



## ABSTRACT

Congressi Regionali

Sezione  
Siculo-Calabria 2017

Sezione  
Piemonte, Liguria,  
Valle D'Aosta 2017

EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

**EDMES**

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

# GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI

SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELLA ATEROSCLEROSI (SISA)

## Congresso della Sezione Siculo-Calabra

Messina, 9 Ottobre 2017

*Nel corso del Congresso Regionale della Sezione Siculo-Calabra della Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi (S.I.S.A.), che si è svolto il 9 ottobre 2017 a Messina, sono state affrontate diverse tematiche metaboliche, sia in ambito clinico che genomico/molecolare.*

*Il primo "hot topic" affrontato è stato il ruolo delle angiopoietine, in particolare dell'angiopoietina tipo 3 (ANGPTL3), nel modulare il metabolismo lipidico; sono stati discussi i trial clinici concernenti l'inibizione di ANGPTL3 in soggetti ipercolesterolemici, come i pazienti con ipercolesterolemia familiare.*

*Il secondo tema discusso è stato il ruolo delle cellule progenitrici dell'endotelio nella patogenesi e nella progressione della malattia cardiovascolare; da diversi studi sperimentali è emerso come la modulazione di tali cellule possa avere importanti risvolti clinici e terapeutici.*

*Il Congresso ha dato largo spazio ai giovani ricercatori della sezione Siculo-Calabra, che hanno rappresentato il "cuore pulsante" del congresso. In momenti distinti della giornata, i giovani ricercatori hanno presentato i risultati scientifici del loro lavoro più recente, facendo emergere, nel corso della discussione, spunti di riflessione e stimoli di approfondimento per nuovi filoni di ricerca.*

## COMUNICAZIONI ORALI

### EFFETTO DELLA LIPOTOSSICITÀ SULLA TRASLOCAZIONE DEL RECETTORE GABAA IN UNA LINEA DI $\alpha$ CELLULE PANCREATICHE ( $\alpha$ -TC1 CLONE 6)

A. Scamporrino, F. Urbano, S. Di Mauro, A. Filippello, A. Di Pino, R. Scicali, A.M. Rabuazzo, F. Purrello, S. Piro  
*Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania*

**Razionale.** L'acido  $\gamma$ -aminobutirrico (GABA) è il principale neurotrasmettitore inibitorio del sistema nervoso centrale. Questa molecola viene rilasciata contemporaneamente all'insulina dalle  $\beta$ -cellule pancreatiche e contribuisce all'inibizione della secrezione di glucagone nelle alfa cellule pancreatiche.

**Scopo dello studio.** L'obiettivo di questo studio è stato quello di analizzare gli effetti del trattamento cronico con palmitato sulla via intracellulare del segnale insulinico, sulla traslocazione del recettore del GABA insulino-indotta e l'effetto del trattamento cronico del GLP-1 sul ripristino di tali vie. Una linea murina di  $\alpha$ -cellule pancreatiche,  $\alpha$ -TC1 clone 6, è stata esposta cronicamente al palmitato (0,5mM) per 48 ore in presenza o in assenza di GLP-1 (100nM) e successivamente è stata stimolata acutamente con insulina. Alla fine del periodo di esposizione è stata analizzata la concentrazione di glucagone rilasciato nel mezzo di coltura, i livelli di fosforilazione dei componenti chiave del segnale insulinico e la traslocazione del recettore del GABA ( $GABA_A R$ ) sulla membrana plasmatica.

**Risultati.** Il trattamento cronico con palmitato determinava un incremento della secrezione di glucagone, una riduzione dell'attivazione di IRS1/AKT e della traslocazione del recettore del GABA. Il co-trattamento con GLP-1 induceva il miglioramento dell'insulino-resistenza palmitato indotta, ripristinava la traslocazione del  $GABA_A R$  a livello della membrana cellulare e riduceva la secrezione di glucagone.

**Conclusioni.** Questi dati suggeriscono che il trattamento con GLP-1 potrebbe migliorare l'iperglucogemia associata al diabete mellito di tipo 2.

