolesterolemizzante superiore rispetto ai singoli principi attivi. A conferma della documentata efficacia ipocolesterolemizzante di ezetimibe, il *National Institute of Care and Clinical Excellence* (NICE) ha pubblicato nel 2016 una linea guida all'uso di ezetimibe dal titolo "*Ezetimibe for Treating Primary Heterozygous-Familial and Non-Familial Hypercholesterolaemia*" (31). La combinazione ezetimibe-statina è stata raccomandata per il trattamento dei pazienti con ipercolesterolemia primaria (eterozigote familiare e non familiare) precedentemente trattati con statine e con colesterolemia non adeguatamente controllata:

- 1) dopo titolazione appropriata della terapia iniziale con statine;
- 2) per impossibilità di titolare in modo adeguata la terapia con statina per effetti indesiderati;
- 3) qualora sia stata programmata una va-

riazione dello schema di trattamento ipocolesterolemizzante.

Ezetimibe in monoterapia è stata raccomandata per il trattamento dell'ipercolesterolemia primaria (eterozigote familiare e non familiare) in pazienti con controindicazioni alla terapia con statine, o in pazienti con intolleranza accertata alle statine.

Ezetimibe è in grado di ridurre efficacemente i livelli plasmatici di steroli vegetali in pazienti con sitosterolemia (32), un disordine autosomico recessivo sostenuto da mutazioni dei geni che codificano per i trasportatori ABC (ABCG5 e ABCG8); questi ultimi controllano l'escrezione enterocitaria del colesterolo libero nel lume intestinale e quella epatocitaria nella bile (33). In pazienti ipercolesterolemici non sitosterolemici, l'assunzione di ezetimibe per 2 settimane ha determinato la riduzione dei livelli plasmatici di sitosterolo e campesterolo rispettivamente del 41% e del 48% (34).

In aggiunta a quanto riportato, sembra che la monoterapia con ezetimibe sia in grado di influenzare favorevolmente la distribuzione delle sotto-frazioni delle LDL, riducendo in particolare il numero di LDL piccole e dense. Tale effetto è più evidente in pazienti con trigliceridemia elevata, mentre sembra attenuarsi nella terapia di combinazione ezetimibe-statina (7). Infine, ezetimibe in monoterapia può promuovere la riduzione dei livelli di apolipoproteina B del 10-15% (7, 27) e l'aumento di quelli di apolipoproteina AI del 2-6% (25).

È importante sottolineare che l'attività ipolipemizzante di ezetimibe è stata confermata in svariati setting clinici (ipercolesterolemia poligenica, ipercolesterolemia familiare, diabete, sindrome metabolica, ipercolesterolemia secondaria in pazienti HIV positivi, ecc.). Ciò a conferma della consistenza dell'effetto ipolipemizzante di questa molecola.

Efficacia anti-aterosclerotica

Studi condotti in modelli animali prone allo sviluppo di aterosclerosi (es. knockout per ApoE), alimentati con dieta arricchita in colesterolo, hanno dimostrato che ezetimibe è in grado di inibire l'assorbimento intestinale del colesterolo di oltre il 90% e di ridurre efficacemente i livelli plasmatici di colesterolo, chilomicroni e VLDL fino al 87% (35). In aggiunta agli effetti ipolipemizzanti, nei topi ApoE knockout, ezetimibe si è dimostrata efficace nel rallentare la progressione dell'aterosclerosi aortica e carotidea (36).

Gli effetti vascolari di ezetimibe sulla progressione dell'aterosclerosi sono stati studiati mediante la misurazione ecografica dello spessore medio-intimale carotideo (CIMT) in diversi trial clinici (37-39). Nello studio *Ezetimibe and Simvastatin in Hypercholesterolemia Enhances Atherosclerosis Regression* (ENHANCE), la terapia di associazione simvastatina 80 mg ed ezetimibe 10 mg, somministrata per 24 mesi in pazienti con ipercolesterolemia familiare (FH) eterozigote (37), pur riducendo il colesterolo LDL del 55,6% (vs -39,1% nel braccio simvastatina 80 mg), non è stata sufficiente a garantire una riduzione significativa del CIMT. È da sottolineare, tuttavia, che il CIMT basale dei pazienti arruolati nello studio ENHANCE era basso (0,70 mm) e che questi assumevano cronicamente una terapia statinica già prima dell'inizio dello studio; questi aspetti potrebbero avere contribuito a generare una sorta di resistenza vascolare al prolungamento ed alla intensificazione del trattamento ipocolesterolemizzante. I risultati degli studi *Atorvastatin versus Simvastatin on Atherosclerosis Progression* (ASAP) e *Carotid Atorvastatin Study in Hyperlipidemic Postmenopausal Women* (CASHMERE) con atorvastati-

na supportano queste ultime conclusioni (40,41). Nello studio *Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol 6 - HDL and LDL Treatment Strategies* (ARBITER 6 - HALTS), ezetimibe, pur confermando la propria efficacia ipocolesterolemizzante (colesterolo LDL -19%), non è riuscita a ridurre in maniera significativa lo spessore medio-intimale carotideo in pazienti con malattia coronarica o equivalenti di malattia coronarica, colesterolo LDL <100 mg/dL e bassi livelli di colesterolo HDL (42). La durata limitata dello studio (interrotto precocemente dopo 14 mesi di follow-up), i livelli basali relativamente bassi di colesterolo LDL e la pregressa terapia "aggressiva" con statine per circa 6 anni prima dell'arruolamento nello studio potrebbero avere contribuito a spiegare l'effetto neutro di ezetimibe sul CIMT.

Nello studio *Stop Atherosclerosis in Native Diabetics Study* (SANDS), pazienti diabetici con anamnesi negativa per eventi cardiovascolari (43, 44) sono stati randomizzati al trattamento aggressivo del colesterolo (target LDL <70 mg/dL) e della pressione arteriosa sistolica (<115 mmHg) o alla terapia standard con target LDL <100 mg/dL e pressione arteriosa sistolica <130 mmHg. Ezetimibe è stato aggiunto alla terapia con statina nei pazienti che non raggiungevano gli obiettivi per il colesterolo LDL. Nel gruppo randomizzato al trattamento aggressivo, la colesterolemia LDL è stata ridotta allo stesso modo nei pazienti che ricevevano statina più ezetimibe (-31 mg / dL) o statina in monoterapia (-32 mg/dL). Partendo da un CIMT basale medio di 0,81 mm, nel gruppo assegnato alla terapia standard si è osservata la progressione del CIMT di +0,039 mm, mentre nel gruppo trattato in modo aggressivo si è registrata una regressione del CIMT rispetto al basale

sia nei pazienti che ricevevano ezetimibe (-0,025 mm) che in quelli che ricevevano la statina in monoterapia (-0,012 mm). Questo studio ha permesso di dimostrare che, a parità di riduzione della colesterolemia, l'intervento aggressivo con statina e la combinazione statina-ezetimibe risultano parimenti efficaci nel promuovere la regressione dell'aterosclerosi carotidea.

Lo studio *Vytorin on Carotid-Media Thickness and Overall Arterial Rigidity* (VYCTOR) (45) ha randomizzato 90 pazienti con malattia coronarica a pravastatina 40 mg/die ± ezetimibe 10 mg/die, simvastatina 40-80 mg/die o simvastatina 20-40 mg/die ± ezetimibe 10 mg/die. Dopo 1 anno di terapia, è stata registrata una riduzione significativa del colesterolo LDL e dello spessore medio-intimale carotideo in tutti e tre i gruppi di trattamento. In definitiva, sembra che il trattamento con ezetimibe risulti efficace nel promuovere la regressione della aterosclerosi carotidea a patto che la colesterolemia basale e lo spessore medio-intimale carotideo di partenza siano effettivamente aumentati.

Nello studio *Plaque Regression with Cholesterol absorption Inhibitor or Synthesis inhibitor Evaluated by IntraVascular UltraSound* (PRECISE-IVUS), rispetto alla monoterapia con atorvastatina, la combinazione atorvastatina-ezetimibe ha ridotto maggiormente i livelli di colesterolo LDL ed il volume delle placche coronariche evidenziate mediante IVUS (9). I risultati di questo studio supportano ancora una volta l'efficacia anti-aterosclerotica di ezetimibe nei pazienti che abbiano evidenza conclamata di danno aterosclerotico.

Impatto sul rischio cardiovascolare

L'impatto del trattamento con ezetimibe su end-point cardiovascolari è stato

valutato in diversi trial clinici. Nello studio *Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis* (SEAS), 1873 pazienti con stenosi valvolare aortica da lieve a moderata senza indicazione alla terapia ipolipemizzante sono stati randomizzati a ricevere ezetimibe 10 mg/die più simvastatina 40 mg/die o placebo (46). Dopo 4 anni di trattamento attivo, la terapia combinata statina-ezetimibe ha ridotto il colesterolo LDL del 61% rispetto al placebo. Seppure non sia stata documentata una differenza significativa nell'end-point primario composito (necessità di intervento chirurgico sulla valvola aortica ed eventi cardiovascolari), l'associazione terapeutica ha determinato una riduzione significativa del rischio di infarto miocardico fatale e non fatale (-41%); tale riduzione, evidente nei soggetti con stenosi aortica meno grave, è risultata essere proporzionale all'entità della riduzione della colesterolemia LDL (47).

Il trial clinico *Study of Heart and Renal Protection* (SHARP) ha confermato l'effetto protettivo cardiovascolare della combinazione statina-ezetimibe (48). In questo studio, pazienti con malattia renale cronica (per 2/3 non in dialisi) sono stati randomizzati al trattamento con simvastatina 20 mg/die più ezetimibe 10 mg/die o placebo. Dopo 5 anni di terapia, la terapia di combinazione, rispetto al placebo, ha fatto registrare una riduzione significativa del 17% dei principali eventi aterosclerotici, proporzionale alla riduzione della colesterolemia LDL.

Nel più recente studio IMPROVE-IT, il trattamento con ezetimibe 10 mg/die più simvastatina 40 mg/die in pazienti con recente sindrome coronarica acuta ha ridotto in maniera significativa i livelli di colesterolo LDL, non-HDL e trigliceridi (10). Rispetto alla monoterapia con simvastatina, la terapia di associazione statina-ezetimibe ha determinato

la riduzione significativa dell'end-point primario composito dello studio (morte cardiovascolare, infarto miocardico non fatale, angina instabile con necessità di ricovero, rivascolarizzazione coronarica dopo 30 o più giorni dalla randomizzazione, o ictus non fatale). È importante ricordare quanto emerso da una recente sotto-analisi dello studio IMPROVE-IT (11): nei pazienti trattati con simvastatina-ezetimibe che raggiungevano ad un mese dalla randomizzazione un livello di colesterolo LDL inferiore a 30 mg/dL, la riduzione dell'end-point primario è stata più rilevante rispetto a quella osservata nei pazienti con livelli di colesterolo LDL in corso di terapia superiori a 70 mg/dL (hazard ratio aggiustato 0,79; IC 95% 0,69-0,91; P=0,001). Ciò sottolinea ancora una volta la linearità della relazione tra riduzione della colesterolemia e riduzione del rischio cardiovascolare, nonché l'effetto benefico aggiuntivo esercitato dall'aggiunta di ezetimibe al trattamento con la sola statina. Un ulteriore aspetto da sottolineare è che l'azione protettiva cardiovascolare di ezetimibe in prevenzione secondaria risulta sovrapponibile nei due sessi (49) e si mantiene nella popolazione diabetica, indipendentemente dal livello di rischio del paziente (50). Dall'analisi dei sotto-gruppi dei pazienti dello studio IMPROVE-IT è emerso che l'efficacia protettiva di ezetimibe non sembra confermarsi nei pazienti con pregressa sindrome coronarica acuta non diabetici ed a più basso rischio di recidiva di eventi cardiovascolari (50). Alla luce di quest'ultimo dato, dei limiti statistici generati da una analisi *post-hoc* e della mancanza di dati di *outcome* su end-point cardiovascolari in popolazioni trattate con ezetimibe in prevenzione primaria, è auspicabile la programmazione di trials *ad hoc* finalizzati ad estendere e confermare in modo ine-

quivocabile l'azione protettiva sul rischio cardiovascolare di ezetimibe anche nei pazienti a rischio cardiovascolare basso o moderato. I risultati di una recente analisi di randomizzazione mendeliana sembrano supportare la generalizzabilità dell'effetto protettivo cardiovascolare di ezetimibe. A tale riguardo, Ference et al. (51) hanno valutato l'associazione tra le variazioni di colesterolo prodotte dalle varianti funzionali geniche di *NPC1L1* (target di ezetimibe) e *HMGCoA reduttasi* (target delle statine) e la riduzione degli eventi ischemici coronarici. Gli Autori hanno potuto osservare che l'impatto della riduzione del colesterolo LDL sul rischio di malattia coronarica mediato dai polimorfismi dei due geni in esame è stato pressoché sovrapponibile. I polimorfismi di *NPC1L1*, riducendo in media di 2,4 mg/dL i livelli di colesterolo LDL hanno prodotto una riduzione consensuale del rischio ischemico del 4,8%. Analogamente, i polimorfismi della *HMGCoA reduttasi*, riducendo il colesterolo LDL di 2,9 mg/dL, hanno ridotto il rischio ischemico del 5,3%. La coesistenza di polimorfismi in entrambi i geni ha comportato un effetto ipocolesterolemizzante additivo (5,8 mg/dL) ed una riduzione del rischio ischemico coronarico del 10,8% (51). I risultati di questo studio suggeriscono che l'inibizione di *NPC1L1* (bersaglio di ezetimibe) è cardio-protettiva e che la riduzione del rischio cardiovascolare associata alla riduzione della colesterolemia ottenuta inibendo *NPC1L1* è paragonabile a quella che si produce attraverso l'inibizione della *HMGCoA reduttasi* (bersaglio delle statine).

Un ultimo aspetto che merita di essere sottolineato è che la capacità di ezetimibe di ridurre il rischio di eventi cardiovascolari rispetto al placebo in pazienti con sindrome coronarica acuta è stata

ottenuta su un background di terapia con simvastatina (simvastatina+ezetimibe *vs* simvastatina+placebo). Se è vero che questo modello di trial permette di estrapolare conclusioni relative all'efficacia ipocolesterolemizzante e cardio-protettiva di ezetimibe, è anche vero che, idealmente, un trial di confronto tra ezetimibe in monoterapia e placebo fornirebbe una risposta incontrovertibile sulla capacità di ezetimibe di influenzare favorevolmente il rischio cardiovascolare. Visto che il beneficio clinico offerto dalla terapia con statine è ormai più che consolidato, ad oggi non è pensabile la realizzazione di un trial di intervento ipocolesterolemizzante in prevenzione secondaria che non preveda l'impiego di una statina come background di terapia in tutti i partecipanti al trial. È altresì difficile da immaginare la realizzazione di un trial di prevenzione primaria che confronti ezetimibe al placebo in assenza di trattamento con statina, per le prevedibili difficoltà (es. costi, numero di centri coinvolti, durata del trial, raggiungimento del numero adeguato di eventi, scelta dei livelli di partenza di colesterolo LDL, ecc.) a reperire un campione di studio sufficientemente numeroso a garantire una potenza statistica accettabile.

Alla luce della comprovata efficacia ipocolesterolemizzante e sicurezza di ezetimibe, unitamente alla documentata capacità di potenziare l'azione anti-aterosclerotica e cardio-protettiva delle statine, la prescrizione continuativa di ezetimibe costituisce oggi in molti Paesi un requisito necessario per la rimborsabilità della nuova classe di anticorpi monoclonali anti-PCSK9.

Sicurezza

La sicurezza di ezetimibe in monoterapia od in combinazione con altri farmaci ipolipemizzanti, in particolare le statine, è

adeguatamente documentata e confermata in numerosi trial clinici e meta-analisi (13, 23, 52). Il rischio di presentare un incremento significativo (oltre tre volte il limite superiore di normalità) delle transaminasi in corso di trattamento con ezetimibe in monoterapia è sovrapponibile a quello che si osserva con il placebo (53). Analogamente, nella terapia di combinazione con le statine, ezetimibe non causa aumenti significativi degli enzimi epatici rispetto alla monoterapia con statina (13). Il rischio di insufficienza epatica in corso di trattamento con ezetimibe è un'evenienza assai rara (54). Se è vero che il rischio di mialgia con o senza miosite sono relativamente frequenti in corso di trattamento con statine (55), l'ezetimibe in monoterapia o l'aggiunta di ezetimibe alla statina non sembra aumentare l'incidenza di miopatia (12).

Lo studio SEAS ha mostrato che, rispetto al gruppo di controllo, il trattamento con ezetimibe era associato ad un incremento del rischio neoplastico. Tuttavia, una successiva meta-analisi condotta da Peto et al., includendo oltre 20.000 pazienti reclutati negli studi IMPROVE-IT e SHARP, non ha documentato differenze significative nel rischio di cancro tra la combinazione simvastatina-ezetimibe e la statina in monoterapia (56). L'effetto neutro di ezetimibe sul rischio neoplastico è stato confermato anche in trials ed analisi post-marketing successive (11, 57).

Infine, mentre il trattamento con statine si può accompagnare ad un aumento dei nuovi casi di diabete, l'aggiunta di ezetimibe alla statina non comporta un ulteriore incremento di questo rischio (58).

In definitiva, il profilo di tollerabilità di ezetimibe è eccellente ed il rischio di presentare eventi avversi associati al trattamento anche prolungato con questo farmaco è trascurabile. A conferma

dell'ottimo profilo di sicurezza del farmaco, ezetimibe è indicata anche nel trattamento dei pazienti con colesterolemia elevata ed intolleranza ad altri provvedimenti terapeutici ipocolesterolemizzanti. A tale riguardo, va ricordato che in quest'ultima categoria di pazienti, così come anche nei soggetti a più basso rischio cardiovascolare con modesti incrementi della colesterolemia LDL, è uso relativamente comune la prescrizione medica e talora la autoprescrizione da parte del paziente di nutraceutici singoli o combinazioni precostituite di nutraceutici. Se è vero che per alcuni preparati nutraceutici ci sono dati che ne supportano il possibile impiego clinico in specifiche categorie di pazienti (59-62), è altrettanto vero che esistono dei limiti all'uso generalizzato ed incontrollato dei nutraceutici oltre che situazioni in cui il loro impiego è sconsigliato; si rimanda a tale riguardo ad un recente Position Statement sull'argomento (59, 60). Alla luce di questi ultimi elementi, del profilo di efficacia ipocolesterolemizzante ed anti-aterosclerotica di ezetimibe e della sua indubbia tollerabilità a lungo termine, supportati tra l'altro da una quantità di trials clinici multicentrici di dimensioni certamente superiori rispetto a quelli che hanno testato le diverse preparazioni nutraceutiche, è immaginabile un maggiore impiego di ezetimibe nelle condizioni oggi trattabili con un nutraceutico con dimostrata efficacia ipocolesterolemizzante. In aggiunta, sebbene la letteratura abbia fornito dati ancora preliminari (61, 62), è altrettanto plausibile l'ipotesi di combinare ezetimibe con un nutraceutico contenente basse dosi di monacolina K. Tale opzione terapeutica, ancorché farmacologicamente ammissibile ed efficace (61, 62), necessita tuttavia di una più ampia sperimentazione clinica.

Sostenibilità economica

Se è vero che il trattamento con ezetimibe risulta essere efficace nel ridurre la colesterolemia ed il rischio cardiovascolare e non produce effetti indesiderati di rilievo, è tuttora oggetto di discussione se il trattamento con ezetimibe in monoterapia o in associazione con le statine sia economicamente vantaggioso. A tale riguardo esistono alcune simulazioni farmaco-economiche che hanno valutato il rapporto costo-efficacia dell'impiego di ezetimibe nel trattamento dei pazienti con colesterolemia elevata.

Ad esempio, i costi della monoterapia a lungo termine con ezetimibe sono stati valutati in pazienti con malattia cardiovascolare accertata intolleranti al trattamento con statine o nei quali queste erano controindicate (63). Trattandosi di una analisi condotta prima che si conoscesse l'impatto della terapia con ezetimibe sugli *outcome* cardiovascolari, sono stati usati come indicatori di esito clinico la variazione dei livelli lipidici indotte da ezetimibe o dal placebo.

Dalla meta-analisi di 7 studi clinici controllati con placebo è emerso che ezetimibe è in grado di ridurre il colesterolo LDL mediamente del 18,5%. Si è stimato, inoltre, che ezetimibe in monoterapia sarebbe potenzialmente capace di prevenire 49 infarti miocardici non fatali, 11 ictus non fatali e 37 morti cardiovascolari in una coorte di 1.000 pazienti di 55 anni con un livello basale di colesterolo LDL pari a 155 mg/dL (63). Gli eventi cardiovascolari evitati dal trattamento con ezetimibe sarebbero responsabili di un guadagno netto di 211 anni di vita corretti per la qualità (QALY) in un *range* temporale di 45 anni. Nello scenario simulato, il rapporto incrementale di costo-efficacia (ICER) è risultato essere pari a circa 23.000 sterli-

ne (33.600 €, cambio del 2006) per QALY, mentre nello scenario di pazienti trattati con livelli basali di colesterolo LDL superiori a 175 mg/dL il rapporto costo-efficacia è risultato essere inferiore a 20.000 sterline per QALY. In entrambe gli scenari i suddetti valori economici sono risultati ammissibili.

Una recente sottoanalisi a 7 anni dello studio IMPROVE-IT (14) ha mostrato che la combinazione ezetimibe-simvastatina in pazienti con una recente sindrome coronarica acuta è in grado di ridurre il numero di ricoveri per cause cardiovascolari ed i costi correlati; il beneficio prodotto dall'aggiunta di ezetimibe alla statina è direttamente proporzionale al livello di rischio del paziente trattato.

In una ulteriore analisi a 5 e 10 anni dei costi correlati al trattamento con ezetimibe, la terapia combinata ezetimibe-simvastatina non è risultata conveniente in termini di rapporto costo-efficacia; tuttavia, nella proiezione *life-time* dell'analisi dello studio IMPROVE-IT è emerso che la combinazione ezetimibe-simvastatina risulta economicamente vantaggiosa rispetto alla monoterapia con la sola statina (15). Davies et al. (64) hanno valutato il rapporto costo-efficacia prodotto dall'aggiunta di ezetimibe alle statine in pazienti di età compresa tra 35 e 74 anni con anamnesi di cardiopatia ischemica e/o ictus e colesterolo LDL \geq 70 mg/dL. Questo scenario di base è stato utilizzato per l'analisi *lifetime* del rapporto costo-efficacia, partendo dal costo statunitense attuale dei farmaci studiati ed assumendo una riduzione ipotetica del 90% del prezzo di ezetimibe dopo 1 anno dall'inizio del trattamento; quest'ultima assunzione è stata motivata dall'imminente scadenza del brevetto di ezetimibe. L'aggiunta di ezetimibe alla statina ha determinato un ICER di 9.149 dollari per QALY per lo

scenario di base. Per i pazienti con livelli di colesterolo LDL \geq 100 mg/dL l'ICER ha raggiunto 839 dollari/QALY, mentre per quelli con diabete e livelli di colesterolo LDL \geq 70 mg/dL è sceso a 560 dollari/QALY. Gli autori hanno così concluso che, rispetto alla monoterapia con statine, l'aggiunta di ezetimibe ai costi attuali e previsti è conveniente per la prevenzione secondaria della cardiopatia ischemica e dell'ictus e per la prevenzione primaria di queste condizioni in pazienti i cui livelli di colesterolo LDL siano \geq 100 mg/dL e nei pazienti con diabete. Risultati analoghi sono stati confermati in una recente analisi farmaco-economica norvegese che ha confrontato diversi scenari di trattamento con ezetimibe ed anticorpi anti-PCSK9 sia in prevenzione primaria che secondaria (65).

Sulla base dei dati disponibili, è ipotizzabile che anche in Italia la scadenza brevettuale di ezetimibe e la conseguente riduzione del prezzo di vendita del farmaco potranno compensare i costi legati al trattamento, tanto da portare ad un risparmio netto del sistema sanitario.

Conclusioni

Il trattamento con ezetimibe, sia in monoterapia che in associazione con statine, rappresenta una modalità di intervento con documentata efficacia e sicurezza. La riduzione della colesterolemia LDL, seppure di entità inferiore rispetto a quella prodotta dalle diverse statine, è stabile nel tempo e, soprattutto, risulta additiva rispetto a quella delle statine alle diverse dosi impiegate. L'effetto ipocolesterolemizzante di ezetimibe è risultato additivo anche rispetto agli inibitori di PCSK9. Per di più, l'entità della riduzione del rischio di eventi ischemici cardiovascolari determinata dal trattamento con ezetimibe in

prevenzione secondaria è perfettamente in linea con quanto prevedibile sulla base dell'efficacia ipocolesterolemizzante del farmaco. Questi dati rendono ragione delle raccomandazioni formulate dalle principali società scientifiche in merito alla opportunità della prescrizione di ezetimibe per il trattamento della colesterolemia elevata in prevenzione secondaria. Resta ancora da chiarire se l'azione protettiva di ezetimibe sugli *outcome* clinici cardiovascolari sia mantenuta anche in prevenzione primaria. Seppure l'impatto favorevole di ezetimibe sugli eventi ischemici cardiovascolari sia documentato solo per la combinazione ezetimibe-statina, il NICE ritiene che sia legittimo estrapolare l'effetto cardio-protettivo della combinazione ezetimibe-statina alla monoterapia con ezetimibe.