### IL TRATTAMENTO CON N-ACETILCISTEINA È IN GRADO DI PREVENIRE IL DANNO MITOCONDRIALE INDOTTO DALL'ESPOSIZIONE AD ATORVASTATINA IN MODELLI DI $\beta$ -CELLULE PANCREATICHE

F. Urbano, A. Filippello, A. Scamporrino, S. Di Mauro, A. Di Pino, R. Scicali, A.M. Rabuazzo, S. Piro, F. Purrello  
*Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania*

**Razionale.** Recenti studi clinici hanno evidenziato un modesto aumento dell'incidenza di diabete mellito di tipo 2 associato all'utilizzo di statine. Tale fenomeno sembra essere legato all'utilizzo di statine di natura lipofila ed al dosaggio impiegato. Ad oggi, tuttavia, non è chiaro quale sia la causa di questo effetto e quali siano i meccanismi molecolari coinvolti.

**Scopo dello studio.** Valutare l'effetto di statine di natura lipofila ed i meccanismi molecolari coinvolti.

**Metodi e Risultati.** In isole pancreatiche umane ed in cellule beta in coltura continua (INS-1) esposte a diverse concentrazioni di atorvastatina (10  $\mu$ M) generate dal trattamento con atorvastatina.

**Conclusioni.** Questi dati dimostrano che lo stress ossidativo costituisce un elemento chiave nella patogenesi del diabete indotto dall'uso di statine e pertanto potrebbero consentire di identificare nuove strategie di prevenzione o di intervento per la gestione clinica di pazienti ad elevato rischio di diabete e malattie cardiovascolari.

## LOW ADVANCED GLYCATION END PRODUCT DIET IMPROVES THE INFLAMMATORY PROFILE AND ARTERIAL STIFFNESS OF DIABETIC SUBJECTS

W. Currenti, A. Di Pino, F. Urbano, R. Scicali, S. Piro, F. Purrello, A.M. Rabuazzo  
*Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Catania*

**Background.** Cardiovascular disease is the leading cause of mortality among individuals with type 2 diabetes, accounting for 40% to 50% of all deaths. One of the most important mechanism linking chronic hyperglycemia with vascular complication is the formation and accumulation of advanced glycation end products (AGEs). *Beside endogenous AGE production, AGEs can also be found in foods and contributes significantly to the individual AGE pool. Modern diets are high in advanced glycation end products (dietary AGEs, dAGEs), derived from processing methods that exert a pivotal role in promoting atherosclerotic risk.*

**Objective.** We studied the effect of low vs standard dAGEs diets (L-dAGEs vs S-dAGEs) on lipid profile, inflammation, and cardiovascular risk in diabetic subjects.

**Methods.** A 18-week randomized dietary intervention was conducted on 30 diabetic subjects. We evaluated lipid profile, high-sensitivity C-reactive protein, arterial stiffness, and intima-media thickness (IMT).

**Results.** After 18 weeks high-sensitivity C-reactive protein levels were significantly reduced in the L-dAGEs group compared to standard diet (0.32 [0.24-0.38] vs 0.48 [0.38-0.56] mg/dL,  $P < .05$ ). We observed a non significant reduction in lipid profile in patients with L-dAGEs. With respect to baseline, L-dAGE patients showed a significant reduction in Augmentation index ( $27 \pm 8.6$  vs  $32.6 \pm 5.3\%$ ) and Augmentation pressure ( $21 \pm 6$  vs  $24 \pm 7$  mmHg). A non significant reduction of Pulse Wave Velocity was observed in L-dAGE group. No difference in IMT was found from baseline to follow-up in both the groups.

**Conclusions.** L-dAGEs improved the inflammatory profile of diabetic subjects and seemed to reduce arterial stiffness compared with a standard diet. Further studies are needed to recommend this dietary regimen for prevention of cardiovascular risk in diabetes.

## HbA<sub>1c</sub> IDENTIFIES SUBJECTS WITH PREDIABETES AND SUBCLINICAL LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC DYSFUNCTION

A. Di Pino, S. Mangiafico<sup>1</sup>, F. Urbano, R. Scicali, S. Scandura, V. D'Agate<sup>1</sup>, S. Piro, C. Tamburino<sup>1</sup>, F. Purrello, A.M. Rabuazzo  
*Department of Clinical and Experimental Medicine, Garibaldi Hospital, University of Catania, Italy;*  
*<sup>1</sup>Division of Cardiology, Ferrarotto Hospital, University of Catania, Italy*

**Background and Objective.** Prediabetes is associated with subclinical cardiac changes associated with heart failure development. We investigated diastolic function and its association with markers of glycation and inflammation related with cardiovascular disease in patients with prediabetes. We focused on individuals with prediabetes identified only by glycated hemoglobin A1c [HbA1c 5.7-6.4% who had normal fasting glucose (NFG) and normal glucose tolerance (NGT) after oral glucose tolerance test (OGTT)].