In aggiunta a quanto affermato, il trattamento con ezetimibe non è gravato da effetti indesiderati che possano limitarne la *compliance* e la persistenza terapeutica. Non a caso, l'impiego di ezetimibe è raccomandato dalle principali linee guida e società scientifiche come trattamento di scelta per i pazienti con effetti indesiderati da statine. A tale riguardo, è opportuno ricordare che in questo ambito clinico (intolleranza alle statine), ma anche nei pazienti a più basso rischio cardiovascolare e con incrementi modesti della colesterolemia LDL, hanno trovato largo impiego negli ultimi anni diverse formulazioni nutraceutiche, studiate per lo più in trials clinici monocentrici e di dimensioni limitate. I trials in questione hanno impiegato spesso preparati nutraceutici contenenti monacolina K a bassa dose, dimostrando talora un'efficacia ipocolesterolemizzante leggermente superiore a quella di ezetimibe. Tuttavia, esistono diversi limiti all'uso generalizzato dei nutraceutici, specie se questo non è gesti-

to e monitorato dal medico. Alla luce di questi ultimi limiti, della grande mole di dati di efficacia ipocolesterolemizzante e tollerabilità di ezetimibe e della documentata azione protettiva del farmaco sul rischio cardiovascolare, seppure solo in prevenzione secondaria, è immaginabile che la scadenza brevettuale di ezetimibe e la concomitante riduzione dei costi di trattamento possano giustificare un maggiore impiego di ezetimibe in queste categorie di pazienti.

I dati di efficacia e sicurezza relativi al trattamento con ezetimibe sono avvalorati anche da una serie di stime farmaco-economiche che hanno permesso di validarne la sostenibilità, con rapporti costo-efficacia tanto più favorevoli quanto maggiore è il rischio cardiovascolare teorico del paziente trattato. Alla luce della recente immissione in commercio degli anticorpi monoclonali anti-PCSK9, la cui efficacia è indiscutibile ma i cui costi di gestione sono particolarmente elevati, la necessità di potenziare l'efficacia ipocolesterolemizzante delle statine con ezetimibe prima di ricorrere all'anticorpo anti-PCSK9 assume un ruolo di assoluta rilevanza clinica e farmaco-economica. Ciò è testimoniato, ad esempio, dall'obbligo disposto dalle autorità regolatorie di garantire la prescrizione continuativa di ezetimibe prima di potere accedere alla rimborsabilità degli anticorpi anti-PCSK9.

Nel complesso, il profilo di efficacia e tollerabilità di ezetimibe, unitamente alle prerogative farmaco-economiche certamente più favorevoli dopo la scadenza brevettuale del farmaco, lasciando intravedere una prevedibile maggiore diffusione d'uso di ezetimibe sia in monoterapia che in associazione, sono elementi che potranno consentire un ulteriore affinamento delle strategie di prevenzione cardiovascolare oggi attuabili.

RIASSUNTO

Livelli plasmatici di colesterolo LDL persistentemente elevati rappresentano uno dei principali fattori causali della aterosclerosi e delle sequele ischemiche che ad essa possono associarsi. Diverse modalità di intervento ipocolesterolemizzante si sono rivelate efficaci nel ridurre il rischio cardiovascolare in prevenzione primaria e secondaria. Ezetimibe, un inibitore selettivo dell'assorbimento intestinale degli steroli, è in grado di ridurre la colesterolemia LDL del 15-20%, sia in monoterapia che in associazione con altri farmaci ipolipemizzanti. Inoltre, l'aggiunta di ezetimibe al trattamento con statine in pazienti ad alto rischio può favorire un certo grado di regressione della coronaropatia aterosclerotica e degli eventi ischemici cardiovascolari. L'alto profilo di tollerabilità di ezetimibe la rende particolarmente utile per il trattamento dei pazienti con intolleranza alle statine. Alla luce del suo profilo di efficacia e sicurezza, l'impiego di ezetimibe è raccomandato per ridurre la colesterolemia in prevenzione primaria e secondaria, in monoterapia ed in combinazione con le diverse statine. In aggiunta, l'impiego continuativo di ezetimibe è obbligatorio in Italia per potere accedere alla rimborsabilità dei nuovi anticorpi anti-PCSK9. Tale obbligo, sancito da un apposito registro di monitoraggio AIFA, è motivato oltre che dai citati dati di efficacia e sicurezza, dai costi elevati degli anticorpi anti-PCSK9 e, non da ultimo, dalle stime farmaco-economiche favorevoli all'uso di ezetimibe soprattutto nei pazienti a maggiore rischio cardiovascolare. È vero infatti che in questi pazienti l'assunzione prolungata di ezetimibe si associa ad un rapporto costo-beneficio pienamente sostenibile, tanto più che è prossima la scadenza brevettuale e, quindi, il costo di vendita della molecola in formulazione generica.

Parole chiave: Ezetimibe; colesterolo; rischio cardiovascolare; prevenzione; aterosclerosi.

Bibliografia

1. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al. Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2016;133: 447-454.
2. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al. ESC Scientific Document Group. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016;37: 2999-3058.
3. Ferrari R, Aguiar C, Alegria E, et al. Current practice in identifying and treating cardiovascular risk, with a focus on residual risk associated with atherogenic dyslipidaemia. *Eur Heart J Suppl*. 2016; 18 (Suppl. C): C2-C12.
4. Phan BA, Dayspring TD, Toth PP. Ezetimibe therapy: mechanism of action and clinical update. *Vasc Health Risk Manag*. 2012; 8: 415-427.
5. Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. Strategies for the use of nonstatin therapies. *Curr Opin Lipidol*. 2017; 28: 458-464.
6. Simon JS, Karnoub MC, Devlin DJ, et al. Sequence variation in NPC1L1 and association with improved LDL-cholesterol lowering in response to ezetimibe treatment. *Genomics*. 2005; 86: 648-656.
7. Kalogirou M, Tsimihodimos V, Gazi I, et al. Effect of ezetimibe monotherapy on the concentration of lipoprotein subfractions in patients with primary dyslipidaemia. *Curr Med Res Opin*. 2007; 23: 1169-1176.
8. Meyers CD, Moon YS, Ghanem H, Wong ND. Type of preexisting lipid therapy predicts LDL-C response to ezetimibe. *Ann Pharmacother*. 2006; 40: 818-823.
9. Tsujita K, Sugiyama S, Sumida H, et al. PRECISE-IVUS Investigators. Impact of Dual Lipid-Lowering Strategy With Ezetimibe and Atorvastatin on Coronary Plaque Regression in Patients With Percutaneous Coronary Intervention: The Multicenter Randomized Controlled PRECISE-IVUS Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 6: 495-507.
10. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. IMPROVE-IT Investigators. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015. 372: 2387-2397.
11. Giugliano RP, Wiviott SD, Blazing MA, et al. Long-term Safety and Efficacy of Achieving Very Low Levels of Low-Density Lipoprotein Cholesterol: A Prespecified Analysis of the IMPROVE-IT Trial. *JAMA Cardiol*. 2017, 2: 547-555.
12. Kashani A, Sallam T, Bheemreddy S, et al. Review of side-effect profile of combination ezetimibe and statin therapy in randomized clinical trials. *Am J Cardiol*. 2008; 101: 1606-1613.

13. Luo L, Yuan X, Huang W, et al. Safety of coadministration of ezetimibe and statins in patients with hypercholesterolaemia: a meta-analysis. *Intern Med J.* 2015; 45: 546-557.
14. Pokharel Y, Chinnakondapalli K, Vilain K, et al. Impact of Ezetimibe on the Rate of Cardiovascular-Related Hospitalizations and Associated Costs Among Patients With a Recent Acute Coronary Syndrome: Results From the IMPROVE-IT Trial (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial). *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2017; 10.
15. Almalki ZS, Guo JJ, Alahmari A, et al. Cost-effectiveness of Simvastatin Plus Ezetimibe for Cardiovascular Prevention in Patients with a History of Acute Coronary Syndrome: Analysis of Results of the IMPROVE-IT Trial. *Heart Lung Circ pii:* 2017, S1443-9506(17)31261-1.
16. Sudhop T, Reber M, Tribble D, et al. Changes in cholesterol absorption and cholesterol synthesis caused by ezetimibe and/or simvastatin in men. *J Lipid Res.* 2009; 50: 2117-2123.
17. Altmann SW, Davis HR Jr, Zhu LJ, et al. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science.* 2004; 303: 1201-1204.
18. Jia L, Betters JL, Yu L. Niemann-pick C1-like 1 (NPC1L1) protein in intestinal and hepatic cholesterol transport. *Annu Rev Physiol.* 2011; 73: 239-259.
19. Sudhop T, Lütjohann D, Kodal A, et al. Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation.* 2002; 106: 1943-1948.
20. van Heek M, Farley C, Compton DS, et al. Comparison of the activity and disposition of the novel cholesterol absorption inhibitor, SCH58235, and its glucuronide, SCH60663. *Br J Pharmacol.* 2000; 129: 1748-1754.
21. Kalogirou M, Tsimihodimos V, Elisaf M. Pleiotropic effects of ezetimibe: do they really exist? *Eur J Pharmacol.* 2010; 633: 62-70.
22. Lioudaki E, Ganotakis ES, Mikhailidis DP. Ezetimibe; more than a low density lipoprotein cholesterol lowering drug? An update after 4 years. *Curr Vasc Pharmacol.* 2011, 9: 62-86.
23. Pandor A, Ara RM, Tumor I, et al. Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2,722 people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Intern Med.* 2009; 265: 568-580.
24. Cohen JC, Pertsemlidis A, Fahmi S, et al. Multiple rare variants in NPC1L1 associated with reduced sterol absorption and plasma low-density lipoprotein levels. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006, 103: 1810-1815.
25. Gazi IF, Daskalopoulou SS, Nair DR, Mikhailidis DP. Effect of ezetimibe in patients who cannot tolerate statins or cannot get to the low density lipoprotein cholesterol target despite taking a statin. *Curr Med Res Opin.* 23: 2183-2192.
26. Wierzbicki AS, Doherty E, Lumb PJ, et al. Efficacy of ezetimibe in patients with statin-resistant and statin-intolerant familial hyperlipidaemias. *Curr Med Res Opin.* 21: 333-338.
27. Dujovne CA, Ettinger MP, McNeer JF, et al. Ezetimibe Study Group. Efficacy and safety of a potent new selective cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 2002; 90: 1092-1097.
28. Davidson MH, Ballantyne CM, Kerzner B, et al. Ezetimibe Study Group. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with statins: randomised, placebo-controlled, blinded experience in 2382 patients with primary hypercholesterolemia. *Int J Clin Pract.* 2004; 58: 746-755.
29. Melani L, Mills R, Hassman D, et al; Ezetimibe Study Group. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with pravastatin in patients with primary hypercholesterolemia: a prospective, randomized, double-blind trial. *Eur Heart J.* 2003; 24: 717-728.
30. Gouni-Berthold I, Berthold HK, Gylling H, et al. Effects of ezetimibe and/or simvastatin on LDL receptor protein expression and on LDL receptor and HMG-CoA reductase gene expression: a randomized trial in healthy men. *Atherosclerosis.* 2008; 198: 198-207.
31. NICE. 2016. Ezetimibe for Treating Primary Heterozygous-Familial and Non-Familial Hypercholesterolaemia. Guideline TA385. Available at: <https://www.nice.org.uk/guidance/ta385/resources/ezetimibe-for-treating-primary-heterozygousfamilial-and-nonfamilial-hypercholesterolaemia-82602851386309>
32. Salen G, von Bergmann K, Lütjohann D, et al. Ezetimibe effectively reduces plasma plant sterols in patients with sitosterolemia. *Circulation.* 2004; 109: 966-971.
33. Salen G, Patel S, Batta AK. Sitosterolemia. *Cardiovasc Drug Rev.* 2002; 20: 255-270.
34. Sudhop T, Lütjohann D, Reber D. Inhibition of intestinal cholesterol absorption and endogenous cholesterol synthesis by ezetimibe/ simvastatin in humans. *J Am Coll Cardiol.* 2005; 45: 392A.
35. Repa JJ, Turley SD, Quan G, Dietschy JM. Delineation of molecular changes in intrahepatic cholesterol metabolism resulting from diminished cholesterol absorption. *J Lipid Res.* 2005; 46: 779-789.

36. Dietrich T, Hucko T, Bourayou R, et al. High resolution magnetic resonance imaging in atherosclerotic mice treated with ezetimibe. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2009; 25: 827-836.
37. Kastelein JJP, Akdim F, Stroes ESG, et al. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *New Engl J Med*. 2008; 358: 1431-1443.
38. Bogiatzi C, Spence JD. Ezetimibe and regression of carotid atherosclerosis: importance of measuring plaque burden. *Stroke*. 2012; 43: 1153-1155.
39. Taylor AJ, Villines TC, Stanek EJ, et al. Extended-release niacin or ezetimibe and carotid intima-media thickness. *N Engl J Med*. 2009; 361: 2113-2122.
40. Smilde TJ, van Wissen S, Wollersheim H, et al. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2001; 357: 577-581.
41. Simon T, Boutouyrie P, Gompel A, Christin-Maitre S, et al. Rationale, design and methods of the CASHMERE study. *Fundam Clin Pharmacol*. 2004; 18: 131-138.
42. Kastelein JJ, Bots ML. Statin therapy with ezetimibe or niacin in high-risk patients. *N Engl J Med*. 2009; 361: 2180-2183, 2009.
43. Howard BV, Roman MJ, Devereux RB, et al. Effect of lower targets for blood pressure and LDL cholesterol on atherosclerosis in diabetes: the SANDS randomized trial. *JAMA*. 2009; 302: 1678-1689, 2009.
44. Fleg JL, Mete M, Howard BV, et al. Effect of statins alone versus statins plus ezetimibe on carotid atherosclerosis in type 2 diabetes: the SANDS (Stop Atherosclerosis in Native Diabetics Study) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 52: 2198-2205.
45. Meaney A, Ceballos G, Asbun J, et al. The VYtorin on Carotid intima-media thickness and overall arterial rigidity (VYCTOR) study. *J Clin Pharmacol*. 2009; 49: 838-847.
46. Rossebø AB, Pedersen TR, Boman K, et al. SEAS Investigators. Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *N Engl J Med*. 2008; 359: 1343-1356.
47. Holme I, Boman K, Brudi P, et al. Observed and predicted reduction of ischemic cardiovascular events in the Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis trial. *Am J Cardiol*. 2010; 105: 1802-1808.
48. Baigent C, Landray MJ, Reith C, et al. SHARP Investigators. The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2011; 377: 2181-2192.
49. Kato ET, Cannon CP, Blazing MA, et al. Efficacy and Safety of Adding Ezetimibe to Statin Therapy Among Women and Men: Insight From IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial). *J Am Heart Assoc*. 2017; 6.
50. Giugliano RP, Cannon CP, Blazing MA, et al. IMPROVE-IT (IMproved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial) Investigators. Benefit of Adding Ezetimibe to Statin Therapy on Cardiovascular Outcomes and Safety in Patients With *vs* Without Diabetes: Results from IMPROVE-IT. *Circulation pii: CIRCULATIONAHA.117.030950*, 2017.
51. Ference BA, Majeed F, Penumetcha R, et al. Effect of naturally random allocation to lower low-density lipoprotein cholesterol on the risk of coronary heart disease mediated by polymorphisms in NPC1L1, HMGCR, or both: a 2 × 2 factorial Mendelian randomization study. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65: 1552-1561.
52. Savarese G, De Ferrari GM, Rosano GM, Perrone-Filardi P. Safety and efficacy of ezetimibe: A meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2015; 201: 247-252.
53. Dujovne CA, Suresh R, McCrary Sisk C, et al. Safety and efficacy of ezetimibe monotherapy in 1624 primary hypercholesterolaemic patients for up to 2 years. *Int J Clin Pract*. 2008; 62: 1332-1336.
54. Castellote J, Ariza J, Rota R, et al. Serious drug-induced liver disease secondary to ezetimibe. *World J Gastroenterol*. 2008; 14: 5098-5099.
55. Lu Y, Cheng Z, Zhao Y, et al. Efficacy and safety of long-term treatment with statins for coronary heart disease: A Bayesian network meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2016; 254: 215-227.
56. Peto R, Emberson J, Landray M, et al. Analyses of cancer data from three ezetimibe trials. *N Engl J Med*. 2008; 359: 1357-1366.
57. Alsheikh-Ali AA, Karas RH. Ezetimibe, and the combination of ezetimibe/simvastatin, and risk of cancer: A post-marketing analysis. *J Clin Lipidol*. 2009; 3: 138-142.
58. Barkas F, Elisaf M, Liberopoulos E, et al. Statin therapy with or without ezetimibe and the progression to diabetes. *J Clin Lipidol*. 2016; 10: 306-313.
59. Pirro M, Vetrani C, Bianchi C, et al. Joint position statement on "Nutraceuticals for the treatment of hypercholesterolemia" of the Italian Society of Diabetology (SID) and of the Italian Society for the Study of Arteriosclerosis (SISA).

- Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2017; 27: 2-17.
60. Rivellese AA, Pirro M. Nutraceutici per il trattamento dell'ipercolesterolemia. Position Statement della Società Italiana di Diabetologia SID e della Società Italiana per lo Studio della Arteriosclerosi SISA. *Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi*. 2016; 7: 3-29.
 61. Pisciotto L, Bellocchio A, Bertolini S. Nutraceutical pill containing berberine versus ezetimibe on plasma lipid pattern in hypercholesterolemic subjects and its additive effect in patients with familial hypercholesterolemia on stable cholesterol-lowering treatment. *Lipids Health Dis*. 2012; 11: 123.
 62. Marazzi G, Pelliccia F, Campolongo G, et al. Usefulness of Nutraceuticals (Armolid Plus) Versus Ezetimibe and Combination in Statin-Intolerant Patients With Dyslipidemia With Coronary Heart Disease. *Am J Cardiol*. 2015; 116: 1798-1801.
 63. Ara R, Pandor A, Tumur I, et al. Cost effectiveness of ezetimibe in patients with cardiovascular disease and statin intolerance or contraindications: a Markov model. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2008; 8: 419-427.
 64. Davies GM, Vyas A, Baxter CA. Economic evaluation of ezetimibe treatment in combination with statin therapy in the United States. *J Med Econ*. 2017; 20: 723-731.
 65. Korman M, Wisløff T. Modelling the cost-effectiveness of PCSK9 inhibitors vs. ezetimibe through LDL-C reductions in a Norwegian setting. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother*. 2018; 4: 15-22.

FOCUS

EPIGENETICA E RISCHIO CARDIOVASCOLARE IN ETÀ PEDIATRICA

Epigenetics and cardiovascular risk in childhood

FRANCESCO MARTINO, ELIANA MARTINO

Dipartimento di Pediatria e Neuropsichiatria Infantile, Cardiologia Pediatrica,
Policlinico Umberto I "Sapienza" Università di Roma

SUMMARY

Cardiovascular disease (CVD) can arise at the early stages of development and growth. Genetic and environmental factors may interact resulting in epigenetic modifications with abnormal phenotypic expression of genetic information without any change in the nucleotide sequence of DNA. Maternal dietary imbalance, inadequate to meet the nutritional needs of the fetus can lead to intrauterine growth retardation (IUGR), decreased gestational age, low birth weight, excessive post-natal growth and metabolic alterations, with subsequent appearance of CVD risk factors. The IUGR, in later years, may correlate with nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. Fetal exposure to high cholesterol, diabetes and maternal obesity is associated with increased risk and progression of atherosclerosis. Maternal smoking during pregnancy and exposure to various environmental pollutants induce epigenetic alterations of gene expression relevant to the onset or progression of CVD. In children with hypercholesterolemia and/or obesity, oxidative stress activates platelets and monocytes, which release pro-inflammatory, pro-atherogenic and pro-oxidants substances, inducing endothelial dysfunction, decreased Doppler flow-mediated dilation and increased carotid intima-media thickness. Primary prevention of atherosclerosis should be implemented early. It is necessary to identify, through screening, high-risk apparently healthy children and take care of them enforcing healthy lifestyle (mainly consisting of Mediterranean diet and physical activity), prescribing nutraceuticals and eventual medications, if required by a high-risk profile. The key issue is the restoration of endothelial function in the reversible stage of atherosclerosis. Epigenetics may provide new markers for an early identification of children at risk and thereby develop innovative therapies and specific nutritional interventions in critical times.

Keywords: cardiovascular disease, epigenetics, intrauterine growth retardation, oxidative stress, childhood.

Indirizzo per la corrispondenza

Francesco Martino
Dipartimento di Pediatria e Neuropsichiatria
Infantile, Cardiologia Pediatrica, Policlinico
Umberto I "Sapienza", Università di Roma
Viale Regina Elena, 324 - 00161 Roma
E-mail: francesco.martino30@tin.it

Le malattie cardiovascolari (MCV) sono la principale conseguenza dell'aterosclerosi, un processo cronico-degenerativo che, come dimostrato da importanti e numerose ricerche, ha le sue origini in età pediatrica, fin dall'età gestazionale. Ogni

anno nell'Unione Europea si verificano 1,8 milioni di decessi e si spendono circa 210 miliardi di euro per malattie ed eventi cardiovascolari, che potrebbero essere ridotti dell'80% eliminando i fattori di rischio. In Italia il tasso di mortalità per MCV è pari a 383 morti ogni 100 mila abitanti (Eurostat, Public health, 2013); ogni anno sono oltre 135 mila gli eventi coronarici acuti (infarti), e circa un terzo di questi ha un esito fatale. È stato evidenziato, inoltre, che chi ha avuto un primo infarto ha maggiori probabilità di averne un secondo. La possibilità di ricovero, infatti, entro i due anni dal primo evento coronarico acuto, è superiore al 60% dei casi e il 30% di questi è dovuto a una nuova sindrome coronarica acuta.

L'idea che i segni di aterosclerosi e le MCV siano clinicamente rilevanti solo du-

rante l'età adulta e anziana è cambiata negli ultimi anni. Vi è crescente evidenza, infatti, che le malattie cronico degenerative dell'età adulta cominciano a formarsi nelle prime fasi dello sviluppo e della crescita. Già dagli anni 80 del secolo scorso Barker ipotizzava che le più frequenti patologie dimetaboliche acquisite, tipiche dell'età adulta, sarebbero legate al fenomeno del "fetal programming": nel caso in cui le capacità dell'unità materno-placentare non soddisfino le richieste del feto, i primitivi adattamenti favorirebbero lo sviluppo di patologie quali l'ipertensione arteriosa, le malattie cardiovascolari e il diabete mellito tipo 2 (1, 2). Studi sperimentali e in vitro confermano che la crescita fetale è molto vulnerabile, soprattutto durante il primo trimestre di gravidanza (3-5). Lo sviluppo della vita precoce è criticamente sensibile alla nutrizione inadeguata e ad altri fattori ambientali, portando a mutamenti permanenti nello sviluppo che possono influenzare la salute del nascituro a lungo termine (6). La crescita fetale è un processo complesso che dipende sia dal corredo genetico che dall'ambiente intrauterino. Un adeguato apporto nutritivo durante la gravidanza e l'allattamento è necessario per il normale sviluppo del feto/neonato. È anche noto che l'ambiente, l'alimentazione e lo stile di vita peri-concezionale dei genitori possono creare effetti duraturi sulla salute della prole (7, 8). Fattori ambientali e genetici possono interagire già dall'età gestazionale provocando alterazioni epigenetiche che possono riprogrammare i geni metabolici in utero, dare origine a markers precoci di rischio cardiovascolare nel neonato/bambino e MCV nell'età adulta.

L'epigenetica rappresenta un fenomeno di alterata espressione fenotipica che si ha senza cambiamenti della sequenza nucleotidica; può interessare la metila-

Punti chiave

- I cambiamenti epigenetici rappresentano una risposta biologica a fattori di stress ambientale e possono essere trasmessi alla prole influenzandone il rischio di aterosclerosi.
- La dieta è un importante modificatore del profilo epigenetico prima della nascita. In effetti, gli squilibri nutrizionali del padre prima del concepimento e della madre durante la gravidanza possono predisporre il feto al rischio di malattie cardiovascolari e malattie metaboliche nell'età adulta.
- L'ipercolesterolemia materna durante la gravidanza può causare ipercolesterolemia fetale e perossidazione lipidica con conseguente disfunzione endoteliale e formazione di lesioni aterosclerotiche primordiali. Lo stato epigenetico del genoma fetale, influenzato dalla nutrizione materna, può persistere nell'età adulta.
- La prevenzione primaria dell'aterosclerosi dovrebbe essere iniziata il più precocemente possibile. Il punto chiave è il ripristino della funzione endoteliale nella fase reversibile dell'aterosclerosi.
- È necessario identificare, attraverso screening, i bambini ad alto rischio sebbene apparentemente sani.
- I mircoRNA sono emersi come un nuovo strumento valido non solo per la diagnosi e la stratificazione del rischio, ma anche come potenziale bersaglio terapeutico.

zione del DNA, le alterazioni degli istoni e dei microRNA (9). La metilazione del DNA può essere influenzata dall'alimentazione, in particolare da nutrienti portatori di gruppi metilici come le vitamine e gli aminoacidi. Gli istoni, ottameri di proteine basiche attorno a cui si avvolge il DNA in doppia elica, nelle code terminali possono andare incontro ad alterazioni enzimatiche. I microRNA, il cui interesse è andato aumentando negli ultimi anni, sono piccole molecole endogene di RNA non codificante che contengono circa 22 nucleotidi. Sono implicati nell'eziopatogenesi di diverse malattie, soprattutto di quelle cronico-degenerative come l'aterosclerosi e quindi delle MCV (10-12). Lo stress ossidativo, che si ha nell'eziopatogenesi dell'aterosclerosi, può portare a disfunzione endoteliale con attivazione cellulare sia piastrinica che monocitica e rilascio di sostanze pro-aterogene, pro-infiammatorie, vasocostrittrici e pro-ossidanti (13-15). Recentemente sono state osservate alterazioni epigenetiche di alcuni microRNA in bambini ipercolesterolemici (16, 17). L'epigenetica è un paradigma chiave della salute riproduttiva. I modulatori epigenetici, attraverso le modificazioni epigenetiche, possono rimodellare la cromatina e dare origine a fenotipi alterati (18).

Il maschio, sottoposto a radiazioni ionizzanti, ad alcool, fumo e diete squilibrate, può andare incontro a modificazioni epigenetiche che alterano la morfo-funzionalità degli spermatozoi con ripercussioni negative sulla fecondazione, sull'embriogenesi, e, dopo la nascita, sul neonato e sull'adulto (19). È scientificamente accertato che malattie della madre durante la gravidanza (sovrappeso, obesità e diabete), squilibri nutrizionali e alterati stili di vita (fumo, abuso di alcool, droga ecc.) pre e periconcezionali, sia materni che paterni, possono dare origine ad un ritardo di crescita

intrauterino (IUGR), ad una diminuita età gestazionale, ad un basso peso alla nascita e, infine, ad un'eccessiva crescita di recupero di peso in età precoce, il cosiddetto '*adiposity rebound*', con sviluppo successivo di obesità, sindrome metabolica e aumento delle probabilità di andare incontro in futuro a malattie e neoplasie del fegato, diabete di tipo 2 e MCV (20, 21).

I neonati, soprattutto se pretermine, sono particolarmente vulnerabili allo stress ossidativo perché presentano una produzione accelerata di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) e la protezione limitata di antiossidanti, aumentando la suscettibilità alle MCV nelle età successive. La programmazione ossidativa di stress-mediato può agire direttamente attraverso la regolazione epigenetica del gene. Lo stress ossidativo e gli squilibri nutrizionali sono considerati meccanismi importanti della programmazione e dello sviluppo di malattie cardiovascolari, che si manifestano dopo un lungo periodo asintomatico (22). Recentemente è stato dimostrato che l'espressione di miR-155, miR-181a e miR-221 differisce nei bambini nati da donne obese rispetto ai bambini nati da donne di peso normale. I cambiamenti nell'espressione dei microRNA potrebbero partecipare alla programmazione epigenetica fetale dei disturbi metabolici nei bambini nati da donne obese (23). Tra l'altro, i nati da genitori obesi presentano alterata metilazione del DNA rispetto ai bambini nati da genitori in normopeso. Lo stile di vita pre-concezionale dei genitori può causare, durante la gametogenesi e lo sviluppo precoce, effetti epigenetici transgenerazionali (24). Uno studio sperimentale, condotto su ratti, ha dimostrato che la dieta ricca in grassi e l'obesità della madre durante la gravidanza provocano alterazioni della metilazione del DNA e del microbioma intestinale, predisponendo la prole all'in-

fiammazione epatica e alla fibrogenesi che contribuiscono alla patogenesi della steatosi epatica non alcolica (NASH) (25).

È recente l'interesse per la nutrizione, il microbioma intestinale e l'epigenetica, la cui interazione, nel tempo, può dare origine a rischio cardiovascolare attraverso metilazione e modificazioni epigenetiche e alterazioni del metaboloma, lipidoma e proteoma (26). Infatti i fattori di rischio gestazionali (aumento di peso, BMI, dieta, farmaci) influenzano il microbiota intestinale materno, con ripercussioni sul feto che, anche dopo la nascita, attraverso l'allattamento al seno, può subire ulteriori modifiche del suo microbioma. Si possono così porre le basi per la formazione, in futuro, di malattie metaboliche e autoimmuni (27). L'interrelazione tra nutrizione materna e neonatale, microbiota intestinale ed epigenetica avviene durante i primi 1.000 giorni di vita (28). L'alimentazione materna, pertanto, può influenzare lo stato epigenetico del genoma fetale che può persistere nell'età adulta. È stato inoltre dimostrato che una dieta a basso contenuto proteico è associata ad alterata metilazione prenatale del DNA dei geni coinvolti nel metabolismo dei lipidi (29).

L'ipercolesterolemia in gravidanza influenza il "programming" in utero e aumenta la suscettibilità all'aterosclerosi nelle età successive (30). Durante le prime fasi della gravidanza, l'ipercolesterolemia materna può dare origine a ipercolesterolemia, perossidazione lipidica e alterazioni dei geni aterogeni nel plasma fetale favorendo la formazione di lesioni aterosclerotiche primordiali a livello delle arterie del feto a causa dell'aumentato stress ossidativo (31).

È recente uno studio sperimentale condotto su ratti che dimostra come il diabete materno e l'iperglicemia fetale diano origine a diminuita sintesi di NO (NOS3) e ad inibizione di Notch 1, gene implicato nello

sviluppo di numerose cellule e tessuti cardiaci, per cui si ha un alterato sviluppo del cuore e la formazione di cardiopatie congenite (32). L'iperglicemia fetale, associata al diabete materno, aumenta di 5 volte il rischio di MCV. Il diabete materno può influenzare l'espressione di geni critici di sviluppo cardiaco attraverso meccanismi epigenetici, suggerendo che i fattori ambientali possono agire in una popolazione geneticamente sensibilizzata (33,34). L'esposizione alla caffeina durante l'embriogenesi inibisce l'espressione di enzimi chiave della metilazione del DNA e porta ad alterazioni cardiache morfo-funzionali come la cardiomiopatia ipertrofica e la cardiomiopatia dilatativa (35). In gravidanza l'assunzione di caffeina deve essere <200 mg/die cioè due tazzine (il contenuto di caffeina/tazzina è ~85 mg).

Diversi studi hanno dimostrato che un maggior consumo di sale può provocare alterazioni epigenetiche come il deficit di LSD1, una demetilasi istonica che si associa a vasocostrizione vasale, alterato rilascio di NO e ipertensione arteriosa (36). Recentemente è stato anche dimostrato che l'eccessivo consumo di sale può promuovere l'autoimmunità indotta dalla demetilazione del DNA (37).

Il fumo in gravidanza e durante l'allattamento può provocare modificazioni epigenetiche con alterazioni organiche (riduzione dei nefroni), endocrine (obesità, diabete) e metaboliche (riduzione HDL colesterolo) (38). Bambini nati da madri fumatrici, all'età di 5 anni mostrano aumento dell'ispessimento medio-intimale carotideo e riduzione della flussimetria mediata (indici subclinici di aterosclerosi); danni questi che si possono avere anche con il fumo di terza mano (39). Come tutti i fattori di rischio cardiovascolare fin qui trattati anche l'esposizione a inquinanti ambientali - metalli pesanti, quali nichel,

cadmio e arsenico e radiazioni ionizzanti o raggi ultravioletti -, può dare origine a disfunzione endoteliale con alterazione della permeabilità, adesione e migrazione subendoteliale leucocitaria e successiva formazione di cellule schiumose, *primum movens* dell'evoluzione aterosclerotica. Gli inquinanti ambientali possono avere effetti obesogeni, dare origine a ipometilazione del DNA, aumentare la rigidità carotidea e alterare l'espressione dei mir 222 implicati nell'infiammazione vasale (40).

Conclusioni

Le MCV hanno origine in età pediatrica. Le modificazioni epigenetiche si possono avere già dall'età gestazionale. È necessario promuovere e diffondere corrette abitudini di vita ed alimentari che possono avere ripercussioni positive sull'epigenetica. La dieta mediterranea, prototipo di una

sana alimentazione, ha effetti positivi sul diabete tipo 2 e sulla sindrome metabolica, che è più frequente nei bambini che hanno scarsa aderenza alla dieta mediterranea e all'attività fisica. Lavori recenti hanno dimostrato che la dieta mediterranea può esercitare un benefico effetto sulla salute con la sua azione antiinfiammatoria mediata da meccanismi epigenetici (41). Ci sono forti prove che i cambiamenti epigenetici durante lo sviluppo fetale sono fattori chiave nella formazione della sindrome metabolica. Questi cambiamenti sono indotti dalla nutrizione materna, che influenza l'ambiente intra-uterino. L'epigenetica svolge un ruolo importante nella regolazione del rischio cardiovascolare in età pediatrica (42). I microRNA rappresentano utili *biomarkers* per identificare i bambini a rischio ed eventualmente sviluppare terapie innovative e interventi nutrizionali specifici per le MCV.

RIASSUNTO

Le malattie cardiovascolari (MCV) possono insorgere nelle prime fasi dello sviluppo e della crescita. Fattori genetici e ambientali possono interagire dando origine ad alterata plasticità dello sviluppo e a modificazioni epigenetiche con anormale espressione fenotipica di informazioni genetiche pur senza cambiamenti nella sequenza nucleotidica del DNA. Squilibri alimentari materni, inadeguati a soddisfare i bisogni nutrizionali del feto, possono portare a: ritardo della crescita intrauterina (IUGR), diminuzione dell'età gestazionale, basso peso alla nascita, eccessiva crescita post-natale, alterazioni metaboliche e conseguente comparsa di fattori di rischio cardiovascolare. L'IUGR, negli anni successivi, può essere correlato con la steatosi epatica non alcolica e la sindrome metabolica. L'esposizione fetale a colesterolo alto, diabete e obesità della madre è associata ad un aumento del rischio e della progressione dell'aterosclerosi. Il fumo materno durante la gravidanza e l'esposizione a vari inquinanti ambientali inducono alterazioni epigenetiche dell'espressione genica, importanti per l'insorgenza o la progressione delle MCV. Nei bambini con ipercolesterolemia e/o obesità, lo stress ossidativo attiva le piastrine e i monociti, che rilasciano sostanze pro-infiammatorie, pro-aterogene e pro-ossidanti, inducendo disfunzione endoteliale, diminuzione della dilatazione flusso-mediata e aumento dello spessore intimo-medio carotideo. La prevenzione primaria dell'aterosclerosi, ancorata ai classici fattori di rischio, deve essere attuata precocemente. È necessario identificare, attraverso screening, i bambini ad alto rischio, seppur apparentemente sani, trattarli preventivamente con alimentazione, attività fisica e stile di vita corretti, con eventuale aggiunta di nutraceutici e, infine, con farmaci se i profili di rischio non si sono normalizzati. Il problema chiave è il ripristino della funzione endoteliale nella fase ancora reversibile dell'aterosclerosi. L'epigenetica può fornire nuovi marcatori per una identificazione precoce dei bambini a rischio e quindi sviluppare terapie innovative e specifici interventi nutrizionali nei periodi critici.

Parole chiave: *malattie cardiache, epigenetica, ritardo di crescita intrauterino, stress ossidativo, età pediatrica.*

Questionario di auto-apprendimento

- | | |
|---|--|
| <p>1) La crescita fetale è un processo complesso che dipende:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) dal corredo genetico b) dall'ambiente intrauterino c) solo dall'apporto nutritivo d) a e b | <p>3) L'aterosclerosi è un processo cronico-degenerativo che:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) inizia in età adulta b) inizia in età fetale c) si manifesta in età pediatrica d) compare dopo la pubertà |
| <p>2) Il ritardo di crescita intrauterino aumenta il rischio di:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) insulino-resistenza b) obesità c) diabete e) tutti i precedenti | <p>4) Le modificazioni epigenetiche:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) alterano l'espressione di determinati geni b) alterano la sequenza nucleotidica c) provocano solo metilazione del DNA d) provocano l'ossidazione del DNA |

(Risposte corrette: 1) d; 2) e; 3) b; 4) a

Glossario

Fetal programming: è un processo per cui uno stimolo o un insulto durante la vita fetale può condizionare sfavorevolmente la crescita e la funzione di organi e apparati, correlandosi con l'insorgenza di patologie cronico-degenerative.

Nutrigenomica: è la scienza che studia le correlazioni tra alimenti e modifiche del DNA.

Epigenetica: fenomeno di alterata espressione fenotipica che si ha senza cambiamenti della sequenza nucleotidica; può interessare la metilazione del DNA, le alterazioni degli istoni e dei microRNA.

Epigenomica: è lo studio del set completo di modifiche epigenetiche nel materiale genetico di una cellula (l'epigenoma).

Metilazione DEL DNA: è un meccanismo epigenetico ben definito che "silenzia" i geni, ossia ne impedisce l'attività; è coinvolto nella regolazione di una grande varietà di processi biologici, tra cui l'espressione genica, la stabilità del genoma e l'imprinting dei genitori.

Istoni: proteine basiche che si aggregano formando ottameri intorno a cui si avvolge il DNA in doppia elica dando origine al nucleosoma. Ciascun istone può subire numerose alterazioni ad opera di specifici enzimi che provocano acetilazione, metilazione e fosforilazione. Tali modificazioni avvengono a livello delle code N-terminali alterando la formazione della cromatina.

MicroRNA: brevi sequenze endogene di RNA non codificante (lunghe da 19 a 25 nucleotidi a singolo filamento) che agiscono come regolatori dell'espressione genica prevalentemente a livello post trascrizionale. I microRNA svolgono un ruolo determinante nella fisiologia e fisiopatologia vascolare sin dalle prime fasi dello sviluppo embrionale e sono in grado di interferire con le varie fasi dell'aterogenesi.

Adiposity rebound: fisiologica inversione della curva dell'adiposità. Rappresenta l'età in cui, in età prescolare, il BMI inizia ad aumentare ed è predittivo dello sviluppo di obesità: se avviene prima dei 5 anni vi è elevato rischio che il bambino diventi obeso.

Bibliografia

1. Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*. 1986; 1: 1077-1081.
2. Barker DJP. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ*. 1995; 311: 171-174.
3. Barker DJP. Programming the baby. Mothers, babies and health in later life. Churchill Livingstone, Edinburgh. 1998; 13-42.
4. Barker DJ. The developmental origins of adult disease. *Journal of the American College of Nutrition*. 2004; 23 (Suppl. 6): 588s-595s.
5. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *British medical bulletin*. 2001; 60: 5-20.
6. Wadhwa PD, Buss C, Entringer S, Swanson JM. Developmental origins of health and disease: Brief history of the approach and current focus on epigenetic mechanisms. *Semin. Reprod. Med.* 2009; 2: 358-368.
7. Stuppia L, Franzago M, Ballerini P, et al. Epigenetics and male reproduction: the consequences of paternal lifestyle on fertility, embryo development, and children lifetime health. *Clinical Epigenetics*. 2015; 7: 120.
8. Capra L, Tezza G, Mazzei F and Boner AL. The origins of health and disease: the influence of materna diseases and lifestyle during gestation. *Italian Journal of Pediatrics*. 2013; 39: 7.
9. Metzinger L, de Franciscis S, Serra R. The Management of Cardiovascular Risk through Epigenetic Biomarkers. *BioMed Research International*. 2017; Article ID. 9158572.
10. Tao H, Yang JJ, Shi K. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic mechanism regulation of cardiac fibrosis. *Expert Opin Ther Targets*. 2015; 19: 707-716.
11. Chen W, Zhang M, Zha G, et al. MicroRNA-33 in atherosclerosis etiology and pathophysiology. *Atherosclerosis*. 2013; 227: 201-208.
12. Liu X and Liu S. Role of microRNAs in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy. *Biomedical Reports*. 2017; 6: 140-145.
13. Martino F, Loffredo L, Carnevale R, et al. Oxidative Stress Is Associated With Arterial Dysfunction and Enhanced Intima-Media Thickness in Children With Hypercholesterolemia: The Potential Role of Nicotinamide. Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase. *Pediatrics*. 2008; 122: e648-e655.
14. Martino F, Pignatelli P, Martino E, et al. Early increase of oxidative stress and soluble CD40L in Children with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 49: 1974-1981.
15. Pignatelli P, Loffredo L, Martino F, et al. Myeloperoxidase overexpression in children with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2009; 205: 239-243.
16. Martino F, Carlomosti F, Avitabile D, et al. Circulating *miR-33a* and *miR-33b* are up-regulated in familial hypercholesterolaemia in paediatric age. *Clinical Science*. 2015; 129: 963-972.
17. D'Agostino M, Martino F, Sileno S, et al. Circulating *miR-200c* is up-regulated in paediatric patients with familial hypercholesterolaemia and correlates with *miR-33a/b* levels: implication of a ZEB1-dependent mechanism. *Clinical Science*. 2017; 131: 2397-2408.
18. Bunkar N, Pathak N, Lohiya NK, Mishra PK. Epigenetics: A key paradigm in reproductive health. *Clin Exp Reprod Med*. 2016; 43: 59-81.
19. Stuppia L, Franzago M, Ballerini P, et al. Epigenetics and male reproduction: the consequences of paternal lifestyle on fertility, embryo development, and children lifetime health. *Clinical Epigenetics*. 2015; 7: 120.
20. Lemas DJ, Brinton JT, Shapiro ALB, et al. Associations of maternal weight status prior and during pregnancy with neonatal cardiometabolic markers at birth: the Healthy Start study. *International Journal of Obesity*. 2015; 39: 1437-1442.
21. Jaddoe VW, de Jonge LL, Hofman A, et al. First trimester fetal growth restriction and cardiovascular risk factors in school age children: population based cohort study. *BMJ*. 2014; 348.
22. Tain YL, and Hsu CN. Interplay between Oxidative Stress and Nutrient Sensing. Signaling in the Developmental Origins of Cardiovascular Disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2017; 18: 841.
23. Méndez-Mancilla A, Lima-Rogel V, Toro-Ortíz C, et al. Differential expression profiles of circulating microRNAs in newborns associated to maternal pregestational overweight and obesity. *Pediatr Obes*. 2017 Oct. doi: 10.1111/ijpo.12247.
24. Soubry A, Murphy SK, Wang F, et al. Newborns of obese parents have altered DNA methylation patterns at imprinted genes. *International Journal of Obesity*. 2015; 39: 650-657.
25. Wankhade UD, Zhong Y, Kang P, et al. Enhanced offspring predisposition to steatohepatitis with maternal high-fat diet is associated with epigenetic and microbiome alterations. *Plos One*. 2017; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175675>
26. Ferguson JF, Allayee H, Gerszten RE, et al. Nutrigenomics, the Microbiome, and Gene Environment Interactions: New Directions in Cardiovascular Disease. *Research, Prevention, and Treatment. Circ Cardiovasc Genet*. 2016; 9: 291-313.
27. Mulligan CM, Friedman JE. Maternal modifiers of the infant gut microbiota: metabolic Conse-

- quences. *Journal of Endocrinology*. 2017; 235: R1-R12.
28. Indrio F, Martini S, Francavilla R, et al. Epigenetic Matters: The Link between early Nutrition, Microbiome, and Long-term Health Development. *Frontiers in Pediatrics*. 2017; 5: 178.
 29. Martino F, Magenta A, Pannarale G, et al. Epigenetics and cardiovascular risk in childhood. *J Cardiovasc Med*. 2016; 17.
 30. Palinsk W, Napoli C. The fetal origins of atherosclerosis: maternal hypercholesterolemia, and cholesterol-lowering or antioxidant treatment during pregnancy influence in utero programming and postnatal susceptibility to atherogenesis. *FASEB J*. 2002; 16: 1348-1360.
 31. Napoli C, D'Armiento FP, Mancini FP, et al. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia: intimal accumulation of LDL and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J. Clin. Invest*. 1997; 100: 2680-2690.
 32. Basu M, Zhu J-Y, LaHaye S, et al. Epigenetic mechanisms underlying maternal diabetes associated risk of congenital heart disease. *JCI Insight*. 2017; 2: e95085.
 33. Weerd JH, Koshihara-Takeuchi K, Kwon C, Takeuchi JK. Epigenetic factors and cardiac development. *Cardiovascular Research*. 2011; 91: 203-211.
 34. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. See comment in PubMed Commons below *Nat Genet*. 2003; (Suppl. 33): 245-254.
 35. Rivkees SA, Wendler CC. Long-term consequences of disrupting adenosine signaling during embryonic development. *Molecular Aspects of Medicine*. 2017; 30: 1-8.
 36. Pojoga LH, Williams JS, Yao TM, et al. Histone demethylase LSD1 deficiency during high-salt diet is associated with enhanced vascular contraction, altered NO- cGMP relaxation pathway, and hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 301: H1862-H1871.
 37. Wu H, Huang X, Qiu H, et al. High salt promotes autoimmunity by TET2-induced DNA demethylation and driving the differentiation of Tfh cells. *Sci Rep*. 2016; 6: 28065.
 38. Mattsson K, Jönsson I, Malmqvist E, et al. Maternal smoking during pregnancy and offspring type 1 diabetes mellitus risk: accounting for HLA haplotype. *Eur J Epidemiol*. 2015; 30: 231-238.
 39. Raghuvver G, White DA, Hayman LL, et al. Cardiovascular Consequences of Childhood Second Hand Tobacco Smoke Exposure. *Circulation*. 2016; 134: e336-e359.
 40. Baccarelli A, Ghosh S. Environmental Exposures, Epigenetics and Cardiovascular Disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2012; 15: 323-329.
 41. Martino F, Puddu PE, Lamacchia F, et al. Mediterranean diet and physical activity impact on metabolic Syndrome among children and adolescents from Southern Italy: Contribution from the Calabrian Sierras Community Study (CSCS). *International Journal of Cardiology*. 2016; 225: 284-288.
 42. Lorite Mingot D, Gesteiro E, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. Epigenetic effects of the pregnancy Mediterranean diet adherence on the offspring metabolic syndrome markers. *J Physiol Biochem*. 2017; 73: 495-510.

AGGIORNAMENTO

LA SITOSTEROLEMIA: UN RARO DISORDINE GENETICO FORSE SOTTO-DIAGNOSTICATO

Sitosterolemia: a rare genetic disorder perhaps underdiagnosed

STEFANO BERTOLINI¹, SEBASTIANO CALANDRA²

¹Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova;

²Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Università di Modena e Reggio Emilia

SUMMARY

Sitosterolemia is thought to be a rare genetic disorder with a recessive transmission, characterized by an impaired function of the pathway which prevents the intestinal absorption and tissue retention of plant sterols (phytosterols and phytostanols). The clinical manifestations are variable: some of them resemble those found in Familial Hypercholesterolemia (FH), such as elevated plasma LDL-cholesterol, xanthomas and increased predisposition to develop premature atherosclerosis; however, some poorly symptomatic cases with normocholesterolemia are reported. Other manifestations include arthritis, bleeding due to macrothrombocytopenia and episodes of hemolytic anemia with stomatocytosis. Sitosterolemia is caused by pathogenic variants (mutations) of *ABCG5* or *ABCG8*, two adjacent genes located on chromosome 2. *ABCG5* encodes a peptide designated sterolin-1 or ABCG5 and *ABCG8* encodes a peptide designated sterolin-2 or ABCG8. ABCG5 and ABCG8 peptides form a hetero-dimer membrane transporter (ABCG5/G8) which pumps back phytosterols and cholesterol from the enterocytes into the intestinal lumen and from the hepatocytes into the bile canaliculi. The loss of function of ABCG5/G8 transporter is the cause of the accumulation of phytosterols in plasma and in some tissues. Up to now more than 170 patients with sitosterolemia, mostly characterized at the molecular level, have been reported. The prevalence of sitosterolemia is presently unknown. A recent study suggests that the prevalence might be around 0.5 per 1000. Aim of this review is an update of the clinical phenotype, molecular findings and therapeutic treatment of sitosterolemia.

Key Words: *Sitosterolemia, sterol absorption, xanthomatosis, hypercholesterolemia, ezetimibe.*

Indirizzo per la corrispondenza

Stefano Bertolini
Dipartimento di Medicina Interna,
Università di Genova
Via Benedetto XV, 6 - 16132 Genova
E-mail: stefbert@unige.it; stefbert42@gmail.com

Sebastiano Calandra
Dipartimento di Scienze Biomediche,
Metaboliche e Neuroscienze,
Università di Modena e Reggio Emilia,
Via Campi 287 - 41125 Modena
E-mail: sebcald@unimore.it

Introduzione

La sitosterolemia, ritenuta un raro disordine genetico del metabolismo lipidico, fu identificata per la prima volta nel 1974 da Bhattacharyya e Connor (1). Questi autori descrissero due sorelle (appartenenti alla comunità Amish Mennonita) che presentavano xantomi tendinei, sviluppati nell'adolescenza, in assenza di livelli plasmatici

di colesterolo particolarmente elevati (190 e 206 mg/dl, rispettivamente) (1). Questa condizione si associava tuttavia ad elevati livelli plasmatici di steroli vegetali o fitosteroli (β -sitosterolo, campesterolo e stigmasterolo) e ad un loro accumulo nei tendini, nel tessuto adiposo e nella cute. I livelli dei fitosteroli nelle due sorelle rappresentavano rispettivamente 16 e 11% degli steroli totali nel plasma (a fronte di livelli valori normali <1%). L'accumulo di fitosteroli si associava ad un loro aumentato assorbimento intestinale (1). I genitori delle due sorelle non presentavano manifestazioni cliniche di rilievo e avevano livelli plasmatici di fitosteroli entro l'intervallo di normalità. Fu quindi ipotizzato che nelle due sorelle l'accumulo plasmatico e tissutale dei fitosteroli fosse dovuto ad un difetto genetico (iperassorbimento intestinale ?) con una trasmissione autosomica recessiva. L'ipotesi di una trasmissione recessiva ha trovato conferma, qualche anno dopo, in seguito all'analisi di un esteso pedigree della comunità Amish Mennonita a cui appartenevano le due sorelle (2). Bhattacharyya e Connor denominarono questo nuovo disordine metabolico " β -sitosterolemia e xanthomatosis" (1); successivamente si è preferito impiegare il termine fitosterolemia o più semplicemente sitosterolemia (OMIM 210250), dal nome del fitosterolo maggiormente rappresentato nel plasma e nei tessuti dei pazienti. Successivi studi di cinetica in vivo eseguiti con traccianti radioattivi hanno dimostrato che i pazienti con sitosterolemia avevano un turnover rallentato del β -sitosterolo, una ridotta escrezione di β -sitosterolo nella bile e nelle feci e una ridotta sintesi di colesterolo (3). Un ulteriore studio del turnover del β -sitosterolo, condotto in un singolo paziente (ritenuto omozigote per il difetto genetico) e nei suoi genitori (ritenuti eterozigoti obbligati) dimostrava nel pazien-

te "omozigote" un incremento di 7 volte dell'assorbimento di β -sitosterolo rispetto ai soggetti di controllo e di 2,6 volte rispetto ai suoi genitori. Inoltre il "total body pool size" di β -sitosterolo nel paziente omozigote era 15 volte più elevato di quello trovato nei controlli e 10 volte più elevato rispetto a quello trovato nei genitori (4).