**Main Outcome Measures.** HbA1c, OGTT, doppler echocardiography, soluble receptor for advanced glycation end-products (sRAGE), endogenous secretory RAGE (esRAGE) and S100A12 were evaluated in all the participants.

**Patients.** We recruited 167 subjects with NFG/NGT. Subjects were stratified into two groups according to HbA1c levels: controls (HbA1c <5.7% and NFG/NGT); and HbA1c prediabetes (HbA1c 5.7-6.4% and NFG/NGT).

**Results.** Patients with HbA1c prediabetes (n=106) showed a lower E/A Ratio compared with controls (n=61) ( $1.10 \pm 0.24$  vs  $1.18 \pm 0.23$ ,  $P < .05$ ); furthermore, they showed a higher left atrium volume (LAV) ( $28.4 \pm 5$  vs  $22.1 \pm 3$ ,  $P < .05$ ) and sphericity index (SI) ( $0.6 \pm 0.06$  vs  $0.5 \pm 0.05$ ,  $P < .05$ ). After multiple regression analysis, HbA1c, and esRAGE were independently associated with E/A Ratio; the major determinants of LAV were HbA1c and sRAGE, whereas SI was associated with HbA1c.

**Conclusions.** Subjects with HbA1c prediabetes exhibited subclinical cardiac alterations: lower E/A Ratio, higher LAV and impaired SI; sRAGE, esRAGE and HbA1c were associated with these alterations. These subjects would not have been classified as having prediabetes on the basis of fasting glycemia or post-OGTT values.

## AN INCREASED WAIST-TO-HIP RATIO IS A KEY DETERMINANT OF ATHEROSCLEROTIC BURDEN IN OVERWEIGHT SUBJECTS

R. Scicali<sup>1</sup>, D. Rosenbaum<sup>2,3</sup>, A. Di Pino<sup>1</sup>, P. Giral<sup>2,4</sup>, P. Cluze<sup>3,5</sup>, A. Redheuil<sup>3,5</sup>, S. Piro<sup>1</sup>, A.M. Rabuazzo<sup>1</sup>, F. Purrello<sup>1</sup>, E. Bruckert<sup>2,4</sup>, A. Gallo<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Catania, Catania, Italy;

<sup>2</sup>Cardiovascular Prevention Unit, of Metabolism and Endocrinology Service; Paris Hospital Public Assistance, Pitié-Salpêtrière Hospital Group - Pierre et Marie Curie University, Paris, France;

<sup>3</sup>Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM 1146, - CNRS 7371, Laboratoire d'imagerie Biomédicale, Paris, France;

<sup>4</sup>Dyslipoproteinemia and Atherosclerosis Research Unit, UMRS 939, National Institute for Health and Medical Research (INSERM) and Pierre et Marie Curie University (UPMC - Paris VI), Paris, France;

<sup>5</sup>Département d'imagerie cardiovasculaire et de radiologie interventionnelle, Pôle Imagerie-Gruppe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

**Aims.** The association of overweight status and cardiovascular disease is not clear. In this study we aimed to investigate coronary atherosclerotic disease, evaluated as coronary artery calcium score (CACs), in overweight patients with or without abdominal obesity as defined by waist-to-hip ratio (WHR).

**Methods.** We enrolled 276 patients aged between 40 and 70 years, with a body mass index of 25-29.9 kg/m<sup>2</sup> and at least one cardiovascular risk factor. Exclusion criteria were history of diabetes, cardiovascular or renal disease. Patients were stratified in high WHR (H-WHR) or low WHR (L-WHR) group according to WHR ( $\geq 0.85$  for women and  $\geq 0.90$  for men) and underwent multi-detector computed tomography for CACs. Mean carotid intima-media thickness (IMT) and plaque presence were equally assessed.