Classificazione dei fitosteroli e loro livelli plasmatici

Gli steroli vegetali (fitosteroli) sono molecole strutturalmente simili alla molecola del colesterolo, ma che posseggono o un gruppo etilico addizionale (sitosterolo e stigmasterolo) o un gruppo metilico legato al carbonio C-24 (campesterolo, brassicasterolo) o al carbonio C-28 (avenasterolo) della catena laterale; stigmasterolo e brassicasterolo presentano inoltre un doppio legame tra C-22 e C-23 e avenasterolo un doppio legame tra C-24 e C-28 (*Figura 1*). Gli steroli saturi (denominati fitostanoli) sono meno abbondanti in natura rispetto ai fitosteroli. I fitosteroli non sono sintetizzati nell'organismo ma sono presenti in componenti vegetali o di origine vegetale presenti nella dieta (*Tabella 1*).

La dieta normale contiene una quantità variabile di fitosteroli (180-450 mg/die) non troppo dissimile da quella del colesterolo (200-500 mg/die). In condizioni fisiologiche il pool di steroli presente nel lume intestinale è costituito sia da colesterolo che da steroli vegetali. In aggiunta alla quota introdotta con la dieta, il pool di colesterolo nel lume intestinale comprende anche il colesterolo di origine biliare (800-1.200 mg/die) e il colesterolo derivante dalla desquamazione dell'epitelio intestinale (circa 300 mg/die). La percentuale di assorbimento intestinale del colesterolo presenta un'ampia variabilità interindividuale (dal 25 all'85% di quanto presente

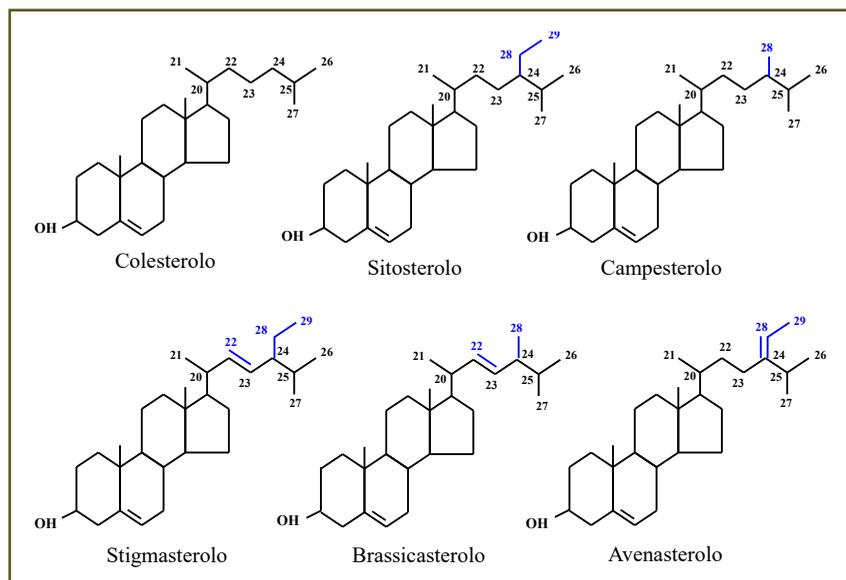


Figura 1 - Struttura della molecola del colesterolo e dei principali steroli vegetali (fitosteroli) presenti nella dieta.

nel lume, in media 50%), in larga misura geneticamente determinata. Il pool di fitosteroli presente nel lume intestinale è costituito dai fitosteroli presenti nella dieta e da una minima quota di fitosteroli pre-

senti nella bile. La quota di assorbimento intestinale dei vari fitosteroli è nettamente inferiore a quella del colesterolo (sitosterolo 4-8%, campesterolo 9-18%, stigmasterolo 5%, brassicasterolo 3-4%) e dipende, in

Tabella I - Alimenti ad alto contenuto in Fitosteroli/stanoli (apporto dietetico percentuale medio: Sitosterolo 65%, Campesterolo 30%, Stigmasterolo 3%, Altri 2%).

Grassi e Olii	mg/100 g	Frutta a guscio e semi	mg/100 g	Cereali	mg/100 g	Vegetali	mg/100 g
Olio di riso	1190	Semi di sesamo	360-714	Frumento germe	344	Chiodi di garofano	256
Olio di mais	865-909	Semi di girasole	300-534	Frumento crusca	200	Salvia	244
Olio di sesamo	865	Pistacchi	214-276	Frumento pane integrale	86	Origano	203
Olio di colza	668	Mandorle	127-183	Segale	71-113	Timo	163
Olio germe di grano	553-919	Noci	108-127	Orzo	80	Basilico essiccato	106
Olio di soia	250-320	Nocciole	96-138	Grano saraceno farina	99	Pepe	92
Olio di arachidi	207-258	Arachidi	220-320	Segale farina	86	Capperi	48
Olio di oliva	154-221	Pinoli secchi	141	Miglio	77	Rosmarino	44
Margarina	217-265	Noci secche	108	Mais farina	52	Cavolfiore	18-40
Olio di vinacciolo	180-215	Legumi	mg/100 g	Frumento pane	44	Cavolini di Bruxelles	24-43
Burro di cacao	201	Soia	161	Frutta	mg/100 g	Broccoli	39
Burro di arachidi	102	Piselli	135	Avocado	75	Molluschi (brassicasterolo)	mg/100 g
Olio semi di girasole	100	Fagioli	127	Frutti della passione	44	Ostriche	39-51
Olio di palma	39-95	Fave secche	124	Arance	24	Vongole	11-16

Tabella 2 - Concentrazioni plasmatiche di steroli desunte da studi di popolazione (6).

	N. individui	mg/dl (m ± DS)	µmol/L (m ± DS)
Colesterolo	6.975	232 ± 39	5,990 ± 1,000
Sitosterolo	6.975	0,300 ± 0,117	7,230 ± 2,819
Campesterolo	6.975	0,448 ± 0,182	11,177 ± 4,541
Stigmasterolo	1.733	0,067 ± 0,060	1,623 ± 1,453
Brassicasterolo	1.138	0,028 ± 0,012	0,702 ± 0,301
Avenasterolo	205	0,021 ± 0,010	0,508 ± 0,242
Fitosteroli totali	3.405	0,864 (0,483-1,245)	21,24 (11,88-30,60)

larga misura, dalla lunghezza della catena laterale, dalla idrofobicità, dalla capacità di essere solubilizzati nelle micelle nel lume intestinale e, in modo particolare, dalla quota di fitosteroli ri-escreta dall'enterocita nel lume intestinale (vedi oltre) (5).

Il dosaggio dei fitosteroli nel plasma richiede l'impiego di specifiche tecnologie di analisi (es. gas-cromatografia-spettrometria di massa) in quanto il routinario dosaggio del colesterolo plasmatico non consente di differenziare i fitosteroli dal

Tabella 3 - Concentrazioni plasmatiche di Steroli Totali (colesterolo + fitosteroli), Sitosterolo e Campesterolo e principali manifestazioni cliniche in 174 pazienti con Sitosterolemia, appartenenti a 125 differenti famiglie, suddivisi in gruppi di età (riportati in letteratura dal 1974 al 2017).

Gruppi di età (anni)		≤2	2,1-5	5,1-10	10,1-15	15,1-20	>20
Sesso	M/F	4/16	6/9	10/19	10/10	11/8	23/48
Età (anni)	Media±SD	1,33±0,53	4,22±0,90	8,57±1,17	12,90±1,20	18,42±1,34	36,32±12,53
	Mediana (range)	1,45 (0,3-2)	4,50 (2,6-5)	9,00 (6-10)	13,00 (11-15)	19,00 (16-20)	32 (21-61)
TS* (mg/dl)	Media±SD	675,0±146,2**	499,2±185,0**	347,9±140,8	334,8±161,1	256,5±86,3	259,8±74,3
	Mediana (range)	692,5 (353-870)	418,0 (284-868)	344 (139-724)	295 (143-724)	247 (139-469)	250 (134-482)
	Range IQ	598,0-810,5	343,2-731,5	228,5-394,5	212,5-351,5	189,0-251,0	207,7-317,5
	≥500 mg/dl	90,0%	33,3%	13,8%	15,0%	0%	0%
	≥400 mg/dl	95,0%	66,6%	34,5%	20,0%	10,5%	2,8%
ST (mg/dl)	Media±SD	18,2±17,0	35,4±22,9	27,7±18,7	31,9±20,7	20,5±10,8	34,0±23,0
	Mediana (range)	10,8 (2,4-71,0)	27,7 (9,5-90,2)	22,8 (8,8-97,0)	29,8 (5,3-92,4)	19,2 (7,2-50,2)	27,1 (2,0-97,0)
	Range IQ	7,9-31,3	20,7-56,0	17,1-30,2	18,8-42,0	14,0-21,0	16,8-36,7
CP (mg/dl)	Media±SD	12,2±10,7	22,7±13,4	17,2±17,1	20,4±20,8	11,1±4,5	15,6±13,1
	Mediana (range)	9,2 (2,3-42,9)	19,5 (9,3-44,2)	12,0 (3,0-78,5)	14,2 (2,0-77,5)	10,9 (2,9-19,0)	12,4 (2,3-74,5)
	Range IQ	3,9-18,8	11,7-34,7	8,7-18,1	6,2-29,8	8,0-14,7	8,1-18,4
Xantomi cutanei		87%	67%	62%	41%		39%
Xantomi tendinei		8,6%		55,2%	56,4%		71,8%
Macrotrombocitopenia		5,2%	25,0%	28,0%	27,7%	29,4%	49,3%
CHD		4,7%			12,8%		36,6%

TS* = steroli totali (colesterolo, circa 75-80% degli steroli totali, e fitosteroli); ST = sitosterolo; CP = campesterolo, **P<0,01 vs gli altri gruppi (Kruskal-Wallis test).

colesterolo. In condizioni normali la concentrazione totale di fitosteroli è in media <1 mg/dl e quella dei fitostanoli <0,2 mg/dl. Nella circolazione i fitosteroli sono trasportati prevalentemente nelle LDL (70-80%) e nelle HDL (20-30%). I fitosteroli sono catturati dai tessuti come componenti delle LDL come avviene per il colesterolo; il rapporto fitosteroli/colesterolo nei tessuti è simile a quello del plasma.

Le differenze nella percentuale di assorbimento intestinale dei vari fitosteroli si riflettono nella concentrazione plasmatica (Tabella 2). In condizioni fisiologiche il campesterolo, pur avendo una percentuale di introito dietetico inferiore a quella del sitosterolo, presenta concentrazioni plasmatiche superiori a quelle del sitosterolo in quanto più facilmente assorbibile per la sua struttura chimica (6).

Questa peculiare distribuzione delle concentrazioni plasmatiche di fitosteroli non è più rilevabile nei pazienti con sitosterolemia, dove la concentrazione plasmatica di sitosterolo è sempre più elevata di quella degli altri fitosteroli, in particolare del campesterolo (Tabella 3).

In aggiunta agli elevati livelli plasmatici di fitosteroli i pazienti sitosterolemici presentano anche elevate concentrazioni plasmatiche di colestano, frequentemente >2,5 mg/dl, circa 10 volte superiori a quelle rilevate nella popolazione di controllo. Tale incremento è dovuto ad incremento della sintesi endogena di questo sterolo per inibizione competitiva della 7α -idrossilasi da parte di elevate concentrazioni di fitosteroli nell'epatocita, cui consegue una ridotta conversione del colesterolo ad acidi biliari ed una aumentata sua conversione a 5α -colestano mediata dall'enzima 3β -idrossi- Δ^{4-5} -steroido-deidrogenasi isomerasi microsomiale (7). In relazione a quanto sopra riportato, la determinazione gas-cromatografica della concentrazione

plasmatica del colestano può essere utilizzata come indice di aumentato assorbimento degli steroli vegetali.

Assorbimento intestinale del colesterolo e dei fitosteroli

Il colesterolo (in forma non esterificata) e i fitosteroli presenti nella dieta o riversati nel lume intestinale con la bile sono assorbiti dall'enterocita per mezzo del trasportatore NPC1L1, una proteina localizzata a livello dell'orletto a spazzola (brush border) degli enterociti (Figura 2). Subito dopo l'ingresso (uptake) negli enterociti, il 50-60% del colesterolo libero è esterificato per opera dell'enzima acetil-sterolo O-acetil-transferasi tipo 2 (SOAT2) ed inglobato nei chilomicroni. Il rimanente colesterolo libero viene in parte ri-escreto nel lume intestinale per intervento del trasportatore ABCG5/G8 (vedi oltre), mentre una quota minore può essere eliminata dall'enterocita ad opera del trasportatore ABCA1 (localizzato sulla membrana laterale dell'enterocita stesso) con formazione di lipoproteine del tipo HDL nascenti. I fitosteroli non sono esterificati per azione dell'enzima SOAT2 e in larga parte vengono ri-escreti (pumped back) nel lume intestinale per intervento del trasportatore ABCG5/G8. La piccola quota di fitosteroli non ri-escreta rimane nel citoplasma dell'enterocita, dove è inglobata nei chilomicroni e quindi trasportata al fegato. Negli epatociti i fitosteroli, così come parte del colesterolo libero, vengono ri-escreti a livello del polo biliare mediante l'intervento del trasportatore ABCG5/G8. Nel fegato, a livello dei canalicoli biliari, una parte del colesterolo libero e forse una minima parte dei fitosteroli può essere riassorbita per intervento del trasportatore NPC1L1. Quindi, come illustrato nella Figura 2 i trasportatori NPC1L1 e ABCG5/G8 rappresentano i "guardiani" (gatekeepers)

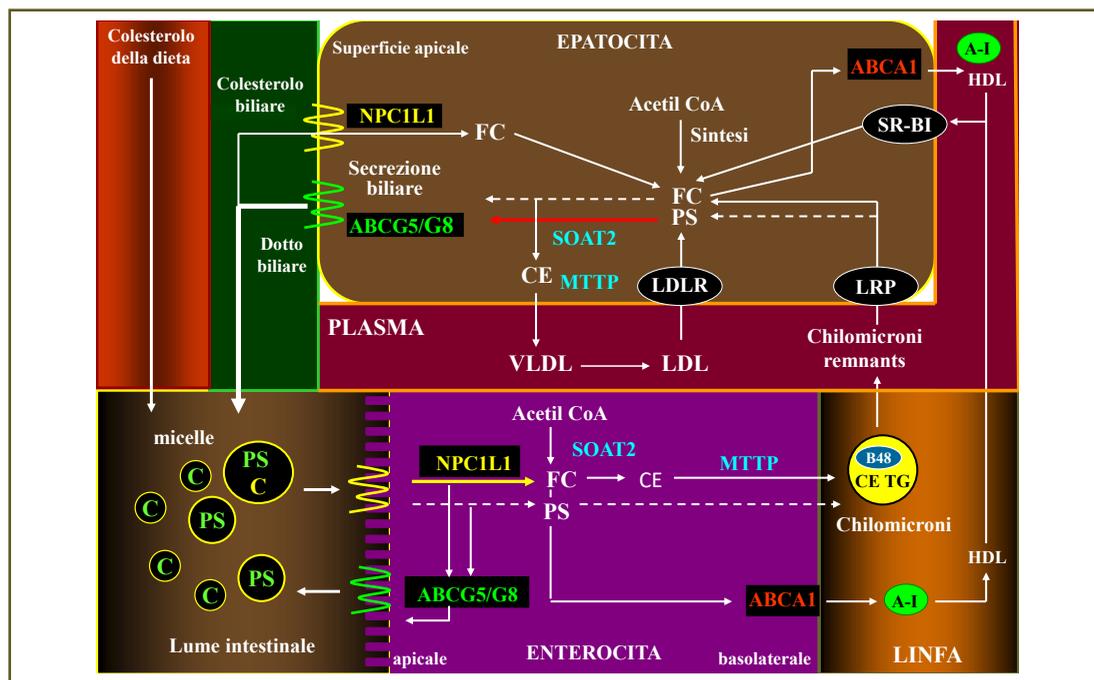


Figura 2 - Processo di assorbimento intestinale, trasporto plasmatico ed escrezione biliare del colesterolo (C) e degli steroli vegetali (PS). Il colesterolo e gli steroli vegetali presenti nel lume intestinale entrano nell'enterocita per mezzo del trasportatore NPC1L1. Gran parte degli steroli vegetali e una quota minore del colesterolo sono ri-escreti nel lume intestinale per l'intervento del trasportatore ABCG5/G8. Nell'enterocita la maggior parte del colesterolo, che si trova in forma libera (FC) viene esterificata dall'enzima SOAT2; il risultante colesterolo esterificato (CE) viene legato all'APOB-48 ed incorporato nei chilomicroni per l'intervento della proteina microsomiale di trasferimento dei trigliceridi (MTTP). Una parte del colesterolo libero è trasferita sulla membrana laterale dell'enterocita e da qui trasportata all'esterno e incorporata in particelle di apolipoproteina A-I (A-I), con formazione di HDL nascenti, per intervento del trasportatore ABCA1. Anche una piccola quota di steroli vegetali (PS) rimasta all'interno dell'enterocita è incorporata nei chilomicroni. Dopo la cattura dei chilomicroni residui da parte del fegato, colesterolo e steroli vegetali sono in parte escreti nella bile per intervento del trasportatore ABCG5/G8 localizzato sul polo biliare.

dell'assorbimento intestinale e della escrezione biliare del colesterolo e dei fitosteroli e composti simili (stanoli) (8-11).

Manifestazioni cliniche nella sitosterolemia

Clinicamente la sitosterolemia presenta grande eterogeneità fenotipica, comprendendo individui completamente asintomatici e pazienti che ripropongono il quadro grave dell'ipercolesterolemia familiare omozigote (Ho-FH). Le principali manife-

stazioni cliniche includono xantomi cutanei piani, intertriginosi e tuberosi e/o xantomi tendinei, artralgie e artrite intermittente e predisposizione allo sviluppo di aterosclerosi. Alcuni pazienti presentano episodi di emolisi e sanguinamento dovuti ad anomalie dei globuli rossi (anemia con stomatocitosi) e delle piastrine (macrotrombocitopenia), spesso associata a splenomegalia di variabile entità (Tabella 3) (12).

I livelli di colesterolo totale e di LDL-C nel plasma possono variare da molto elevati, simili a quelli riscontrati nell'i-

percolesterolemia familiare omozigote, a livelli moderatamente elevati o normali (12-15). Un fenotipo simile a quello Ho-FH si osserva generalmente in pazienti molto giovani (dai primi mesi di vita all'adolescenza) (*Tabella 3 e Figura 3*). Questo fenotipo (definito anche pseudo-FH omozigote) deve essere distinto dalla Ho-FH classica a trasmissione dominante e dalla ipercolesterolemia a trasmissione recessiva (ARH). Criteri importanti per orientare alla diagnosi clinica di sitosterolemia sono:

- 1) la trasmissione recessiva;
- 2) la sostanziale e relativamente rapida riduzione dei livelli plasmatici di LDL-C in seguito al ridotto apporto di colesterolo nella dieta, in contrasto a quanto si osserva nella FH o nella ARH);
- 3) l'eccellente risposta alla terapia con ezetimibe che induce una drastica riduzione degli steroli plasmatici totali, in particolare del colesterolo (vedi oltre) (16-24).

I pazienti adulti con sitosterolemia possono avere livelli di colesterolo totale e LDL-C nella norma o solo moderatamen-

te elevati (simili a quelli che si possono riscontrare nella FH-eterozigote o nell'ipercolesterolemia poligenica) (*Tabella 3 e Figura 3*), pur presentando comunque livelli plasmatici di fitosteroli elevati, ed un rapporto fitosteroli/colesterolo totale aumentato.

È generalmente sostenuto che i pazienti con sitosterolemia presentino un'aumentata predisposizione allo sviluppo della cardiopatia ischemica prematura (su base aterosclerotica) che si può manifestare anche in età molto precoce (con aspetti simili a quelli riscontrati nei pazienti FH omozigoti) (5, 12). In realtà vi sono pazienti adulti con sitosterolemia che non sembrano presentare questa predisposizione. Peraltro non è chiaro in che misura la comparsa della malattia coronarica sia da ascrivere all'esposizione ad una ipercolesterolemia severa (anche transitoria, come talvolta si riscontra in alcuni pazienti in età giovanile) (*Figura 3*) (16-24) o sia da attribuire alla presenza nel plasma di elevate concentrazioni di fitosteroli (25). È infatti possibile che taluni fitosteroli incorporati nelle LDL, possano rendere queste ultime

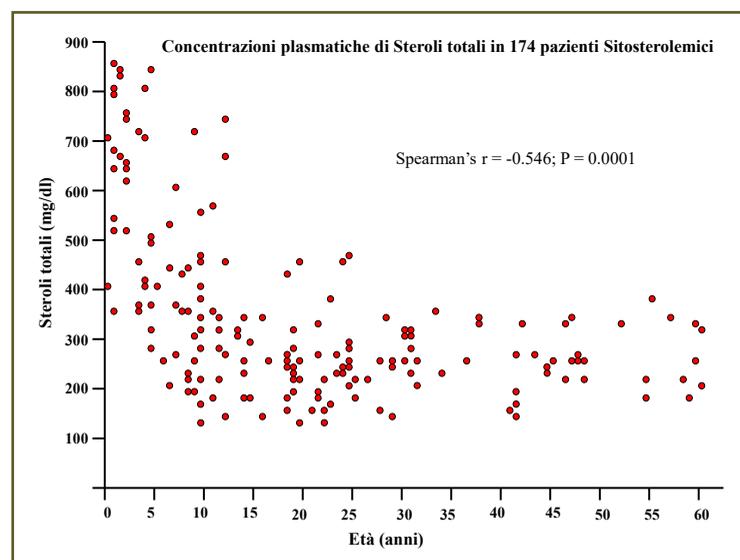


Figura 3 - Livelli plasmatici di steroli totali (colesterolo + steroli vegetali) in pazienti con sitosterolemia. In questi pazienti la quota di steroli vegetali è molto variabile; generalmente si aggira tra il 5% e il 20% degli steroli totali. I livelli più elevati di colesterolo nel plasma si osservano generalmente nella prima decade di vita, dove possono raggiungere valori simili a quelli riscontrati nei pazienti con ipercolesterolemia familiare (FH) omozigote.

qualitativamente “più aterogene” rispetto alle LDL contenenti solo colesterolo. Studi *in vitro* sembrano indicare che alcuni fitosteroli potrebbero avere un effetto pro-infiammatorio e rappresentare uno stimolo, indipendente dal colesterolo, per innescare la formazione della placca aterosclerotica (5). In questo contesto, Hansel et al. (26) hanno riesaminato 5 pazienti adulti con sitosterolemia che al momento della prima osservazione clinica presentavano livelli molto elevati di LDL-C e di fitosteroli. A seguito di trattamento con dieta e ezetimibe, i livelli di LDL-C si sono marcatamente ridotti, mentre quelli dei fitosteroli sono rimasti elevati. Questi pazienti adulti, a dispetto di livelli ancora elevati di fitosteroli, non presentavano segni preclinici di aterosclerosi. Si può pertanto concludere che sulla base delle osservazioni attualmente disponibili non vi siano dati clinici convincenti riguardo ad un ruolo specifico pro-aterogeno dei fitosteroli plasmatici. È

verosimile che un ruolo nella patogenesi delle lesioni ateromasiche precoci sia da ascrivere alla condizione di ipercolesterolemia presente in giovane età ed alla sua durata, particolarmente se la diagnosi di sitosterolemia è ritardata e la terapia con ezetimibe non è attuata tempestivamente rispetto ai primi rilievi clinici (vedi oltre).

Difetti del trasportatore ABCG5/G8 e sitosterolemia

La sitosterolemia è dovuta ad un difetto monogenico che induce la perdita di funzione del trasportatore ABCG5/G8. Il trasportatore ABCG5/G8 è un etero-dimero composto da due proteine transmembrana (Figura 4) codificate da due geni (*ABCG5* ed *ABCG8*) localizzati nell'uomo nel cromosoma 2 (posizione 2p21) dove presentano un orientamento testa-testa (head-to-head). Questi due geni sono adiacenti e sono separati da soli 140 nucleotidi. Ognu-

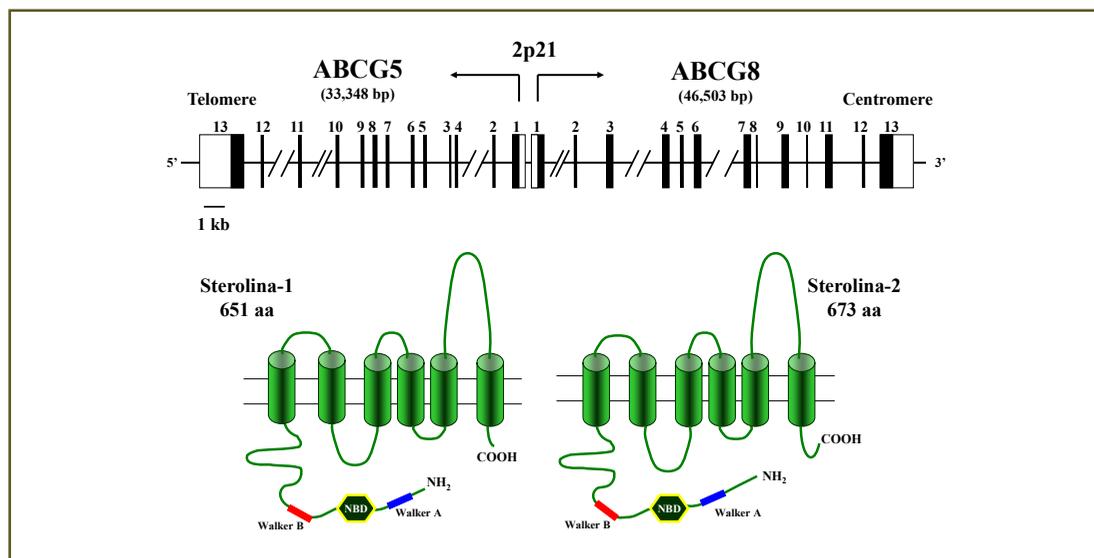


Figura 4 - Localizzazione e struttura dei geni *ABCG5* e *ABCG8* localizzati sul cromosoma 2. Il gene *ABCG5* codifica per una proteina trans-membrana denominata Sterolina-1 o anche ABCG5. Il gene *ABCG8* codifica per una proteina trans-membrana denominata Sterolina-2 o ABCG8. Le due proteine formano un etero-dimero ABCG5/G8 che agisce come trasportatore degli steroli vegetali e del colesterolo dall'enterocita al lume intestinale e dall'epatocita al canalicolo biliare (Figura 2).

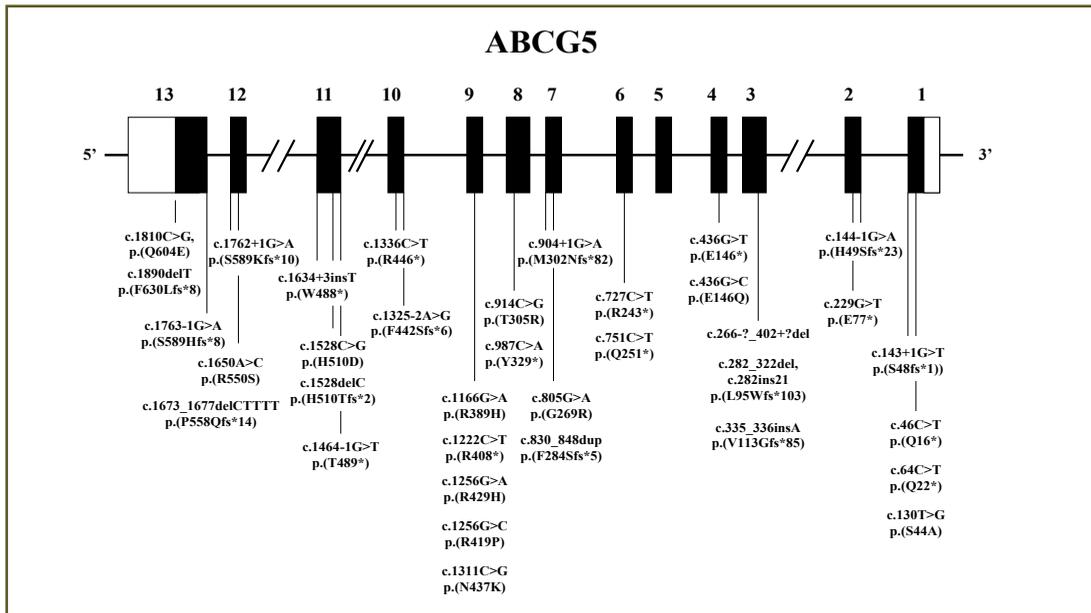


Figura 5 - Localizzazione e tipologia delle mutazioni del gene *ABCG5* riscontrate nei pazienti con sitosterolemia e riportate in letteratura fino all'anno 2017 compreso. Le mutazioni di questo gene si riscontrano più frequentemente in pazienti di origine asiatica.

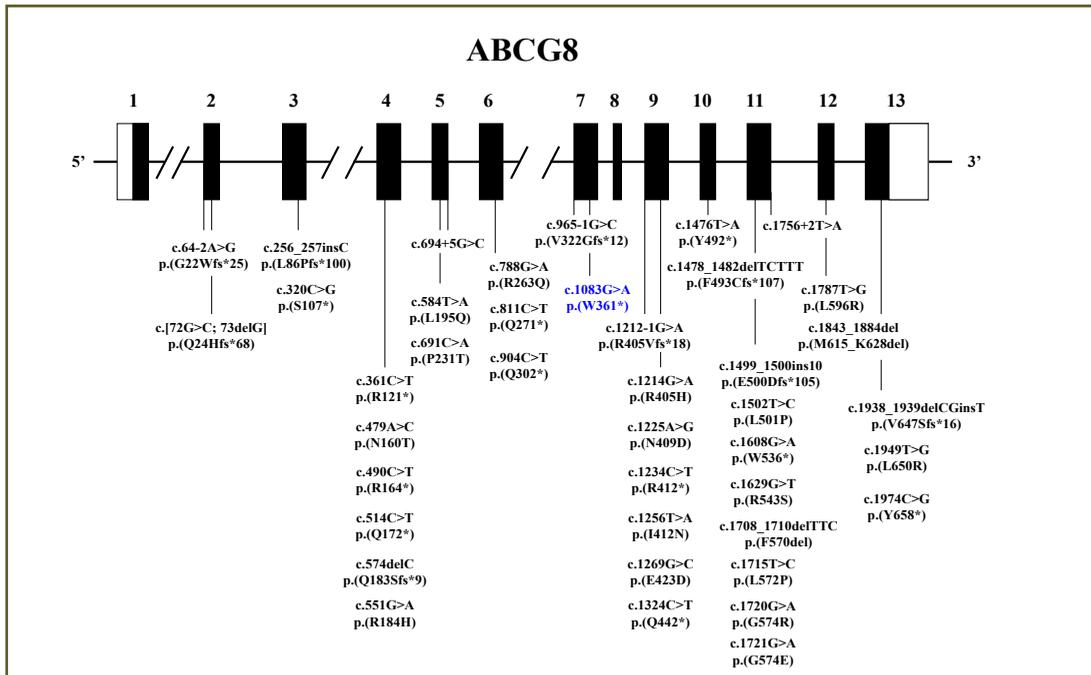


Figura 6 - Localizzazione e tipologia delle mutazioni del gene *ABCG8* riscontrate nei pazienti con sitosterolemia e riportate in letteratura fino all'anno 2017 compreso. Le mutazioni di questo gene si riscontrano più frequentemente in pazienti di origine caucasica. In blu è indicata la mutazione più frequente (24% degli alleli mutati *ABCG8*).

no di essi è costituito da 13 esoni e 12 introni (*Figura 4*). Il gene *ABCG5* codifica per la proteina denominata sterolina-1 (o anche semplicemente proteina *ABCG5*); il gene *ABCG8* codifica per la proteina denominata sterolina-2 (o anche semplicemente proteina *ABCG8*). Ogni proteina ha una regione di legame con l'ATP (ATP Binding Cassette, ABC) all'estremità N-terminale, una regione centrale transmembrana costituita da 6 sequenze idrofobiche che attraversano la membrana plasmatica, ed un dominio di legame con i nucleotidi (Nucleotide Binding Domain, NDB) contenenti due "motivi" altamente conservati (denominati rispettivamente Walkers A e Walkers B) (*Figura 4*). Prese singolarmente le proteine *ABCG5* ed *ABCG8* non sono funzionali. La funzione di trasporto è proprietà specifica dell'etero-dimero formato dalle due proteine. L'etero-dimero si forma nel reticolo endoplasmatico, da cui è trasferito all'apparato di Golgi e da questo trasportato alla membrana plasmatica (5, 8, 9). Il trasportatore *ABCG5/G8* è localizzato sull'orletto a spazzola degli enterociti e a livello del polo biliare degli epatociti.

Tra il 2000 e il 2001 alcuni ricercatori hanno descritto per la prima volta varianti patogenetiche con perdita di funzione (mutazioni) di *ABCG5* o *ABCG8* (in condizione di omozigosi o eterozigosi composta) in pazienti con sitosterolemia (13-15), aprendo la strada alla ricerca sistematica delle basi molecolari della sitosterolemia (16-24). Per indurre sitosterolemia i due alleli mutati devono essere localizzati sullo stesso gene (*ABCG5* o *ABCG8*). Infatti, la presenza contemporanea di un singolo allele mutato nell'uno e nell'altro gene, non impedisce la formazione del dimero funzionale (da parte delle due proteine codificate dagli alleli normali) che, anche se presente in quantità ridotta (50%), è suf-

ficiente per evitare l'insorgenza della sitosterolemia. Dal 2000 ad oggi sono stati caratterizzati a livello molecolare 124 pazienti sitosterolemici tra loro non relati (casi indice); 52 di essi sono risultati portatori di varianti patogenetiche del gene *ABCG5* e 72 sono risultati portatori di varianti patogenetiche del gene *ABCG8*.

Ad oggi sono state identificate 35 diverse mutazioni di *ABCG5* (prevalenti nelle popolazioni asiatiche) (*Figura 5*) e 41 diverse mutazioni di *ABCG8* (prevalenti nelle popolazioni caucasiche) (*Figura 6*). I pazienti con sitosterolemia possono essere omozigoti veri (cioè portatori di due alleli mutati identici di *ABCG5* o di *ABCG8*) ovvero eterozigoti composti (portatori di due alleli mutati diversi di *ABCG5* o di *ABCG8*).

Il fenotipo negli eterozigoti per varianti patogenetiche di *ABCG5* o *ABCG8*

I soggetti portatori eterozigoti di varianti patogenetiche che inducono perdita di funzione di *ABCG5* o *ABCG8* non manifestano un fenotipo patologico; i livelli plasmatici di fitosteroli possono essere normali o moderatamente aumentati. A questo riguardo è utile considerare lo studio più rilevante eseguito su 110 soggetti appartenenti alla comunità Amish Mennonite e portatori eterozigoti della stessa mutazione di *ABCG8* (Gly574Arg) (27). Questi individui, rispetto ai soggetti non portatori appartenenti alla stessa popolazione, presentavano livelli plasmatici più elevati (≥ 35 -37%) di fitosteroli e del rapporto fitosteroli/colesterolo e diminuiti livelli (≤ 15 %) di latosterolo e lanosterolo (precursori del colesterolo nella via biosintetica). I livelli plasmatici di LDL-C degli eterozigoti erano simili a quelli dei soggetti di controllo appartenenti alla stessa popolazione. Inoltre negli eterozigoti l'ispessimento medio intimale (IMT) carotideo (dopo

aggiustamento per sesso ed età) era lievemente inferiore (0,62 vs 0,66 mm) rispetto ai non-portatori ad indicare che i portatori della variante patologica non presentavano un rischio cardiovascolare aumentato rispetto ai controlli (27).

Ricerca di eterozigoti e di individui affetti da sitosterolemia nella popolazione generale

Un altro importante aspetto relativo alla condizione di eterozigosi per la sitosterolemia riguarda la possibilità di identificare individui eterozigoti (per varianti rare patogeniche del trasportatore ABCG5/G8) così come potenziali soggetti con sitosterolemia (omozigoti o eterozigoti composti) attraverso screening di popolazione. Questo è stato l'obiettivo di uno studio recente che si è basato sulla valutazione dei livelli plasmatici di sitosterolo in un ampio campione di popolazione (207.926 individui) di cui era noto anche il profilo lipidico plasmatico (28). Tra questi individui il 4,3% aveva livelli di LDL-C ≥ 190 mg/dl e 64% livelli di LDL-C < 130 mg/dl. Livelli di sitosterolo $> 0,8$ mg/dl (> 99 percentile) erano presenti nel 4,3% degli individui con LDL-C ≥ 190 mg/dl, mentre tra gli individui con LDL-C < 130 mg/dl soltanto lo 0,72% presentava tali livelli elevati di sitosterolo. Fra tutti i soggetti, a prescindere dai livelli di LDL-C, lo 0,05% aveva livelli plasmatici di sitosterolo $\geq 1,5$ mg/dl (livelli consistenti con la possibile diagnosi di sitosterolemia allo stato omozigote o eterozigote composto). Tra gli individui con colesterolo LDL-C ≥ 190 mg/dl tale percentuale era maggiore (0,33%). Da questo studio emerge quindi l'indicazione che la prevalenza della sitosterolemia nella popolazione generale potrebbe aggirarsi intorno a 500 individui su 1.000.000, una prevalenza quindi molto maggiore di quanto ritenuto fino ad ora.

Infine, questo studio sottolinea i rapporti fra sitosterolemia ed ipercolesterolemia, ad indicare che alcuni individui con ipercolesterolemia grave (colesterolo LDL-C ≥ 190 mg/dl) potrebbero avere di fatto una sitosterolemia misconosciuta (28).

Varianti frequenti di ABCG5 e di ABCG8 e livelli di fitosteroli e colesterolo nel plasma

Fino dai primi studi sull'identificazione di varianti geniche di ABCG5 ed ABCG8 si è osservato che in soggetti normali i livelli plasmatici dei fitosteroli (sitosterolo e campesterolo) erano altamente ereditabili, come dimostrato da studi su famiglie o su gemelli mono-dizigoti (29). In particolare, due varianti geniche frequenti nella popolazione caucasica (con frequenza $> 5\%$) del gene ABCG8 quali:

- 1) la sostituzione aspartico-istidina in posizione 19 (Asp19His anche indicata come D19H);
- 2) la sostituzione treonina-lisina in posizione 400 (Thr400Lys, anche indicata come T400K) sono state trovate associate a più ridotti livelli plasmatici di fitosteroli, suggerendo che queste due varianti potessero conferire un "guadagno di funzione" al trasportatore ABCG5/G8 (che si traduceva in un'aumentata ri-escrezione nel lume intestinale di fitosteroli da parte dell'enterocita) (29).

Conclusioni analoghe sono state raggiunte in un altro studio (30) che ha segnalato che i portatori dell'allele raro (His19 del polimorfismo Asp19His di ABCG8) presentavano nel plasma ridotti rapporti sitosterolo/colesterolo e campesterolo/colesterolo rispetto ai non portatori, ad indicare un possibile ridotto assorbimento intestinale di fitosteroli dovuto a guada-

gno di funzione del trasportatore ABCG5/G8 (30).

Molto interessante per quanto riguarda l'impatto metabolico della variante His19 di ABCG8, è il risultato di uno studio condotto in Danimarca su un ampio campione di popolazione con e senza cardiopatia ischemica. In questo caso l'obiettivo dello studio era quello di verificare se la presenza della variante His19 di ABCG8 avesse un effetto sui livelli plasmatici di LDL-C (non essendo disponibili dati sui livelli plasmatici di fitosteroli), nell'idea che varianti di ABCG5/G8 potessero influenzare anche la concentrazione plasmatica di LDL-C (31). Questo studio ha dimostrato che la variante in questione si associava ad una riduzione dei livelli di LDL-C, confermando che essa conferiva al trasportatore ABCG5/G8 un guadagno di funzione, capace di indurre una riduzione dell'assorbimento intestinale del colesterolo (dovuto a sua volta ad una maggiore ri-escrezione nel lume intestinale del colesterolo entrato nell'enterocita tramite il trasportatore NPC1L1 (31). Tuttavia la presenza di questa stessa variante si associava ad una maggiore frequenza di calcoli biliari, da attribuirsi ad una aumentata escrezione di colesterolo nella bile mediata dal guadagno di funzione del trasportatore ABCG5/G8 epato-biliare.

Ruolo di geni modificatori sul fenotipo della sitosterolemia

È verosimile che l'espressione clinica della sitosterolemia possa essere influenzata dall'intervento di varianti rare o frequenti in altri geni che controllano l'assorbimento intestinale e la secrezione biliare degli steroli. Per esempio è ragionevole ipotizzare che la presenza di eventuali varianti con perdita di funzione del trasportatore NPC1L1 possa tradursi in una

riduzione dell'assorbimento di colesterolo e di fitosteroli, inducendo un fenotipo clinico "meno severo" di sitosterolemia. Un esempio in merito proviene da uno studio cinese (32) che descrive una paziente con sitosterolemia conclamata (ipercolesterolemia severa e xantomi) dovuta ad eterozigosi composta per due varianti patogenetiche del gene *ABCG8*. La sorella della paziente, portatrice delle stesse due varianti di *ABCG8*, non presentava ipercolesterolemia e xantomi, ma solamente elevati livelli di fitosteroli nel sangue simili a quelli della probanda. La sorella asintomatica è risultata portatrice di due varianti nel gene *NPC1L1*, che potrebbero avere avuto un ruolo "protettivo" nei confronti dell'espressione clinica della sitosterolemia, riducendo l'assorbimento intestinale del colesterolo (32). Convincenti in merito sono gli studi condotti sui topi *Abcg5/g8*(-/-) (topi sitosterolemici) nei quali è stato inattivato il gene *NPC1L1* (vedi oltre).

Modello animale di sitosterolemia

Nel 2003 Hobbs e Cohen (33) hanno generato topi *knock out* per i geni *Abcg5* e *Abcg8* (topi *g5/g8*(-/-). Questi animali hanno un incremento di 2-3 volte dell'assorbimento intestinale dei fitosteroli che si associa ad incremento di 30 volte dei loro livelli plasmatici ed una notevole riduzione del colesterolo escreto con la bile. I livelli plasmatici di colesterolo sono ridotti del 50% negli animali alimentati con dieta normale, ma presentano un incremento di 2-18 volte dopo somministrazione di una dieta contenente colesterolo. L'eliminazione dei due geni *Abcg5/g8* (e la conseguente perdita del trasportatore *Abcg5/g8*) aumenta enormemente la risposta del colesterolo plasmatico al contenuto di colesterolo nella dieta. Questo studio enfatizza un aspetto importante riguardante i livelli plasmatici

di colesterolo nella sitosterolemia e come questa patologia potrebbe essere influenzata dalla quantità di colesterolo presente nella dieta, Questo concetto trova supporto nell'osservazione che topi *Abcg5/g8* (-/-) nei quali è stata indotta l'inattivazione del gene *NPC1L1* (*Npc1l1* (-/-) non accumulano fitosteroli nel sangue e nel fegato e non presentano ipercolesterolemia come invece si verifica nei topi sitosterolemici *Abcg5/g8* (-/-) alimentati con dieta contenente colesterolo (34).

Alcune ulteriori osservazioni nei topi depongono per una maggiore efficienza di trasporto sterolico dell'etero-dimero *Abcg5/g8* epato-biliare rispetto a quello intestinale. Berge et al. (13) nell'iniziale studio sulla caratterizzazione geneticomolecolare di alcuni pazienti affetti da sitosterolemia avevano anche osservato che nei topi alimentati con dieta ricca in colesterolo l'mRNA per *Abcg5* e *Abcg8* aumentava di circa 2 volte nell'intestino e >3 volte nel fegato, suggerendo un ruolo predominante epatico nel mantenimento dell'omeostasi degli steroli. Questa ipotesi ha trovato conferma in uno studio molto recente condotto su tre modelli animali di topi che presentavano rispettivamente:

- 1) inattivazione genica totale *Abcg5/g8* (-/-);
- 2) inattivazione genica *Abcg5/g8* intestinale (-/-);
- 3) inattivazione genica *Abcg5/g8* epatica (-/-).

Nei topi *Abcg5/g8* intestinale (-/-) l'eccesso di assorbimento degli steroli vegetali veniva totalmente contrastato dall'aumentata secrezione degli steroli nella bile da parte delle proteine *Abcg5/g8* epatiche presenti e funzionalmente attive (+/+), mentre nei topi con *Abcg5/g8* epatiche (-/-) si realizzava un notevole accumulo di steroli nel fegato e nel plasma (35). Questi riscontri sperimentali in modelli animali supportano e

sono esplicitivi di quanto riportato da Mietinen et al. (36) riguardo la completa remissione della patologia in un giovane paziente sitosterolemico cirrotico dopo trapianto di fegato, in quanto le proteine ABCG5/G8 epatiche (+/+) (del fegato trapiantato) erano in grado di compensare l'eccesso di assorbimento intestinale di steroli da difetto ABCG5/G8 degli enterociti.

Terapia dietetica e farmacologica della Sitosterolemia

Il principale obiettivo della terapia dietetica e farmacologica dei pazienti affetti da sitosterolemia è la drastica riduzione delle concentrazioni plasmatiche di colesterolo e fitosteroli onde prevenire o ridurre la formazione della xantomatosi cutanea e tendinea, le complicanze artropatiche, il possibile sviluppo dell'arteriopatia aterosclerotica e le alterazioni eritrocitarie e piastriniche. Il primo approccio terapeutico consiste nella restrizione dietetica degli alimenti ad elevato contenuto di colesterolo (latte materno nell'infante ed alimenti ad alto contenuto di grassi saturi e colesterolo dopo lo svezzamento) e di fitosteroli (in particolare oli vegetali, margarine, pistacchi, noci, nocciole, mandorle, alcuni semi, soia, avocado, cioccolato fondente arricchito con fitosteroli dell'olio di palma, frumento integrale e derivati, molluschi contenenti alte concentrazioni di brassicasterolo derivante dalle alghe ingerite) (Tabella 1). Tra i cereali riso, segale e farina di mais sono da preferire al frumento integrale e suoi derivati. Tuttavia, la drastica riduzione dell'apporto dietetico di colesterolo e steroli vegetali, peraltro di non facile attuazione per la scarsa palatabilità, risulta in media in un decremento relativamente modesto (circa 30%) della concentrazione plasmatica di fitosteroli (12). In una nostra recente osservazione

di un paziente di 7 anni, eterozigote composto per due mutazioni nonsense del gene ABCG8 (Ser107* e Trp361*), trattato a lungo termine con la sola dieta a contenuto ristretto in colesterolo (90 mg/die) e fitosteroli (145 mg/die) abbiamo registrato una riduzione della concentrazione plasmatica di steroli totali (colesterolo + fitosteroli) del 67% e del sitosterolo del 40% (24). La terapia farmacologica, associabile a quella dietetica, si basa sull'impiego di sequestranti degli acidi biliari, come la colestiramina, o dell'ezetimibe, specifico inibitore dell'assorbimento intestinale digiuno-ileale degli steroli. La terapia con inibitori dell'HMG-CoA reductasi (statine) non trova indicazione nella terapia della sitosterolemia dato che nella maggior parte dei pazienti di età >10 anni o comunque in fase post-puberale la sintesi epatica di colesterolo è già soppressa dalla elevata concentrazione di fitosteroli nell'epatocita (5, 12, 37). La colestiramina, come altri sequestranti, si lega agli acidi biliari nel lume ileale e ne favorisce l'escrezione fecale interrompendo la loro circolazione entero-epatica cui consegue un incrementato influsso di colesterolo e altri steroli dal fegato al canalicolo biliare. La riduzione della concentrazione di steroli nell'epatocita induce un aumento della loro clearance dalla circolazione. In alcuni studi la somministrazione di colestiramina in pazienti sitosterolemici, a dosi variabili da 4 a 12 g/die, ha indotto una riduzione del 35-60% della concentrazione plasmatica di fitosteroli associata ad una più consistente riduzione del colesterolo (40-80%) ed una regressione della xantomatosi cutanea e tendinea. In altri studi tuttavia la risposta al trattamento è risultata scarsamente efficace in relazione alla scarsa aderenza alla terapia spesso giustificata dalla sgradevole palatabilità e dagli effetti collaterali, prevalentemente ga-

strointestinali, e dall'interferenza con l'assorbimento delle vitamine liposolubili (5, 11, 12). La disponibilità dal 2004 della nuova molecola ezetimibe (38) ha comportato un notevole progresso qualitativo nella terapia farmacologica della sitosterolemia (consegnando alla storia passata di questa patologia una metodologia terapeutica invasiva come il parziale *bypass* ileale utilizzato in alcuni pazienti verso la fine degli anni '80) (11, 12), circa 10 anni prima dell'identificazione delle basi geneticomolecolari della sitosterolemia. L'ezetimibe, alla dose standard di 10 mg/die, dopo attivazione epatica della molecola mediante glucuronidazione, che ne aumenta l'efficacia, si lega al trasportatore transmembrana NPC1L1 localizzato sul versante luminale degli enterociti duodeno-digiuno-ileali e sulla membrana del canalicolo biliare inibendo per il 50-60% l'assorbimento intestinale del colesterolo e degli steroli vegetali e il loro riassorbimento dal canalicolo biliare all'epatocita. In un primo consistente studio di ezetimibe contro placebo in due gruppi di pazienti sitosterolemici (30 vs 7, 86,5% di età \geq 18 anni) trattati per 8 settimane, Salen et al. (38) hanno riportato significative variazioni degli steroli plasmatici analizzati mediante separazione gas-cromatografica (sitosterolo -21,0%, campesterolo -24,3%, colesterolo LDL -13,6%, steroli totali -8,7%) associate con una tendenza alla riduzione dello spessore degli xantomi tendinei achillei e con modesti e transitori effetti collaterali gastrointestinali. Un successivo studio a lungo termine, condotto in 21 pazienti prevalentemente adulti e trattati per 2 anni con ezetimibe 10 mg/die, ha dimostrato una maggiore e costante riduzione degli steroli plasmatici (sitosterolo -43,9%, campesterolo -50,8%, steroli totali -10,3%) con modesti e transitori effetti collaterali (infezioni laringo-tracheali, cefalea, vertigini,

dolori addominali) (39). Il trattamento con ezetimibe, riducendo la concentrazione plasmatica ed eritrocitaria di fitosteroli, corregge la stomatocitosi, la tendenza all'anemia emolitica, normalizza il volume delle piastrine e ne aumenta il numero riducendo il rischio emorragico (40). La nostra personale esperienza è relativa ad una bambina iraniana di 10 anni che presentava xantomi tuberosi e tendinei, valori plasmatici di steroli totali di 392 mg/dl e di sitosterolo di 18 mg/dl ed era omozigote per una mutazione non senso (Arg446*) del gene *ABCG5* (23). La paziente, trattata per oltre 10 anni con opportuna dieta ed ezetimibe, ha presentato una rapida e costante riduzione della sterolemia totale del 48-50% e della sitosterolemia del 40%, una scomparsa della xantomatosi cutanea e tendinea ed un modesto incremento del massimo spessore medio-intimale carotideo da 0,43 mm a 0,50 mm nel corso degli anni, con ottima tolleranza alla terapia farmacologica (dati non pubblicati). Recentemente abbiamo effettuato la diagnosi genetico-molecolare di una bimba italo-cinese di 2 anni che presentava xantomi piani e tuberosi, una sterolemia totale di 770 mg/dl ed una sitosterolemia di 7,9 mg/dl. La bimba è risultata eterozigote composta per due mutazioni nonsense del gene *ABCG5* (Gln251* e Arg446*) e trattata con dieta a basso contenuto in grassi (12%), in colesterolo (70 mg/die) e fitosteroli (55 mg/die) associata ad ezetimibe; nel corso dei 18 mesi di osservazione il livello plasmatico degli steroli totali si è ridotto del 76%, ma il livello di sitosterolo soltanto del 6%, peraltro con la totale scomparsa della xantomatosi (24). Nonostante gli ottimi risultati ottenuti in vari studi con ezetimibe, in nessun caso è stata ottenuta la normalizzazione dei livelli plasmatici di fitosteroli anche nei trattamenti a lungo termine (17). La terapia combina-

ta colestiramina ed ezetimibe, pur inducendo una maggiore riduzione del sitosterolo e del campesterolo (~50%), non normalizza i livelli plasmatici a fronte comunque di alcuni benefici clinici, quali la regressione degli xantomi, la correzione della trombocitopenia e l'apparente regressione di alcune alterazioni cardiovascolari (41). Degna di nota è la scarsa o assente risposta terapeutica all'ezetimibe, in particolare sui livelli plasmatici di fitosteroli, segnalata in alcuni pazienti nel corso dei primi 2 anni di vita e prevalentemente attribuita ad immaturità del sistema di glucuronidazione epatica del farma-

Promemoria sulla Sitosterolemia

- La sitosterolemia è un raro disordine genetico a trasmissione recessiva associato ad aumentati livelli di steroli vegetali (fitosteroli) nel plasma e in alcuni tessuti.
- Le manifestazioni cliniche includono xantomi, artralgie/artriti, trombocitopenia con megacariocitosi, occasionali crisi emolitiche con stomatocitosi e possibile predisposizione all'aterosclerosi prematura. I livelli plasmatici di colesterolo sono variabili, da estremamente elevati come nell'FH-omozigote, a moderatamente elevati o normali.
- Il difetto genetico consiste nella perdita di funzione del trasportatore dimerico *ABCG5/G8* che è responsabile dell'espulsione dei fitosteroli e del colesterolo dall'enterocita al lume intestinale e dall'epitelio del canalicolo biliare.
- La perdita di funzione del trasportatore *ABCG5/G8* è dovuta a mutazioni bi-alleliche nel gene *ABCG5* o nel gene *ABCG8*.
- Elevati livelli plasmatici di fitosteroli superiori a 10 mg/dl (valori normali <1 mg/dl) sono suggestivi di sitosterolemia.
- Il dosaggio dei fitosteroli nel plasma richiede l'impiego di metodologie specifiche (es. gas cromatografia-spettrometria di massa) per differenziare i fitosteroli dal colesterolo.
- La dieta con ridotti livelli di steroli vegetali e colesterolo e il trattamento farmacologico con ezetimibe risultano essere efficaci non solo nel ridurre i livelli plasmatici di fitosteroli e di colesterolo, ma anche nell'indurre la scomparsa degli xantomi.

co durante la prima infanzia (17). In relazione alla supposta predisposizione all'aterosclerosi prematura nei pazienti con sitosterolemia, una recente analisi del quadro lipoproteico in sitosterolemici in trattamento con ezetimibe sembra deporre per un effetto anti-aterogeno del farmaco correlato con variazioni compositive delle sottoclassi lipoproteiche; in particolare, riduzione dei fitosteroli del 36,4% e del co-

lesterolo del 13,7%, riduzione degli steroli LDL del 22,7% ed aumento degli steroli HDL del 25,5%, riduzione della massa di steroli nelle VLDL di grandi dimensioni, nelle VLDL remnants e nelle grandi IDL ed aumento della massa sterolica nelle HDL di grandi ed intermedie dimensioni, in assenza di modificazioni delle sottoclassi LDL di grandi ed intermedie dimensioni (42).