**Results and Conclusions.** CACs was higher in the H-WHR group compared to L-WHR (9.05 [0.0-83.48] vs 0.0 [0.0-64.7] AU,  $p < 0.01$ ); the prevalence of CACs  $> 0$  in the H-WHR group was significantly higher than subjects with L-WHR (59.6% vs 38.5%,  $p < 0.001$ ). Moreover, H-WHR group had higher mean IMT (0.64 [0.56-0.72] vs 0.59 [0.55-0.67] mm,  $p < 0.05$ ) and higher carotid plaque prevalence (63.7% vs 50.8%,  $p < 0.05$ ) compared to subjects with L-WHR. Logistic regression showed that H-WHR was associated with presence of CACs and carotid plaque ( $p < 0.01$ ). In a multiple linear regression, WHR was positively associated with CACs and IMT ( $p < 0.01$ ). H-WHR is a marker of coronary and peripheral atherosclerotic burden in overweight patients.

## ANALISI GENETICO-MOLECOLARE IN UNA FAMIGLIA AFFETTA DA IPERTRIGLICERIDEMIA FAMILIARE AUTOSOMICA DOMINANTE

R. Spina<sup>2</sup>, C. Scrimali<sup>2</sup>, D. Di Monte<sup>1</sup>, V. Ingrassia<sup>2</sup>, A. Giammanco<sup>2</sup>, F. Caradio<sup>1</sup>, F. Brucato<sup>2</sup>, F. Cipollone<sup>1</sup>, G. Misiano<sup>2</sup>, V. Valenti<sup>2</sup>, F. Fayer<sup>2</sup>, G.I. Altieri<sup>2</sup>, D. Noto<sup>2</sup>, A. Ganci<sup>2</sup>, C.M. Barbagallo<sup>2</sup>, A.B. Cefalu<sup>2</sup>, M. Bucci<sup>1</sup>, M.R. Averna<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina e Scienze dell'invecchiamento, Università di Chieti;

<sup>2</sup>Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica (DIBIMIS), Università di Palermo

**Background.** Hypertriglyceridemia is a common occurrence, whose risk (cardiovascular events, pancreatitis, etc.) increases proportionally with the triglyceride values. It may be secondary to other metabolic disorders or autoimmune diseases or drugs, but the more severe forms generally have a genetic origin and some of these are very rare and difficult to diagnose.

**Clinical case.** Woman, 48 years, fertile, normal weight (BMI=21), with combined dyslipidemia (mainly hypertriglyceridemia) (total cholesterol 350-480; HDL  $< 30$ ; triglycerides 1300-2500 mg/dL) known for more than 20 years and resistant to diet and n-PUFA 1 g x 4/day ( $> 500$  mg/dL). In maternal family, 5/12 uncles had early (50-65 years) cardiovascular events. Her daughter (22 years) has a fenofibrate-resistant hypertriglyceridemia ( $> 1350$  mg/dL) and her son (18) has a hypertriglyceridemia ( $> 1500$  mg/dL) diagnosed since birth (270-320 mg/dL) but never pharmacologically treated. Both the patient and her children history (glycemia, renal, hepatic and thyroid function, screening for other endocrine and autoimmune diseases, ...) were negative for secondary forms. Our patient had a hepatosteatosi (ultrasonographic diagnosis) but has never had cholelithiasis. A recent Echo-Doppler showed no signs of carotid Intima-Media Thickness. The medical examination did not reveal xanthomas/xantelasms nor discolorations in the skin folds. After 12-hour incubation at 4°C, plasma appeared milky.

**Comment.** Clinical and laboratory history, together with very high triglyceride levels, resistant to therapy, made us suspect a genetic form.

**Diagnosis.** Patient's and her childrens' blood samples were sent to the Biomedical Department of Internal Medicine, Palermo University, where they confirmed the diagnosis of hypertriglyceridemia due to heterozygous nonsense mutation (c.718 G>A) in the CREB3L3 gene both in mother and her children.

**Conclusions.** CREB3L3 hypertriglyceridemia is a very rare form. To date, there are not well defined clinical criteria for diagnosing. Our case, along with very few others already genetically confirmed, could help us in early identifying if there are any common clinical criteria.