RIASSUNTO

La Sitosterolemia è considerata un raro disordine genetico a trasmissione autosomica recessiva, la cui base fisiopatologica è rappresentata da un difetto di funzione della via metabolica che previene l'assorbimento intestinale e la ritenzione di steroli vegetali (fitosteroli e fitostanoli) nell'organismo. Le manifestazioni cliniche sono variabili:

1. simili, in alcuni casi, a quelle presenti nella ipercolesterolemia familiare (FH) classica, come gli xantomi cutanei e tendinei, elevati livelli di LDL-colesterolo e la predisposizione allo sviluppo della cardiopatia ischemica prematura su base aterosclerotica;
2. quasi asintomatiche in altri casi con normocolesterolemia.

Altre manifestazioni comprendono artralgie/artriti, emorragie per trombocitopenia con macrocitosi e occasionali crisi emolitiche con stomatocitosi.

I geni coinvolti nella sitosterolemia sono il gene *ABCG5* (codificante la proteina sterolina-1 o ABCG5) ed il gene *ABCG8* (codificante la proteina sterolina-2 o ABCG8), due geni adiacenti localizzati sul cromosoma 2. La proteina ABCG5 e la proteina ABCG8 formano un etero-dimero che funziona come trasportatore di membrana (trasportatore ABCG5/G8) responsabile dell'espulsione di fitosteroli e, in misura minore, di colesterolo dall'enterocita al lume intestinale e dall'epatocita al canalicolo biliare. La perdita di funzione di questo trasportatore si traduce nell'accumulo di fitosteroli nel sangue e in alcuni tessuti. Fino ad oggi sono stati riportati più di 170 casi di sitosterolemia, per la maggior parte caratterizzati a livello genetico-molecolare. La prevalenza della sitosterolemia non è nota; il dosaggio dei fitosteroli plasmatici su un ampio campione di popolazione sembra indicare una frequenza di individui con livelli plasmatici di sitosteroli compatibili con la diagnosi di sitosterolemia, pari allo 0,5 per 1.000. Obiettivo di questa rassegna è un aggiornamento riguardante gli aspetti clinici, fisiopatologici e genetico-molecolari, nonché il trattamento dietetico e farmacologico della sitosterolemia.

Parole chiave: *Sitosterolemia; assorbimento degli steroli; xantomatosi; ipercolesterolemia; ezetimibe.*

Bibliografia

1. Bhattacharyya AK, Connor WE. Beta-sitosterolemia and xanthomatosis. A newly described lipid storage disease in two sisters, *J Clin Invest.* 1974; 53: 1033-1043.
2. Beaty TH, Kwiterovich PO Jr, Khoury MJ, et al. Genetic analysis of plasma sitosterol, apoprotein B, and lipoproteins in a large Amish pedigree with sitosterolemia. *Am J Hum Genet.* 1986; 38: 492-504.
3. Bhattacharyya AK, Connor WE, Lin DS, et al. Sluggish sitosterol turnover and hepatic failure to excrete sitosterol into bile cause expansion of body pool of sitosterol in patients with sitosterolemia and xanthomatosis. *Arterioscler Thromb.* 1991; 11: 1287-1294.
4. Salen G, Tint GS, Shefer S, Shore V, Nguyen L. Increased sitosterol absorption is offset by rapid elimination to prevent accumulation in heterozygotes with sitosterolemia. *Arterioscler Thromb.* 1992; 12: 563-568.
5. Othman RA, Myrie SB, Jones PJ. Non-cholesterol sterols and cholesterol metabolism in sitos-

- terolemia. *Atherosclerosis*. 2013; 231: 291-299.
6. Chan YM, Varady KA, Lin Y, et al. Plasma concentrations of plant sterols: physiology and relationship with coronary heart disease. *Nutr Rev*. 2006; 64: 385-402.
 7. Salen G, Batta AK, Tint GS, et al. Inverse relationship between plasma cholestanol concentrations and bile acid synthesis in sitosterolemia. *J Lipid Res*. 1994; 35: 1878-1887.
 8. Brown JM, Yu L. Protein mediators of Sterol transport across intestinal brush border membrane. *Subcell Biochem*. 2010; 51: 337-380.
 9. Yu XH, Qian K, Jiang N, et al. ABCG5/ABCG8 in cholesterol excretion and atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 2014; 428: 82-88.
 10. Gylling H, Simonen P. Phytosterols, Phytosteranols, and Lipoprotein Metabolism, *Nutrients*. 2015; 7: 7965-7977.
 11. Ajagbe BO, Othman RA, Myrie SB. Plant Sterols, Stanols, and Sitosterolemia. *J AOAC Int*. 2015; 98: 716-723.
 12. Yoo EG. Sitosterolemia: a review and update of pathophysiology, clinical spectrum, diagnosis, and management, *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2016; 21: 7-14.
 13. Berge KE, Tian H, Graf GA, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science*. 2000; 290: 1771-1775.
 14. Lee MH, Lu K, Hazard S, Yu H, et al. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet*. 2001; 27: 79-83.
 15. Lu K, Lee MH, Hazard S, et al. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet*. 2001; 69: 278-290.
 16. Rios J, Stein E, Shendure J, et al. Identification by whole-genome resequencing of gene defect responsible for severe hypercholesterolemia. *Hum Mol Genet*. 2010; 19: 4313-4318.
 17. Niu DM, Chong KW, Hsu JH, et al. Clinical observations, molecular genetic analysis, and treatment of sitosterolemia in infants and children. *J Inherit Metab Dis*. 2010; 33: 437-443.
 18. Park JH, Chung IH, Kim DH, et al. Sitosterolemia presenting with severe hypercholesterolemia and intertriginous xanthomas in a breastfed infant: case report and brief review. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99: 1512-1518.
 19. Tada H, Kawashiri MA, Takata M, et al. Infantile Cases of Sitosterolaemia with Novel Mutations in the ABCG5 Gene: Extreme Hypercholesterolaemia is Exacerbated by Breastfeeding. *JIMD Rep*. 2015; 21:115-122.
 20. Tada H, Kawashiri MA, Okada H, et al. A Rare Coincidence of Sitosterolemia and Familial Mediterranean Fever Identified by Whole Exome Sequencing. *J Atheroscler Thromb*. 2016; 23: 884-890.
 21. Renner C, Connor WE, Steiner RD. Sitosterolemia Presenting as Pseudohomozygous Familial Hypercholesterolemia. *Clin Med Res*. 2016; 14: 103-108.
 22. Ono S, Matsuda J, Saito A, Yamamoto T, et al. A case of sitosterolemia due to compound heterozygous mutations in ABCG5: clinical features and treatment outcomes obtained with colestimide and ezetimibe. *Clin Pediatr Endocrinol*. 2017; 26: 17-23.
 23. Mannucci L, Guardamagna O, Bertucci P, et al. Beta-sitosterolaemia: a new nonsense mutation in the ABCG5 gene. *Eur J Clin Invest*. 2007; 37: 997-1000.
 24. Buonomo PS, Iughetti L, Pisciotta L, et al. Timely diagnosis of sitosterolemia by next generation sequencing in two children with severe hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2017; 262: 71-77.
 25. Patel MD, Thompson PD. Phytosterols and vascular disease. *Atherosclerosis*. 2006; 186: 12-19.
 26. Hansel B, Carrié A, Brun-Druc N, et al. Premature atherosclerosis is not systematic in phytosterolemic patients: severe hypercholesterolemia as a confounding factor in five subjects. *Atherosclerosis*. 2014; 234: 162-168.
 27. Horenstein RB, Mitchell BD, Post WS, et al. The ABCG8 G574R variant, serum plant sterol levels, and cardiovascular disease risk in the Old Order Amish. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013; 33: 413-419.
 28. Brinton EA, Hopkins PN, Hegele RA, et al. The association between hypercholesterolemia and sitosterolemia, and report of a sitosterolemia kindred. *J Clin Lipidol*. 2018; 12: 152-161.
 29. Berge KE, von Bergmann K, Lutjohann D, et al. Heritability of plasma noncholesterol sterols and relationship to DNA sequence polymorphism in ABCG5 and ABCG8. *J Lipid Res*. 2002; 43: 486-494.
 30. Jakulj L, Vissers MN, Tanck MW, et al. ABCG5/G8 polymorphisms and markers of cholesterol metabolism: systematic review and meta-analysis. *J Lipid Res*. 2010; 51: 3016-3023.
 31. Stender S, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. The ABCG5/8 cholesterol transporter and myocardial infarction versus gallstone disease. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63: 2121-2128.
 32. Hu M, Yuen YP, Kwok JS, et al. Potential effects of NPC1L1 polymorphisms in protecting against clinical disease in a Chinese family with sitoste-

- rolaemia. *J Atheroscler Thromb.* 2014; 21: 989-995.
33. Yu L, Hammer RE, Li-Hawkins J, et al. Disruption of *Abcg5* and *Abcg8* in mice reveals their crucial role in biliary cholesterol secretion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 16237-16242.
 34. Tang W, Ma Y, Jia L, et al. Genetic inactivation of *NPC1L1* protects against sitosterolemia in mice lacking *ABCG5/ABCG8*. *J Lipid Res.* 2009; 50: 293-300.
 35. Wang J, Mitsche MA, Lütjohann D, et al. Relative roles of *ABCG5/ABCG8* in liver and intestine. *J Lipid Res.* 2015; 56: 319-330.
 36. Miettinen TA, Klett EL, Gylling H, et al. Liver transplantation in a patient with sitosterolemia and cirrhosis. *Gastroenterology.* 2006; 130: 542-547.
 37. Mymin D, Salen G, Triggs-Raine B, et al. The natural history of phytosterolemia: observations on its homeostasis. *Atherosclerosis.* 2018; 269: 122-128.
 38. Salen G, von Bergmann K, Lütjohann D, et al. Muticenter Sitosterolemia Study Group. Ezetimibe effectively reduces plasma plant sterols in patients with sitosterolemia. *Circulation.* 2004; 109: 966-971.
 39. Lütjohann D, von Bergmann K, Sirah W, et al. Long-term efficacy and safety of ezetimibe 10 mg in patients with homozygous sitosterolemia: a 2-year, open-label extension study. *Int J Clin Pract.* 2008; 62: 1499-1510.
 40. Othman RA, Myrie SB, Mymin D et al. Ezetimibe reduces plant sterol accumulation and favorably increases platelet count in sitosterolemia. *J Pediatr.* 2015; 166: 125-131.
 41. Salen G, Starc T, Sisk CM, Patel SB. Intestinal cholesterol absorption inhibitor ezetimibe added to cholestyramine for sitosterolemia and xanthomatosis. *Gastroenterology.* 2006; 130: 1853-1857.
 42. Othman RA, Myrie SB, Mymin D, et al. Effect of ezetimibe on low- and high-density lipoprotein subclasses in sitosterolemia. *Atherosclerosis.* 2017; 260: 27-33.

FISIOPATOLOGIA DELLA PLACCA

EFFETTO DEGLI ANTICORPI ANTI-PCSK9 NELLA STABILIZZAZIONE E REGRESSIONE DELLA PLACCA ATEROSCLEROTICA: IL MITO ANCORA VIVO DELLA RESTAURAZIONE VASCOLARE

Effect of PCSK9 inhibition on coronary plaque stabilization and regression: the still alive myth of vascular restoration

ANTONIO LANDI MD, MASSIMO NAPODANO MD

Dipartimento Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari, Università degli Studi di Padova

SUMMARY

Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) is a circulating protein that reduces low-density lipoprotein (LDL) receptor recycling to the hepatic surface, limiting removal of LDL particles from the circulation. Recent evidence suggest that PCSK9 participates in the initiation and progression of coronary atherosclerosis through regulation of cholesterol metabolism, inflammatory response and stabilization of atherosclerotic plaques.

PCSK9 inhibitors have emerged as novel therapeutic tools for hypercholesterolemia, regulating also atherosclerotic plaque stabilization and regression. Here we propose an overview of the effects of PCSK9 inhibitors on vascular restoration, by means of intravascular imaging techniques, and its impact on clinical outcomes. First, we describe the effects of lipid-lowering drugs on coronary plaque composition and extension. Then, we extensively discuss new insights into stabilization and regression of coronary plaque, such as determinants of plaque volume regression by intravascular ultrasonography (IVUS), their clinical relevance and the new emerging role of PCSK9 inhibitors on progression of coronary atherosclerosis in statin-treated patients. Indeed, the GLAGOV trial, a recent large study conducted among patients with coronary artery disease, demonstrated that adding evolocumab (a PCSK9 inhibitor) to statin treatment resulted in a 1% greater decrease in percent atheroma volume (PAV), measured by serial IVUS imaging, after 76 weeks. Finally, we present a brief overview of the impact of PCSK9 inhibition on cardiovascular outcomes. However, the overall picture of the clinical relevance of atheroma volume reduction and plaque regression should be investigated in further studies.

Key words: *coronary atherosclerosis, PCSK9 inhibitors, plaque regression, intravascular imaging techniques, vulnerable plaque, myocardial infarction.*

Introduzione

L'aterosclerosi coronarica è la causa principale della cardiopatia ischemica acuta o cronica e riconosce nella placca aterosclerotica la sua lesione elementare. Solo fino a tre decenni fa, il punto di vista dominante nella comunità scientifica riteneva l'aterosclerosi coronarica una deposizione passiva e irreversibile di detriti lipidici nella parete arteriosa. Successivamente, l'avvento della biologia cellulare e molecolare e, in particolare, dell'ingegneria genetica, capace di testare direttamente il ruolo di specifiche molecole in modelli sperimentali di aterosclerosi, ha soppiantato tale dogma e la più moderna e complessa "teoria dell'infiammazione" è oggi universalmente accettata come la base fisiopatologica della malattia aterosclerotica (1). Secondo questa teoria, l'aterosclerosi si sviluppa in alcune specifiche regioni arteriose "athero-prone" che presentano alterato *shear-stress* di parete. Questo si traduce poi nell'attivazione delle cellule endoteliali in senso pro-infiammatorio, l'espressione di molecole di adesione e chemo-attrattori e il reclutamento dei monociti e leucociti circolanti negli strati sub-intimali della parete vasale. Il successivo differenziamento dei monociti in macrofagi, il loro accumulo delle particelle ossidate di colesterolo-LDL (low density lipoprotein), la trasformazione in "foam-cells" e lo switch fenotipico delle cellule muscolari lisce contribuiscono allo

sviluppo e alla progressione della placca aterosclerotica. È importante sottolineare che le cellule infiammatorie sono coinvolte nello sviluppo e nella progressione, ma anche nella destabilizzazione della placca aterosclerotica, che conduce all'esposizione del core lipidico nel lume vasale, innescando l'aggregazione piastrinica e la formazione del trombo (2).

Tuttavia, l'aterogenesi non è un processo irreversibile; infatti, la sua progressione può essere rallentata o addirittura invertita a qualsiasi livello da specifiche strategie terapeutiche. L'ipotesi sulla possibilità di stabilizzazione e regressione dell'aterosclerosi coronarica nell'uomo è nata negli anni '90 (3) e inizialmente non fu pienamente accolta dalla comunità scientifica internazionale. Quest'idea, inizialmente supportata da modelli animali di aterogenesi in cui lesioni aterosclerotiche avanzate presentavano elementi indicativi di stabilizzazione (fibrosi, necrosi e calcificazioni), è tornata di primo piano negli ultimi anni grazie alle nuove tecniche di imaging intravascolare, che consentono, in aggiunta, di valutare prospetticamente nel tempo la sua progressione.

Elevati livelli di colesterolo LDL contribuiscono allo sviluppo e alla progressione dell'aterosclerosi coronarica, con incremento notevole della morbilità e della mortalità. Fin dalla loro introduzione nella pratica clinica, l'utilizzo delle statine ha mostrato un beneficio clinico considerevole, che si è dimostrato andare al di là del solo effetto ipolipemizzante (4). Si stima, infatti, che per ogni riduzione di 40 mg/dL (1 mmol/l) di colesterolo LDL, il rischio di eventi cardiovascolari maggiori si riduca del 24% con la terapia statinica (5). Diversi altri farmaci intervengono nella riduzione dei livelli di colesterolo LDL; di questi, l'ezetimibe si è dimostrato capace di ridurre il rischio di eventi cardiovascolari maggio-

Indirizzo per la corrispondenza

Massimo Napodano
Unità Operativa di Emodinamica e Cardiologia
Interventistica, Dipartimento Scienze
Cardiologiche, Toraciche e Vascolari, Università
degli Studi di Padova
Via Giustiniani, 2 - 35128 Padova
E-mail: massimo.napodano@gmail.com

ri del 6-7% quando somministrato in aggiunta alla terapia con statine (6).

Tuttavia, nonostante i notevoli progressi nell'ambito della prevenzione cardiovascolare su larga scala, i dati più recenti della letteratura riconoscono ancora oggi le malattie cardiovascolari come la principale causa di mortalità nel mondo Occidentale (7). In questo scenario, quattro questioni rimangono ancora aperte e meritano di essere citate e affrontate adeguatamente. Prima di tutto, l'efficacia delle norme di prevenzione secondaria nel mondo reale, che documenta dati non confortanti: solo il 30% dei pazienti con malattia coronarica, infatti, raggiunge il target di colesterolo LDL stabilito dalle attuali indicazioni internazionali (<70 mg/dL) (8). Inoltre, alcuni sotto-gruppi ad alto rischio, come i pazienti con ipercolesterolemia familiare, spesso non raggiungono i target terapeutici (9) e il 5-10% dei pazienti sviluppa intolleranza alle statine (10). In ultimo, nonostante rivascolarizzazione coronarica adeguata e terapia medica ottimizzata, un numero considerevole di pazienti (tra il 10 e il 20%) con sindrome coronarica acuta va incontro comunque ad un evento cardiovascolare maggiore nei 12 mesi successivi all'evento acuto (11). Al fine di ridurre ulteriormente il rischio cardiovascolare residuo, una considerevole ricerca clinica si è quindi concentrata sullo sviluppo di nuove strategie terapeutiche volte a prevenire o ritardare la progressione della malattia coronarica. Sin dalla sua scoperta nel 2003 (12), il pathway della proproteina convertasi subtilisina kexina tipo 9 (PCSK9) è passato rapidamente dall'essere oggetto di numerosi studi di base e clinici, volti a determinare il suo ruolo fisiopatologico nell'aterosclerosi coronarica, a diventare un nuovo interessante target terapeutico nell'ambito della prevenzione cardiovascolare (13). Due anticorpi monoclonali

Punti chiave

- L'aterosclerosi coronarica è una malattia infiammatoria cronica la cui progressione può essere rallentata o addirittura invertita da specifici trattamenti farmacologici, come dimostrato da diversi studi che hanno utilizzato metodiche di imaging intravascolare.
- Gli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 si sono dimostrati capaci di ridurre i livelli di colesterolo LDL ai valori più bassi raggiunti da una terapia ipolipemizzante ottimizzata.
- Il GLAGOV trial è il primo studio che ha documentato una regressione di placca in termini di volume percentuale dell'ateroma (PAV) dell'1% utilizzando un anticorpo monoclonale anti-PCSK9, l'evolocumab.
- Altri fattori, come il plaque burden, il rimodellamento vasale e la composizione tissutale di placca hanno un ruolo notevole nel determinare il rischio cardiovascolare "residuo" dei pazienti ad alto rischio.
- L'impatto della regressione di placca sugli outcomes clinici dovrà essere chiarito in ulteriori studi, sebbene le iniziali evidenze sembrano dimostrare un effettivo beneficio clinico.

anti-PCSK9 hanno ottenuto l'approvazione da parte della *Food and Drug Administration* (FDA): evolocumab e alirocumab. In questa rassegna, alla luce delle recenti evidenze dello studio GLAGOV (14), discuteremo l'effetto dell'evolocumab nella stabilizzazione e regressione della placca aterosclerotica (determinata mediante tecniche di imaging intravascolare) e come quest'ultimo possa tradursi in un effettivo miglioramento degli outcomes cardiovascolari.

Effetto dei farmaci ipolipemizzanti sulla placca aterosclerotica

Il beneficio clinico della terapia ipolipemizzante con statine è ormai ben definito (15) e il loro utilizzo nei pazienti con cardiopatia ischemica è ampiamente promosso dalle attuali linee guida (16). In aggiun-

ta all'effetto diretto di riduzione dei livelli di colesterolo LDL, le statine possiedono diversi effetti pleiotropici nella stabilizzazione dell'aterosclerosi coronarica, modulando l'omeostasi della funzione endoteliale, lo stress ossidativo e l'infiammazione di placca (17). Gli effetti delle statine sulla progressione della placca aterosclerotica sono stati studiati *in vivo* attraverso differenti tecniche di imaging, come la tomografia ottica computerizzata (OCT, Optical Coherence Tomography), la TC coronarica e l'ultrasonografia intravascolare (IVUS, Intravascular Ultrasonography). In particolare, numerosi studi mediante l'utilizzo dell'IVUS hanno dimostrato come la terapia con statine ad elevata intensità sia capace di indurre una regressione del "plaque burden" (18-20). Kataoka et al. hanno analizzato i dati provenienti da otto studi clinici sull'effetto delle statine nelle cosiddette placche "vulnerabili" all'IVUS (ampio volume dell'ateroma, rimodellamento positivo e calcificazione "spotty"), dimostrando una regressione maggiore nei pazienti con placca "vulnerabile", suggerendo così un effetto di stabilizzazione mediato dalla terapia con statine (21). Tali evidenze sono supportate anche da studi che hanno utilizzato l'OCT (22, 23).

Oltre alle statine, un'altra terapia ipolipemizzante che agisce riducendo l'assorbimento del colesterolo a livello intestinale, l'ezetimibe, rientra nelle attuali linee guida di trattamento (16). Lo studio IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial) ha, infatti, mostrato una riduzione degli eventi cardiaci avversi in più di 18.000 pazienti in trattamento con ezetimibe e simvastatina rispetto alla sola simvastatina (24). Uno studio clinico randomizzato mediante l'utilizzo dell'IVUS ha documentato, inoltre, che la terapia di associazione ezetimibe più statina correla con il rimodellamento

negativo e induce una regressione della placca coronarica maggiore rispetto alla sola terapia statinica (25).

Recentemente, è emersa una nuova classe di farmaci ipolipidemizzanti, gli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 alirocumab ed evolocumab. Il PCSK9 è una proteina che lega il recettore per le LDL espresso sulla superficie degli epatociti, portando alla distruzione del recettore e impedendo così il suo "recycling" intra-cellulare. Attraverso l'inibizione del PCSK9, questi nuovi farmaci si sono dimostrati in grado di ridurre, in maniera significativa (fino al 60%), i livelli di colesterolo LDL in aggiunta alla terapia con statine (26). È importante, inoltre, sottolineare come i livelli di PCSK9 correlino direttamente con le dimensioni del "necrotic core" delle placche aterosclerotiche nelle lesioni coronariche cosiddette "non culprit" (27). L'impatto dell'inibizione del PCSK9 sulla vulnerabilità di placca dovrà essere chiarito in ulteriori studi, ma iniziali evidenze riguardo l'alirocumab hanno mostrato una riduzione sia dell'infiltrato dei macrofagi di placca che delle dimensioni del "necrotic core" in un modello murino di aterosclerosi (28). Il GLAGOV trial (Global Assessment of Plaque Regression With a PCSK9 Antibody as Measured by Intravascular Ultrasound) ha documentato, mediante l'utilizzo dell'IVUS, una riduzione del volume percentuale dell'ateroma (PAV) nei pazienti trattati con evolocumab per 78 settimane (14). In un'analisi post-hoc del ODYSSEY LONG TERM study (Long-term Safety and Tolerability of Alirocumab in High Cardiovascular Risk Patients with Hypercholesterolemia Not Adequately Controlled with Their Lipid Modifying Therapy) (29), l'utilizzo di un inibitore del PCSK9, l'alirocumab, oltre alla terapia con statine, ha documentato una maggior sopravvivenza libera da eventi cardiaci e cerebrovasco-

lari maggiori (MACCEs, “Major Adverse Cardiac and Cerebrovascular Events”, definita come morte cardiaca, infarto miocardico non fatale, ictus ischemico, angina instabile richiedente l’ospedalizzazione). Prima di trattare più in dettaglio gli effetti dell’inibizione del PCSK9 sulla progressione dell’aterosclerosi coronarica alla luce delle recenti evidenze del GLAGOV trial, è importante chiarire i concetti di stabilizzazione e regressione di placca e come questi possano essere valutati *in vivo* mediante le tecniche di imaging intravascolare.

Stabilizzazione e regressione della placca aterosclerotica: dagli studi istopatologici al real-world

I notevoli progressi nella comprensione degli aspetti fisiopatologici dell’aterosclerosi coronarica, la migliore caratterizzazione tissutale della placca aterosclerotica e lo sviluppo di nuove tecniche di imaging *in vivo* che consentono valutazioni prospettiche nel tempo, hanno consentito di analizzare più in profondità l’effetto di strategie farmacologiche capaci di determinare la stabilizzazione o la regressione della placca aterosclerotica.

Stabilizzazione e regressione di placca rappresentano due fenomeni diversi e in parte correlati tra loro. La stabilizzazione consiste nel determinare un’alterazione della struttura e della composizione tissutale della placca o del sovrastante endotelio al fine di prevenire o ridurre la gravità della rottura di placca. Una serie di studi post-mortem e angiografici hanno mostrato come l’incidenza di infarto miocardico non è direttamente correlata al grado di stenosi coronarica (30). Di conseguenza, l’in-stabilizzazione della placca aterosclerotica, piuttosto che la sua dimensione assoluta, è stata considerata per anni il maggiore determinante della rottura di placca.

In realtà, come vedremo, i due fenomeni sono interconnessi tra loro e hanno un impatto comune e sinergico sugli outcomes clinici.

La regressione consiste, invece, nella riduzione complessiva del volume di placca, effetto mediato dalla riduzione delle dimensioni del pool lipidico, del “necrotic core” e dal ripristino della normale funzione endoteliale, andando quindi al di là della semplice stabilizzazione. Nonostante le critiche iniziali della comunità scientifica, gli iniziali studi di Nissen et al. (19, 20, 31), più di dieci anni fa, hanno mostrato come non solo bloccare la progressione, ma anche indurre una regressione di placca sia un obiettivo realistico in determinati pazienti.

Nelle fasi iniziali della malattia aterosclerotica, la crescita della placca è eccentrica, determinando così un’espansione compensatoria del vaso verso l’esterno, in modo tale da preservarne il lume (rimodellamento “positivo”) (32), a differenza del rimodellamento “negativo” che vede un restringimento dell’area vasale complessiva, per la riduzione dell’area alla

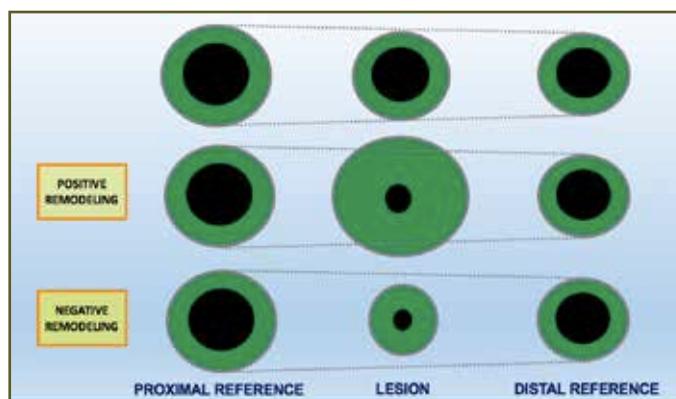


Figura 1 - Rimodellamento positivo e negativo. A seconda della dimensione della membrana elastica esterna (EEM) rispetto alla sua dimensione stimata nella sede della lesione, il rimodellamento vasale può essere positivo (in caso di espansione verso l’esterno) o negativo (in caso di riduzione dell’area vasale).

membrana elastica esterna (*Figura 1*). Numerosi studi hanno correlato il rimodellamento “positivo” alla presenza di un core lipidico più esteso e un maggior infiltrato di macrofagi, entrambi marker di vulnerabilità di placca, mentre il rimodellamento “negativo” si associa ad un maggior grado di stenosi in pazienti con lesioni calcifiche più stabili (33).

L'angiografia coronarica costituisce il gold standard per la valutazione della placca aterosclerotica. Tuttavia, la sua stima è basata sulla visualizzazione della stenosi del lume vasale, non essendo in grado di rilevare l'effetto del rimodellamento espansivo e, quindi, di misurare accuratamente variazioni nel volume dell'ateroma. L'ultrasonografia intravascolare (IVUS) è l'unica metodica in grado di caratterizzare la placca aterosclerotica *in vivo*, di valutare la parete avventiziale esterna dell'arteria e di analizzare il rimodellamento positivo, noto fattore di rischio per la rottura di placca (34).

Le attuali raccomandazioni internazionali (35) hanno stabilito due parametri fondamentali nella definizione volumetrica della placca aterosclerotica alla valuta-

zione IVUS: il volume totale dell'ateroma (TAV) e il volume percentuale dell'ateroma (PAV), come rappresentato nella *Figura 2*. I bordi del lume e della membrana elastica esterna (EEM) su ogni frame sono usualmente tracciati mediante planimetria manuale. L'area di placca (o plaque area) è definita come l'area occupata tra questi bordi ($EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA}$). Il volume totale dell'ateroma (TAV) è calcolato come la sommatoria dell'area di placca misurata in ogni frame:

$$TAV = \sum (EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA})$$

Il volume percentuale dell'ateroma (PAV) è, invece, la proporzione del lume vasale occupata dalla placca aterosclerotica per tutto il segmento di interesse:

$$PAV = \sum \frac{EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA}}{EEM_{CSA}} \times 100$$

Il volume percentuale dell'ateroma (PAV), piuttosto che il volume totale (TAV), presenta una relazione più consistente con gli outcomes clinici (36) ed è più comunemente utilizzato per valutare l'effetto di nuove terapie farmacologiche sul grado di progressione dell'aterosclerosi coronarica. Questo sottolinea ancora una volta le complesse inter-relazioni che intercorrono tra rimodellamento positivo, “plaque burden” e insorgenza di instabilità di placca. Le placche che mostrano un rimodellamento positivo sono in genere non calcifiche, più “soffici”, con un grande core lipidico e un processo infiammatorio attivo, essendo più frequentemente associate a rottura di placca (a differenza di quelle con rimodellamento negativo più comuni nei pazienti con angina stabile).

L'IVUS convenzionale a scala di grigi presenta, tuttavia, significative limitazioni nella valutazione della composizione della placca aterosclerotica e nell'identificazio-

$$TAV = \sum (EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA})$$

$$\% \text{ change in TAV} = \frac{TAV (\text{follow-up}) - TAV (\text{baseline})}{TAV (\text{baseline})} \times 100$$

$$PAV = \sum \frac{(EEM_{CSA} - LUMEN_{CSA})}{EEM_{CSA}} \times 100$$

Figura 2 - Quantificazione volumetrica dell'estensione dell'aterosclerosi coronarica valutata mediante ultrasonografia intravascolare (IVUS). Il volume totale dell'ateroma (TAV) è calcolato come la sommatoria dell'area di placca misurata in ogni frame. Il volume percentuale dell'ateroma (PAV) è, invece, la proporzione del lume vasale occupata dalla placca aterosclerotica per tutto il segmento di interesse. EEM: external elastic membrane; CSA: cross-sectional area.

ne di alcune lesioni coronariche cosiddette “vulnerabili”, come le placche a cappuccio sottile o TCFA (thin-capped fibroatheromas). Inoltre, le placche aterosclerotiche sono costituite da un mix eterogeneo di calcio, tessuto necrotico, fibroso e fibroadiposo; l'IVUS convenzionale non è in grado di distinguere accuratamente tra piccole aree a differente composizione tissutale (37). L'analisi dello spettro in radiofrequenza del segnale ultrasonico, noto come istologia virtuale o VH-IVUS (virtual-hystology Intravascular Ultrasound), è stato sviluppato per migliorare la caratterizzazione tissutale dell'IVUS, riuscendo a fornire, di conseguenza, informazioni qualitative più dettagliate sulla composizione della placca *in vivo* (38).

Virmani et al. (39) hanno proposto una classificazione istopatologica modificata della placca aterosclerotica stabilita dall'American Heart Association (40), tenendo in considerazione la tipologia di lesione, se “stabile” o “vulnerabile”. Diversi studi isto-

patologici hanno dimostrato come il tipo di placca più comunemente associato alle sindromi coronariche acute e alla morte improvvisa è la TCFA, che consiste di un grande core lipidico con un cappuccio fibroso sottile e un infiltrato infiammatorio costituito soprattutto da macrofagi. Basandosi su questa classificazione istopatologica, le diverse componenti della placca aterosclerotica possono essere distinte *in vivo*, mediante VH-IVUS, come core necrotico (necrotic core [NC], rosso), tessuto fibroadiposo (fibrofatty tissue [FF], verde), tessuto fibroso (fibrotic tissue [FT], verde scuro) e calcio denso (dense calcium [DC], bianco), riprodotte con differenti gradazioni di colore, come mostrato nella *Figura 3*. Sulla base della loro differente composizione, le placche aterosclerotiche coronariche possono così essere classificate in diverse tipologie: ispessimento intimale patologico (pathological intimal thickening, PIT), placche a cappuccio sottile (thin-capped fibroatheromas, TCFA),

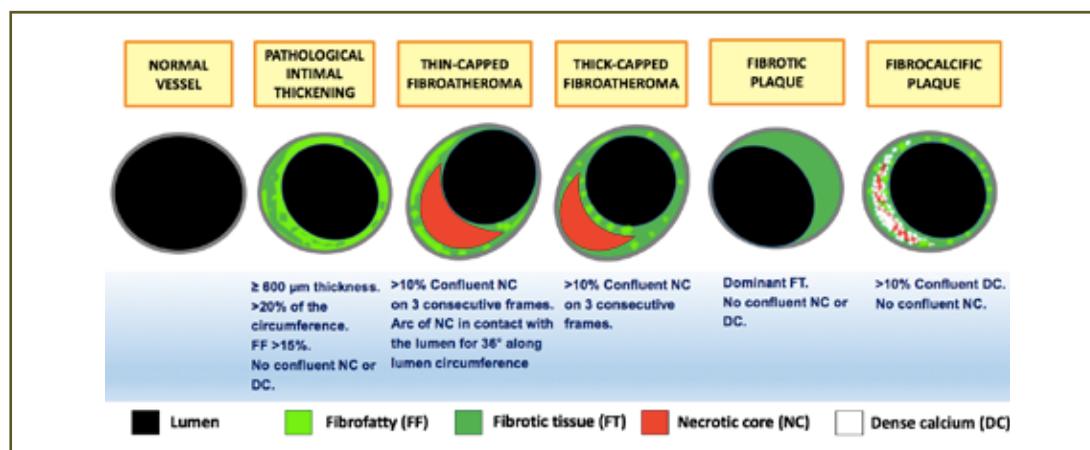


Figura 3 - Classificazione tissutale della placca aterosclerotica mediante ultrasonografia intravascolare con istologia virtuale (VH-IVUS). La valutazione VH-IVUS consente di visualizzare aree di placca a differente composizione tissutale mediante una specifica scala di colori: verde = tessuto fibroadiposo, verde scuro = tessuto fibroso, rosso = core necrotico, bianco = calcio denso. In base alla diversa prevalenza di questi elementi possono essere distinte cinque differenti tipologie di placca: Pathological intimal thickening (PIT), Virtual histology intravascular ultrasound (VH-IVUS) - derived thin-capped fibroatheroma (VH-TCFA), Thick-capped fibroatheroma (ThCFA), Fibrotic plaque, Fibrocalcific plaque.

placche a cappuccio spesso (thick-capped fibroatheromas, ThCFA), placche fibrotiche e fibrocalcifiche (41).

Il PIT è costituito principalmente di FT e FF con meno del 10% di NC confluyente e meno del 10% di DC confluyente. Le VH-TCFAs sono fibroateromi senza evidenza di cappuccio fibroso ($\leq 65 \mu\text{m}$), costituiti usualmente da $>10\%$ di NC confluyente in diretto contatto con il lume vasale in almeno 3 fotogrammi consecutivi (42-44). ThCFA sono fibroateromi ($>10\%$ di NC confluyente in almeno 3 fotogrammi consecutivi) con un cappuccio fibroso ben definito. Le placche fibrotiche sono composte principalmente da tessuto fibroso con $<10\%$ NC confluyente, $<15\%$ di tessuto FF e $<10\%$ di DC confluyente. Le placche fibrocalcifiche sono costituite quasi del tutto da FT e DC con $<10\%$ di NC confluyente.

Diversi studi IVUS hanno fornito risultati contrastanti riguardo la natura dinamica delle lesioni coronariche, documentando in alcuni casi la stabilizzazione e, in altri, la persistenza nel tempo delle placche aterosclerotiche a cappuccio sottile (VH-TCFA). Kubo et al. (45) hanno mostrato che, in una popolazione di pazienti prevalentemente con cardiopatia ischemica cronica, dopo un follow-up medio di 12 mesi, la maggior parte delle VH-TCFA regredivano verso lesioni più stabili (65% in ThCFA e il 10% in placche calcifiche), con una persistenza di TCFA di solo il 25%. Solo le VH-TCFA prossimali in vasi di calibro maggiore con un elevato "plaque burden" andavano incontro a stabilizzazione più raramente. Inoltre, le lesioni classificate come PIT, VH-TCFA, e ThCFA mostrano una significativa progressione in termini di aumento del "plaque burden" e riduzione del lume vasale rispetto alle placche fibrotiche e fibrocalcifiche. Questi dati appaiono parzialmente in contrasto con i dati provenienti da un

sotto-studio del HORIZONS-AMI (Harmonizing Outcomes With Revascularization and Stents in Acute Myocardial Infarction) trial (46), in cui Zhao et al. hanno mostrato come le lesioni "non-culprit", in una popolazione di pazienti con STEMI, sono più frequentemente fibroateromi (82% vs 52% nello studio di Kubo), di cui 41% TCFA e 41% ThCFA. In genere, dopo un follow-up medio di 13 mesi, le TCFA tendono a rimanere immutate o ad evolvere verso forme più instabili (con contestuale diminuzione dell'area vasale ed aumento del NC), mentre le lesioni più stabili ad evolvere verso fenotipi più "vulnerabili" (49% delle ThCFA e il 44% delle PIT evolvono verso VH-TCFA).

Sicuramente, il differente contesto clinico in cui si innestano queste evidenze (angina stabile versus sindrome coronarica acuta), con le conseguenti differenze fisiopatologiche in termini di infiammazione di placca, gioca un ruolo dirimente nella diversa storia naturale delle VH-TCFA verso la stabilizzazione o il mantenimento di un fenotipo di "instabilità".

Lo studio GLAGOV

Il trial GLAGOV è uno studio di fase III, multicentrico in doppio cieco, randomizzato controllato verso placebo. Lo studio ha arruolato 968 pazienti con coronaropatia (età media 59,8 anni, 27,8% donne, LDL-C medio 92,5 mg/dL) e in terapia statinica ottimizzata, randomizzati a evolocumab 420 mg in iniezione sottocutanea una volta al mese o placebo per 76 settimane in aggiunta al trattamento con statine (14).

L'endpoint primario di efficacia è stato quello di valutare la variazione nel volume percentuale dell'ateroma (Percent Ateroma Volume, PAV) dopo 78 settimane di trattamento, documentato mediante l'utilizzo dell'IVUS (Figura 4). Gli endpoints

secondari includevano la variazione del volume totale dell'ateroma (Total atheroma volume, TAV) normalizzato e la percentuale di pazienti con regressione di placca (qualsiasi riduzione rispetto al basale).

Al follow-up, i livelli medi di colesterolo LDL sono risultati 36,6 mg/dL e 93,0 mg/dL nel gruppo di trattamento evolocumab e placebo rispettivamente. L'endpoint primario, ossia la variazione nel PAV, è risultato aumentato di 0,05% nel gruppo placebo e ridotto di 0,95% nel braccio evolocumab, con una differenza di -1,0% (95% CI -1,8 a -0,64, $p < 0,001$). L'endpoint secondario, ossia il TAV normalizzato, è risultato diminuito di 0,9 mm³ con placebo e 5,8 mm³ con evolocumab, con una differenza di -4,9 mm³ (95% CI -7,3 a -2,5, $p < 0,001$). La regressione della placca aterosclerotica, in termini di PAV, si è verificata nel 64,3% dei pazienti trattati con evolocumab e nel 47,3% dei pazienti in placebo, con una differenza del 17,0% (95% CI 10,4-23,6; $p < 0,001$). Per quanto concerne il TAV, la regressione si è osservata nel 61,5% dei pazienti in trattamento con evolocumab e nel 48,9% dei pazienti in placebo, con una differenza del 12,5% (95% CI 5,9-19,2; $p < 0,001$).

Un dato interessante riguarda i pazienti che presentano livelli di colesterolo LDL considerati già a target secondo le attuali indicazioni internazionali (LDL-C <70 mg/dL), in cui il trattamento con evolocumab ha consentito di raggiungere livelli medi di colesterolo LDL di 24 mg/dL (con un nadir di 15 mg/dL). A questi dati corrisponde una regressione dell'ateroma in termini di PAV di circa il 2% e una percentuale di pazienti con regressione dell'81% del totale.

I dati provenienti dal GLAGOV trial hanno per la prima volta mostrato un effetto dell'evolocumab nella regressione della placca aterosclerotica (in termini di volume percentuale dell'ateroma). Tuttavia, al-

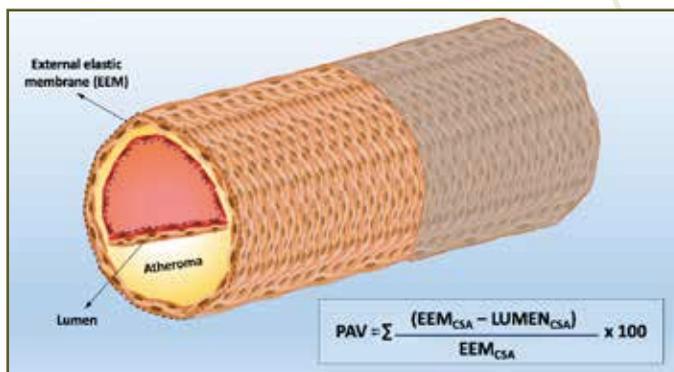


Figura 4 - Valutazione del volume percentuale dell'ateroma (PAV). Considerando come limiti la membrana elastica esterna (EEM) e il margine del lume vasale, il volume percentuale dell'ateroma può essere calcolato come rappresentato in figura, ossia la proporzione del lume vasale occupata dalla placca aterosclerotica per tutto il segmento di interesse. EEM: external elastic membrane; CSA: cross-sectional area.

cuni aspetti particolari meritano di essere citati e analizzati più in dettaglio. Innanzitutto, la riduzione del PAV risulta essere inferiore rispetto a quella predetta in base ai valori raggiunti di LDL-C. Questo aspetto può essere spiegato dalla presenza di altri fattori di rischio nella popolazione analizzata (tabagismo, diabete e elevato Body Mass Index), che non sono influenzati direttamente dalla riduzione dei valori di LDL e che possono aver mitigato tale effetto. In secondo luogo, è importante esaminare in che modo una riduzione contenuta (dell'1%) del PAV possa tradursi effettivamente in un beneficio clinico in termini di ridotta mortalità cardiovascolare, infarto miocardico e rivascolarizzazione coronarica. Dei dati interessanti derivano da uno studio di Nicholls et al. (36), che hanno analizzato più di 4.000 pazienti con cardiopatia ischemica, arruolati in sei diversi trial, al fine di valutare l'impatto del "plaque burden" e del grado di progressione dell'aterosclerosi coronarica (analizzati mediante IVUS) sugli outcomes cardiovascolari. Circa il 20% dei pazienti analizzati

sono andati incontro a MACCEs, presentando al baseline un PAV maggiore di circa il 3%. Inoltre, al follow-up, questi pazienti presentavano un incremento del PAV dello 0,95%, mentre i pazienti senza eventi mostravano un incremento dello 0,45%. In altre parole, una differenza nel “progression rate” dello 0,5% identifica un gruppo di pazienti a maggior rischio di andare incontro ad un evento cardiovascolare al follow-up. L’impatto reale dell’inibizione del PCSK9 mediato dall’evolocumab sugli outcomes cardiovascolari dovrà essere chiarito in ulteriori studi, anche se, sulla base di questi dati, è plausibile aspettarsi che la riduzione dell’1% del volume percentuale dell’ateroma possa avere un impatto significativo sugli outcomes clinici.

Infine, da valori di colesterolo LDL di 110 mg/dL fino a 20 mg/dL, si osserva una riduzione del volume dell’ateroma fino ai più bassi livelli di LDL-C. Esiste, quindi, una soglia di valori di colesterolo LDL oltre la quale non si osservano ulteriori benefici a scapito della sicurezza di tale condotta terapeutica? I dati del GLAGOV trial mostrano una regressione di placca correlata linearmente ai valori di colesterolo LDL raggiunti. Il paradigma “The lower, the better” sembra configurarsi effettivamente in questa classe di pazienti ad alto rischio, in cui il raggiungimento di valori di colesterolo LDL oltre le attuali indicazioni internazionali potrà tradursi in una ulteriore riduzione del rischio cardiovascolare “residuo”, senza incidere in modo significativo sulla sicurezza (47-48).

In ultimo, una classe di pazienti ad elevato rischio di progressione e, conseguentemente, di eventi clinici avversi è costituita dai pazienti diabetici. In una analisi pre-specificata del FOURIER trial (48), l’evolocumab si è dimostrato capace di ridurre significativamente il rischio di eventi cardiovascolari maggiori (endpoint

primario composto di morte cardiovascolare, infarto miocardico, ictus, angina instabile, rivascolarizzazione coronarica) con una efficacia simile nei pazienti con e senza diabete, sebbene si osservi una riduzione assoluta del rischio maggiore nei pazienti diabetici. L’inibizione del PCSK9, inoltre, non ha mostrato incrementare il rischio di diabete di nuova insorgenza (anche nei pazienti con prediabete), né peggiorare la glicemia nei pazienti analizzati. Le linee guida internazionali raccomandano un trattamento ipolipemizzante più intensivo nei pazienti con diabete e malattia aterosclerotica coronarica definita, alla luce dell’elevato rischio di eventi clinici avversi. Alla luce della maggiore riduzione assoluta di rischio in questa popolazione (senza effetti maggiori sul profilo di sicurezza), l’inibizione del PCSK9 costituisce un’opzione terapeutica particolarmente attraente in questa classe di pazienti ad alto rischio.

Stabilizzazione/Regressione di placca e outcomes cardiovascolari

Diversi studi hanno documentato la possibilità di regressione della placca aterosclerotica dopo un trattamento intensivo con farmaci ipolipemizzanti, costituendo la prima reale dimostrazione *in vivo* di questo fenomeno. Di questi, nello studio REVERSAL (Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering), il volume mediano dell’ateroma, a 18 mesi, è risultato diminuito dello 0,4% nel gruppo di pazienti trattato con statina ad alta dose rispetto ad un incremento del 2,7% nel gruppo a dose moderata (19). Nello studio ASTEROID (A Study to Evaluate the Effect of Rosuvastatin on Intravascular Ultrasound-Derived Coronary Atheroma Burden) il 63,6% dei pazienti ha presentato una regressione di placca, il volume

totale medio dell'ateroma è risultato diminuito del 7%, con una diminuzione dell'1% del PAV, dopo 24 mesi di trattamento con rosuvastatina (20).

La riduzione del PAV e TAV costituisce un endpoint surrogato, non direttamente indicativo di beneficio clinico. Tuttavia, nonostante la percentuale assoluta di regressione di placca raggiunta sia contenuta, è plausibile aspettarsi che sia comunque sufficiente nel determinare un beneficio clinico. Una delle domande principali in questo ambito è, infatti, se l'effetto degli inibitori del PCSK9 nella riduzione dei livelli di colesterolo LDL e nella regressione di placca si traduca poi in un'effettiva riduzione degli eventi cardiovascolari.