## DETECTION OF COPY NUMBER VARIATION IN LDLR GENE BY NEXT GENERATION SEQUENCING IN PATIENTS WITH FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA

C. Scrimali, R. Spina, V. Ingrassia, A. Giammanco, D. Vella, G. Misiano, V. Valenti, F. Fayer, G.I. Altieri, D. Noto, A. Ganci, C.M. Barbagallo, A.B. Cefalù, M.R. Averna

*Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica (DIBIMIS), University of Palermo, Palermo, Italy*

**Background.** Familial Hypercholesterolemia (FH) is a dominant disorder characterized by high plasma LDL-C levels and an increased risk of premature coronary artery disease. It is caused by mutations in three genes: LDLR, APOB and PCSK9. Search for mutations is commonly performed by Sanger sequencing or Next Generation Sequencing (NGS). The majority of LDLR gene variants are point mutations (90-95%) and about 5-10% are due to copy number variations (CNVs) that require further molecular analysis to be characterized (ie Southern Blotting or Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)). During the last years, NGS based technology has been improved to detect CNVs as an alternative approach. A new bioinformatic tool for Ion Reporter software allow to detect CNVs using NGS data outputs obtained by Personal Genome Machine (PGM).

**Objective and Methods.** The aim of the study was to test if NGS data could be used to detect CNVs in LDLR gene and validate the results with MLPA. We used an Ampliseq custom panel for the analysis of FH-related genes by Ion Torrent PGM and a bioinformatic tool for the analysis of data to detect CNVs.

**Results.** The analysis of NGS data outputs of FH patients showed a concordance in LDLR CNVs detection between MLPA and NGS methods. CNVs discovered in FH patients by MLPA were also detected by NGS.

**Conclusion.** These results indicate that the detection of CNVs by NGS method represent a valid methodology that can reduce cost and time of molecular analysis in FH.

## TYPE III HYPERLIPOPROTEINEMIA IN A GROUP OF OUTPATIENTS WITH MIXED HYPERLIPIDEMIA

A. Giammanco<sup>1</sup>, G. Misiano<sup>1</sup>, D. Di Monte<sup>2</sup>, M. Bucci<sup>2</sup>, R. Spina<sup>1</sup>, N. Saponaro, C. Scrimali<sup>1</sup>, V. Valenti<sup>1</sup>, F. Fayer<sup>1</sup>, G.I. Altieri<sup>1</sup>, V. Ingrassia<sup>1</sup>, D. Noto<sup>1</sup>, A. Ganci<sup>1</sup>, C.M. Barbagallo<sup>1</sup>, A.B. Cefalù<sup>1</sup>, M.R. Averna<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica (DIBIMIS), University of Palermo, Palermo, Italy;*

*<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, University of Chieti, Chieti, Italy*

**Background.** Familial dysbetalipoproteinemia (FD) also known as type III hyperlipoproteinemia (OMIM 617347) is a genetic disorder of lipoprotein metabolism characterized by mixed hyperlipidemia, remnant accumulation and increased risk for premature cardiovascular disease. FD is an autosomal recessive disease, caused by mutations in the apolipoprotein E gene (APOE). Most familial dysbetalipoproteinemia patients are homozygous for apolipoprotein  $\epsilon 2$ , which is associated with decreased binding of apolipoprotein E to the LDL receptor. Among people carriers of an  $\epsilon 2\epsilon 2$  genotype, 15% develops familial dysbetalipoproteinemia, which becomes evident through secondary risk factors, such as obesity and insulin resistance, that facilitate the development of FD by inhibiting remnant clearance and degrading the heparan sulfate proteoglycan receptor.

**Objective and methods.** The aim of this study was to evaluate the APOE genotype in a cohort of 87 patients presenting with mixed hyperlipidemia at the Lipid Clinic in Palermo. More, among these subjects, we have analyzed those with a prevalent hypertriglyceridemia, transmitted as a dominant trait within a family, to identify the causal mutation of the candidate genes of dominant forms of primary hypertriglyceridemia by direct sequencing. Anthropometric measures, clinical and biochemical parameters, life style (smoker and/or alcohol habits) and cardiovascular outcomes were evaluated.

**Results.** We have identified the  $\epsilon 2/\epsilon 2$  genotype in three probands. The phenotypic characterization of these subjects revealed a wide variety in clinical presentation. FD facilitating factors, such as insulin resistance and/or obesity and/or smoking habits conditioned the clinical presentation such as fluctuations of plasmatic triglycerides or the presence of cardiovascular events among siblings. Moreover, the sequencing of CREB3L3 gene led to the discovery of a known missense mutation in one patient with a prevalent phenotype characterized by hypertriglyceridemia.