Nicholls et al. (36) hanno analizzato i dati provenienti da sei trial con più di 4.000 pazienti con malattia aterosclerotica coronarica sottoposti ad IVUS al baseline e ad un follow-up medio di 21 mesi, dimostrando per la prima volta una relazione diretta tra elevato "plaque burden" ed un rischio maggiore di eventi cardiovascolari. Inoltre, suddividendo i pazienti in quartili in base al volume percentuale di ateroma al baseline, per ciascuno di questi ultimi si osserva che il rischio di eventi cardiovascolari maggiori è legato al grado di progressione. Nell'analisi multivariata sia l'estensione dell'aterosclerosi al baseline ($p < 0,0001$) che il grado di progressione ($p = 0,005$) sono risultati predittori indipendenti di eventi cardiovascolari. Questi dati sottolineano l'associazione tra progressione della malattia aterosclerotica ed outcomes clinici sfavorevoli, supportando l'utilizzo dell'IVUS in studi clinici (come il GLAGOV trial) per valutare l'impatto di specifici trattamenti farmacologici sulla placca aterosclerotica. In che modo l'effetto dell'evolocumab in termini di riduzione dell'1% del PAV si traduca in un effettivo beneficio clinico dovrà essere chiarito in

ulteriori studi. Tuttavia, il maggior rischio di eventi cardiovascolari che si osserva con il progressivo aumento del "plaque burden" e l'impatto del grado di progressione, congiuntamente alle recenti evidenze derivanti dal FOURIER trial (Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk), sembrano mostrare un effetto diretto della regressione di placca in termini di migliori outcomes clinici (49).

I dati provenienti dal FOURIER trial hanno per la prima volta documentato una relazione diretta tra la riduzione dei livelli di colesterolo LDL (mediata dall'evolocumab) e migliori outcomes cardiovascolari. In questo trial randomizzato controllato, 27.564 pazienti con storia di infarto miocardico, ictus ischemico e vasculopatia periferica sintomatica e valori di C-LDL ≥ 70 mg/dL oppure non-HDL-C ≥ 100 mg/dL in terapia statinica ottimale, sono stati randomizzati ad evolocumab 140 mg ogni 2 settimane (o 420 mg ogni mese) versus placebo. L'endpoint primario era costituito dall'occorrenza di MACCEs, definito come morte cardiovascolare, infarto miocardico, ictus, ospedalizzazione per angina instabile o rivascolarizzazione coronarica. Nello studio FOURIER, l'evolocumab ha ridotto i livelli di colesterolo LDL del 60% rispetto al placebo. L'aggiunta dell'evolocumab si è dimostrata capace di ridurre del 15% l'incidenza di MACCEs, con un beneficio che si mantiene in tutti i sottogruppi, inclusi i pazienti in terapia statinica ad elevata intensità con livelli basali di LDL già piuttosto bassi. Inoltre, il grado di riduzione del rischio sembra aumentare con il tempo (dal 12% entro il primo anno al 19% oltre il primo anno). Questi risultati sono in linea con i dati storici riguardo la terapia statinica, che hanno mostrato chiaramente una riduzione di eventi cardiovascolari maggio-

ri che si correla linearmente ad ogni mg/dL di riduzione dei livelli di LDL-C (15).

Tuttavia, la regressione di placca rappresenta solo uno degli elementi che contribuisce a determinare il rischio cardiovascolare residuo nei pazienti con malattia aterosclerotica coronarica. Come anticipato, il “plaque burden”, il rimodellamento vasale e la composizione tissutale della placca aterosclerotica sono altri importanti fattori che si associano ad una maggiore incidenza di instabilità di placca e outcomes clinici sfavorevoli. Nello studio PROSPECT (Providing Regional Observations to Study Predictors of Events in the Coronary Tree), che ha arruolato 697 pazienti con sindrome coronarica acuta sottoposti ad IVUS convenzionale e VH-IVUS sui tre

rami coronarici (al baseline e dopo un follow-up medio di 3.4 anni), l'area del lume $\leq 4 \text{ mm}^2$, il VH-TCFA e un “plaque burden” $\geq 70\%$ in lesioni “non-culprit” sono risultati predittori indipendenti di MACCEs (42). Due ulteriori studi, il VIVA (Virtual Histology in Vulnerable Atherosclerosis) study (43) e l'ATHEROREMO-IVUS (European Collaborative Project on Inflammation and Vascular Wall Remodeling in Atherosclerosis - Intravascular Ultrasound) study (44), con end-point combinato di morte, infarto miocardico e rivascolarizzazione coronarica non programmata, hanno confermato il valore predittivo indipendente del VH-TCFA e dell'elevato “plaque burden” nell'occorrenza di MACCEs.

Conclusioni

Gli anticorpi anti-PCSK9 si sono dimostrati capaci di ridurre i livelli di colesterolo LDL ai valori più bassi mai raggiunti da una terapia ipolipemizzante ottimale, con un buon profilo di sicurezza. Le evidenze derivanti dal GLAGOV trial hanno mostrato anche un effetto additivo sulla regressione della placca aterosclerotica rispetto al trattamento con statine. Tuttavia, altri fattori, come il “plaque burden”, il rimodellamento vasale e la composizione tissutale della placca aterosclerotica, contribuiscono nel determinare il rischio cardiovascolare “residuo” nei pazienti con cardiopatia ischemica. L'aterosclerosi può essere considerata a tutti gli effetti un processo infiammatorio cronico, con episodi di ischemia acuta che spesso si verificano nell'ambito della rottura/erosione di una placca ricca di lipidi, infiammata e con elementi di necrosi. L'effetto degli anticorpi anti-PCSK9 nella stabilizzazione di placca andrà valutato in ulteriori studi, sebbene le iniziali evidenze sembrano mostrare un effetto anche in questa direzione.

Glossario

PCSK9 = Proprotein convertase subtilisin kexin type 9: proteina circolante che lega il recettore per le LDL espresso sulla superficie degli epatociti, portando alla distruzione del recettore e impedendo così il suo “recycling” intra-cellulare.

OCT = Optical Coherence Tomography: tecnica di imaging che utilizza una luce non visibile nello spettro dell'infrarosso, in grado di scannerizzare un intero vaso coronarico in circa 3 secondi con una risoluzione di circa 10 micron. L'OCT consente, inoltre, di quantificare alcune componenti della placca aterosclerotica, come lo spessore del cappuccio fibroso, con un'accuratezza maggiore rispetto ad altre tecniche di imaging intravascolare.

IVUS = Intravascular Ultrasonography: tecnica di imaging che, attraverso l'utilizzo degli ultrasuoni, permette lo studio dei vasi coronarici epicardici mediante valutazione ecografica intraluminale. Questa tecnica, quindi, offre un'immagine diretta e in tempo reale dell'ateroma, fornendo una prospettiva tomografica delle coronarie e della placca aterosclerotica superiore rispetto alla semplice angiografia.

TAV = Total Atheroma Volume: sommatoria dell'area di placca misurata in ogni frame della valutazione IVUS.

PAV = Percent Atheroma Volume: proporzione del lume vasale occupata dalla placca aterosclerotica per tutto il segmento di interesse, valutato mediante IVUS.

RIASSUNTO

La proproteina convertasi subtilisina kexina tipo 9 (PCSK9) è una proteina circolante che modula il “recycling” del recettore delle lipoproteine a bassa densità (Low Density Lipoprotein o LDL) esposto sulla membrana degli epatociti, favorendone la degradazione lisosomiale. La diretta conseguenza di questa azione è la diminuzione del numero di recettori esposti, determinando in tal modo una minore clearance delle LDL circolanti. Recenti evidenze hanno documentato un ruolo del PCSK9 nella progressione dell'aterosclerosi coronarica attraverso la regolazione del metabolismo del colesterolo, la risposta infiammatoria e la stabilizzazione della placca aterosclerotica.

Gli anticorpi anti-PCSK9 sono emersi come un nuovo affascinante strumento terapeutico nel trattamento dell'ipercolesterolemia, avendo un ruolo anche nella stabilizzazione e regressione della placca aterosclerotica. In questa rassegna discuteremo l'effetto degli anticorpi anti-PCSK9 nella restaurazione vascolare attraverso le nuove tecniche di imaging intravascolare e il suo impatto sugli outcomes clinici. Per primo, descriveremo l'effetto dei farmaci ipolipidemizzanti sulla composizione ed estensione dell'aterosclerosi coronarica. Discuteremo, in maniera estesa, le nuove acquisizioni nell'ambito della stabilizzazione e regressione della placca aterosclerotica, in particolare i determinanti della regressione del “plaque volume” attraverso l'ultrasonografia intravascolare (IVUS), la loro rilevanza clinica e il ruolo emergente degli anticorpi anti-PCSK9 sulla progressione dell'aterosclerosi coronarica nei pazienti già in terapia con statine. Infatti, un ampio e recente studio clinico, il GLAGOV trial, ha dimostrato che l'aggiunta dell'Evolocumab (un anticorpo anti-PCSK9) al trattamento con statine determina una riduzione dell'1% del volume percentuale dell'ateroma (PAV) dopo 76 settimane, in pazienti con documentata aterosclerosi coronarica. Infine, presenteremo una breve panoramica riguardante l'impatto dell'inibizione del PCSK9 sugli outcomes cardiovascolari. L'effetto complessivo e la rilevanza clinica della riduzione del volume dell'ateroma e della regressione di placca dovranno essere approfonditi in ulteriori studi.

Parole chiave: *aterosclerosi coronarica, anticorpi anti-PCSK9, regressione di placca, tecniche di imaging intravascolare, placca vulnerabile, infarto miocardico.*

Bibliografia

- Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 54: 2129-2138.
- Crea F, Liuzzo G. Pathogenesis of acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61: 1-11.
- Blankenhorn DH, Hodis HN. George Lyman Duff Memorial Lecture. Arterial imaging and atherosclerosis reversal. *Arterioscler Thromb.* 1994; 14: 177-192.
- Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation.* 2004; 109 (23 Suppl. 1): III39-43.
- Collins R, Reith C, Emberson J, et al. Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy. *Lancet.* 2016; 388: 2532-2561.
- Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med.* 2015; 372: 2387-2397.
- Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2017; 135: e146-e603.
- Jones PH, Nair R, Thakker KM. Prevalence of dyslipidemia and lipid goal attainment in statin-treated subjects from 3 data sources: a retrospective analysis. *J Am Heart Assoc.* 2012; 1: e001800.
- Huijgen R, Kindt I, Verhoeven SB, et al. Two years after molecular diagnosis of familial hypercholesterolemia: majority on cholesterol-lowering treatment but a minority reaches treatment goal. *PLoS One.* 2010; 5: e9220.
- Vandenberg BF, Robinson J. Management of the patient with statin intolerance. *Curr Atheroscler Rep.* 2010; 12: 48-57.
- Jernberg T, Hasvold P, Henriksson M, et al. Cardiovascular risk in post-myocardial infarction patients: nationwide real world data demonstrate the importance of a long-term perspective. *Eur Heart J.* 2015; 36: 1163-1170.
- Abifadel M, Varret M, Rabes JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003; 34: 154-156.
- Ference BA, Robinson JG, Brook RD, et al. Variation in PCSK9 and HMGCR and Risk of Cardiovascular Disease and Diabetes. *N Engl J Med.* 2016; 375: 2144-2153.
- Nicholls SJ, Puri R, Anderson T, et al. Effect of Evolocumab on Progression of Coronary Disease.

- ase in Statin-Treated Patients: The GLAGOV Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2016; 316: 2373-2384.
15. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010; 376: 1670-1681.
 16. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016; 37: 2999-3058.
 17. Rosenson RS, Brown AS. Statin use in acute coronary syndromes: cellular mechanisms and clinical evidence. *Curr Opin Lipidol*. 2002; 13: 625-630.
 18. Nicholls SJ, Ballantyne CM, Barter PJ, et al. Effect of two intensive statin regimens on progression of coronary disease. *N Engl J Med*. 2011; 365: 2078-2087.
 19. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, et al. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004; 291: 1071-1080.
 20. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, et al. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA*. 2006; 295: 1556-1565.
 21. Kataoka Y, Wolski K, Balog C, et al. Progression of coronary atherosclerosis in stable patients with ultrasonic features of high-risk plaques. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2014; 15: 1035-1041.
 22. Kataoka Y, Puri R, Hammadah M, et al. Frequency-domain optical coherence tomographic analysis of plaque microstructures at nonculprit narrowings in patients receiving potent statin therapy. *Am J Cardiol*. 2014; 114: 549-554.
 23. Komukai K, Kubo T, Kitabata H, et al. Effect of atorvastatin therapy on fibrous cap thickness in coronary atherosclerotic plaque as assessed by optical coherence tomography: the EASY-FIT study. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 64: 2207-2217.
 24. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015; 372: 2387-2397.
 25. Tsujita K, Sugiyama S, Sumida H, et al. Impact of Dual Lipid-Lowering Strategy With Ezetimibe and Atorvastatin on Coronary Plaque Regression in Patients With Percutaneous Coronary Intervention: The Multicenter Randomized Controlled PRECISE-IVUS Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 66: 495-507.
 26. Giugliano RP, Sabatine MS. Are PCSK9 Inhibitors the Next Breakthrough in the Cardiovascular Field? *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65: 2638-2651.
 27. Cheng JM, Oemrawsingh RM, Garcia-Garcia HM, et al. PCSK9 in relation to coronary plaque inflammation: Results of the ATHEROREMO-IVUS study. *Atherosclerosis*. 2016; 248: 117-122.
 28. Kuhnast S, van der Hoorn JW, Pieterman EJ, et al. Alirocumab inhibits atherosclerosis, improves the plaque morphology, and enhances the effects of a statin. *J Lipid Res*. 2014; 55: 2103-2112.
 29. Robinson JG, Farnier M, Krempf M, et al. Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2015; 372: 1489-1499.
 30. Ambrose JA, Martinez EE. A new paradigm for plaque stabilization. *Circulation*. 2002; 105: 2000-2004.
 31. Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, et al. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003; 290: 2292-2300.
 32. Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*. 2003; 108: 1664-1672.
 33. Varnava AM, Mills PG, Davies MJ. Relationship between coronary artery remodeling and plaque vulnerability. *Circulation*. 2002; 105: 939-943.
 34. Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, et al. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes: an intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2000; 101: 598-603.
 35. Mintz GS, Garcia-Garcia HM, Nicholls SJ, et al. Clinical expert consensus document on standards for acquisition, measurement and reporting of intravascular ultrasound regression/progression studies. *EuroIntervention*. 2011; 6: 1123-1130.
 36. Nicholls SJ, Hsu A, Wolski K, et al. Intravascular ultrasound-derived measures of coronary atherosclerotic plaque burden and clinical outcome. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55: 2399-2407.
 37. Fujii K, Hao H, Ohyanagi M, Masuyama T. Intracoronary imaging for detecting vulnerable plaque. *Circ J*. 2013; 77: 588-595.
 38. Sinclair H, Veerasamy M, Bourantas C, et al. The Role of Virtual Histology Intravascular Ultrasound in the Identification of Coronary Artery Plaque Vulnerability in Acute Coronary Syndromes. *Cardiol Rev*. 2016; 24: 303-309.
 39. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: 1262-1275.

40. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995; 92: 1355-1374.
41. Konig A, Margolis MP, Virmani R, et al. Technology insight: in vivo coronary plaque classification by intravascular ultrasonography radiofrequency analysis. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2008; 5: 219-229.
42. Stone GW, Maehara A, Lansky AJ, et al. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2011; 364: 226-235.
43. Calvert PA, Obaid DR, O'Sullivan M, et al. Association between IVUS findings and adverse outcomes in patients with coronary artery disease: the VIVA (VH-IVUS in Vulnerable Atherosclerosis) Study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011; 4: 894-901.
44. Cheng JM, Garcia-Garcia HM, de Boer SP, et al. *In vivo* detection of high-risk coronary plaques by radiofrequency intravascular ultrasound and cardiovascular outcome: results of the ATHEREMO-IVUS study. *Eur Heart J*. 2014; 35: 639-647.
45. Kubo T, Maehara A, Mintz GS, et al. The dynamic nature of coronary artery lesion morphology assessed by serial virtual histology intravascular ultrasound tissue characterization. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55: 1590-1597.
46. Zhao Z, Witzentichler B, Mintz GS, et al. Dynamic nature of nonculprit coronary artery lesion morphology in STEMI: a serial IVUS analysis from the HORIZONS-AMI trial. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013; 6: 86-95.
47. Giugliano RP, Mach F, Zavitz K, et al. Cognitive Function in a Randomized Trial of Evolocumab. *N Engl J Med*. 2017; 377: 633-643.
48. Sabatine MS, Leiter LA, Wiviott SD, et al. Cardiovascular safety and efficacy of the PCSK9 inhibitor evolocumab in patients with and without diabetes and the effect of evolocumab on glycaemia and risk of new-onset diabetes: a prespecified analysis of the FOURIER randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017 Sep 14.
49. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017; 376: 1713-1722.

MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ

L'INDUSTRIA FARMACEUTICA: LA RICERCA, IL BUSINESS, I RAPPORTI CON L'UNIVERSITÀ

Pharmaceutical industry, research, business,
and relations with the university

CESARE SIRTORI*Centro Dislipidemie, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano*

Di recente ha colpito molti la notizia che Pfizer ha interrotto le ricerche nell'area delle patologie cerebrali, dopo l'insuccesso di un suo farmaco (e di altri) indirizzati al trattamento della malattia di Alzheimer. Sembra che all'origine di tutto ci sia un bersaglio "sbagliato": la β -amiloide è stata da molti ritenuta causa della malattia, mentre probabilmente è solo un epifenomeno. Tutti i trattamenti indirizzati alla β -amiloide hanno fallito in clinica (1, 2). Qualunque sia il motivo, l'uscita di un'azienda farmaceutica da un settore di sviluppo di nuove terapie non è una novità e purtroppo le conseguenze sono note.

Quando si interrompe un progetto di ricerca che impegna diversi miliardi di dollari, la conseguenza certa è la perdita del posto di lavoro per centinaia, a volte migliaia di dipendenti e, in parallelo, una

caduta di fondi di ricerca all'esterno dell'azienda.

Che non sia stata una novità lo dimostra il fatto che la stessa Pfizer, poco più di 10 anni fa, ha interrotto del tutto gli studi nel settore cardiovascolare per il fallimento della terapia HDL: torcetrapib, inibitore CETP, purtroppo si è associato non a vantaggi, bensì ad un aumento del rischio vascolare (3). In parallelo, la proteina Al-Milano con grandi potenzialità, nelle fasi iniziali dello sviluppo clinico ha registrato un decesso per la presenza di contaminanti batterici nel prodotto biotecnologico. La conseguente uscita dal settore cardiovascolare è stata molto più traumatica di quella recente, portando addirittura alla chiusura di due grandi impianti di ricerca.

Esempi di questo tipo sono quindi numerosi. Cause di interruzione di attività possono anche essere legate, per esempio, alla perdita di un brevetto. Di recente Allergan ha perso il controllo brevettuale di un collirio a base di ciclosporina, di altissimo prezzo e larga diffusione (RESTASI-S^R). Questo prodotto, con vendite di circa 1,5 bil \$, ha perso il brevetto alla fine del

Indirizzo per la corrispondenza

Cesare Sirtori
Centro Dislipidemie, ASST Grande Ospedale
Metropolitano Niguarda, Milano
E-mail: cesare.sirtori@unimi.it

2017 e l'azienda ha consegnato lettere di licenziamento a circa 1.400 dipendenti (4).

L'immagine quindi di un'industria farmaceutica come una sorta di organizzazione benefica, tesa alla conoscenza e al supporto della ricerca e dei ricercatori di ogni dove, pronta ad intervenire in ogni necessità o difficoltà, è del tutto surreale. Quella farmaceutica è un'industria come tutte le altre, che deve ottenere profitti importanti. A questo fine la grande industria ha iniziato da tempo ad acquisire, ove possibile, altre industrie con potenzialità diverse e, soprattutto, prodotti diversi. Nel farmaceutico il dato storico più rilevante è stato l'acquisto totale di Parke-Davis da parte di Pfizer, in quanto titolare del brevetto dell'atorvastatina (Lipitor[®]), divenuto poi il farmaco a più alto fatturato nel mondo. Anche per questo motivo l'industria farmaceutica non tende ad aumentare i propri organici, favorendone semmai l'uscita e, in alcuni casi, aiutando ex-dipendenti a costituirsi in aziende autonome.

Allora, come funziona il tutto? Quello farmaceutico è ancora un settore dove l'investimento fa sognare. Se guardate la lista dei 10 titoli a Wall Street con più forte salita di capitalizzazione nello scorso 2017, ben 9 su 10 sono Biotech, tutte indirizzate al trattamento di qualche patologia. La numero 1 ha un bel nome: si chiama MADRIGAL, il cui valore sul mercato azionario è aumentato di circa 5,5 volte nel 2017. MADRIGAL produce una molecola, MGL-3196, indirizzata inizialmente al trattamento delle dislipidemie, ora della steatosi epatica (NAFLD) (5). È interessante osservare che i dati clinici iniziali sono pochi, mentre vi è un notevole supporto di tipo sperimentale. Spesso l'investitore a Wall Street "buys on hope": se le premesse sono molto favorevoli è pronto ad investire, e anche molto. Peraltro spesso succede anche che "sells on news". Classi-

co esempio di questo secondo comportamento sono i recenti inibitori PCSK9, che hanno registrato performance borsistiche molto modeste. Con le *news* sono arrivati dati non entusiasmanti sulla potenzialità di questi prodotti: lo studio FOURIER ha dimostrato deludente attività nei pazienti europei (6), problemi di rimborso assicurativo ecc., per cui alla fine pochi americani prendono evolocumab e alirocumab e i titoli NOVARTIS e REGENERON sono rimasti stazionari. Questo curioso atteggiamento dell'investitore domina di fatto qualsiasi iniziativa avvenga nel settore farmaceutico, soprattutto considerando che ogni sviluppo di molecole richiede mediamente fra minimi di 8 e massimi di 13/14 anni. Quando un CEO avvia un progetto, è conscio del fatto che molto probabilmente non ne vedrà lo sviluppo finale. Va infine considerato che, se lo sviluppo di un prodotto è troppo lungo, l'azienda rischia di perdere la copertura brevettuale (stabilita in 20 anni, ivi incluse tutte le attività di sviluppo chimico, farmacologico, tossicologico, ecc.).

Si tratta quindi di una colossale scommessa ogni volta. Va tenuto presente anche un fatto: un'azienda di automobili che produce una vettura scadente in fondo rischia relativamente poco. Si prenda il caso di una delle più brutte auto prodotte in Italia, l'ALFA6, un *competitor* delle berline Mercedes e BMW. L'ALFA6 era brutta e con scarse prestazioni. Tuttavia se ne sono vendute un certo numero, anche con forti ribassi e svendendo i residui in Polonia; quindi il bilancio, pur negativo, non è stato zero. Diverso il caso del mongersen, una molecola antisenso per la malattia di Crohn, sviluppata dalla Giuliani di Milano e venduta con un grosso *downpayment* a CELGENE. La molecola è partita molto bene, ma a un certo punto ha dimostrato dati poco significativi (7), seguita da altri,

non ancora pubblicati, negativi. La CELGENE ha chiuso le ricerche, lasciando sul piatto i 700 milioni \$ pagati a Giuliani e parecchi altri per le ricerche cliniche. Si è trattato di una perdita totale.

In tutto ciò quanto contano gli attori esterni, naturalmente considerando anche l'Università? Un fatto va considerato in certa misura positivo: la cosiddetta "Direzione Medica" dell'industria, un tempo popolata da decine, talora centinaia di persone, oggi è ridotta all'osso. L'industria quando deve sviluppare qualsiasi ricerca che richieda un supporto esterno (ospedali, università, altro) si avvale dei CRO (Clinical Research Organization). Si tratta di organizzazioni divenute talora colossali (Quintiles, Parexel, Covance e numerose altre). Queste si fanno carico di tutte le necessità dell'industria: contattano i ricercatori, stabiliscono i prezzi, prendono una bella fetta per sé (mediamente il 30-50% del costo, talora di più) e questo consente a molti, anche di noi, di sopravvivere bene in un settore sempre molto tempestoso e con sorprese ad ogni angolo. L'industria che ha grossi profitti può anche decidere di sostenere organizzazioni esterne, quali Istituti di ricerca o simili (si pensi all'organizzazione del sommo Yusuf!), anche con l'obiettivo di una detrazione fiscale.

Bussare alla porta dell'industria per ottenere favori, soprattutto finanziari, per le proprie ricerche, avulse dal settore d'inte-

resse dell'azienda, è per lo più una perdita di tempo. Un consiglio a noi? Seguire l'andamento borsistico dell'industria farmaceutica. Si vede bene chi va forte: verosimilmente avrà potenzialità e mezzi per sostenere anche la nostra ricerca. Fra l'altro occupandosi intensamente di questo settore alcuni, come il sottoscritto, hanno tratto qualche vantaggio economico personale, non trascurabile.

Bibliografia

1. Salloway S, Sperling R, Brashear HR. Phase 3 trials of solanezumab and bapineuzumab for Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 2014; 370: 1.
2. Gold M. Phase II clinical trials of anti-amyloid β antibodies: When is enough, enough? *Alzheimers Dement (NY).* 2017; 3: 402-409.
3. Ferri N, Corsini A, Sirtori CR, Ruscica M. Present therapeutic role of cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *Pharmacol Res.* 2017; 128: 29-41.
4. UPI Top News, Jan 3, 2018. Allergan to cut 1,000 jobs, 400 positions.
5. Kelly MJ, Pietranico-Cole S, Larigan JD, et al. Discovery of 2-[3,5-dichloro-4-(5-isopropyl-6-oxo-1,6-dihydropyridazin-3-yloxy)phenyl]-3,5-dioxo-2,3,4,5 tetrahydro[1,2,4]triazine-6-carbonitrile (MGL-3196), a highly selective Thyroid Hormone Receptor β agonist in clinical trials for the treatment of dyslipidemia. *J Med Chem.* 2014; 57: 3912-3923.
6. Naci H, Mehra RH. Evolocumab in Patients with Cardiovascular Disease. *Letter. N Engl J Med.* 2017; 337: 785.
7. Vetter M, Neurath MF. Emerging oral targeted therapies in inflammatory bowel diseases: opportunities and challenges. *Therap Adv Gastroenterol.* 2017; 10: 773-790.