**Conclusions.** We identify three patients carriers of  $\epsilon 2/\epsilon 2$  genotype. The phenotypic expression of FD is greatly affected by clinical and genetic factors.

## CHOLESTEROL SYNTHESIS AND GLUTATHIONE METABOLISM GENE PATHWAYS ARE CO-REGULATED IN CONCERT WITH GENES OF UNKNOWN FUNCTIONS. CLUSTER ANALYSIS OF PATTERNS GENERATED FROM A WEB REPOSITORY OF HEPG2 TRANSCRIPTOMES

G.I. Altieri, D. Noto, A.B. Cefalù, A. Giammanco, F. Fayer, A. Mattina, V. Ingrassia, C. Scrimali, R. Spina, M.R. Averna  
*Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica (DIBIMIS), University of Palermo*

**Background.** Living cells react to external stressors by activating coordinate expression of several genes. Synergism is guaranteed by the coordinating role of transcription factors (TF). The analysis of the whole transcriptome expression by microarray analysis is a valuable tool to discover such patterns of genes co-regulation.

**Objective and Methods.** This paper analyzed the gene responses of HepG2 cells subjected to various stressors in different microarray transcriptome analyses in order to build patterns of co-regulation and to establish expression correlations between 20382 transcripts and 1896 TF extracted from the same experiments. Microarray transcriptome analyses were retrieved from a web repository and a powerful pipeline was developed to build regulation profiles of transcripts, to cluster them in homogeneous groups and to identify group of clusters sharing similar biological functions.

**Results.** This approach identified at least four clusters of genes related to: cell cycle and division (area 1), structural constituents of ribosome (area 2), cell division and mitosis (area 3), cholesterol synthesis (area 4). The area 4 contained also transcripts of genes related to glutathione metabolism, energy generation, and four genes of unknown function: *TMEM97*, *TMEM14A*, *C14orf1* and *C4orf27*. The correlations of transcripts of cholesterol synthesis with the set of TF showed that some of them emerge as putative regulators of cholesterol metabolism, with *CEBPBP*, *DDIT3*, *CDK2* and *FOXMI* as most relevant candidates.

**Conclusions.** A novel powerful approach for the analysis or co-expressed genes under the control of a series of TF is presented. This approach revealed suggestive links between cholesterol synthesis, transcripts with other functions and TF apparently unrelated at first sight.

## PRECLINICAL IMPAIRMENT OF MYOCARDIAL FUNCTION AND ENDOTHELIAL VASCULAR MARKERS IN DRUG-NAÏVE PSORIATIC AND RHEUMATOID ARTHRITIS: ASSOCIATION WITH VITAMIN D LEVELS AND INFLAMMATION

A. Lo Gullo, C. Oriana Aragona, M. Scuruchi, F. Savarino, M. Atteritano, L. Oreto, E. Imbalzano, A. Saitta, G. Mandraffino  
*Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina, Sicily*

**Background and Aims.** Cardiovascular (CV) morbidity is increased in inflammatory joint diseases (IJD), as rheumatoid (RA) and psoriatic arthritis (PsA). Whereas increased prevalence of subclinical atherosclerosis has been reported in these conditions, whether an early myocardial functionality is also impaired remains unknown. The aim of this study was to evaluate the myocardial functionality by speckle-tracking echocardiography (STE) in recent onset RA and PsA patients and its potential associations with the levels of circulating CD34+ cells, vitamin D, and with disease activity.

**Methods.** STE was used to assess the myocardial functionality in patients with very early RA (n=41) and PsA (n=35) without traditional CV risk factors, and 58 matched healthy controls (HC). Global longitudinal and circumferential strain (GLS and GCS) was estimated. Pulse wave velocity (PWV) and carotid intima-media thickness (cIMT) were measured as surrogate markers of atherosclerosis. Circulating CD34+ counts were evaluated by flow cytometry and vitamin D levels were quantified by HPLC. Disease activity was assessed by Disease Activity Score-28 (DAS28).

**Results.** RA patients exhibited impaired GLS and GCS (both  $p < 0.001$ ) as compared to HC, GLS being also altered in PsA ( $p = 0.020$  vs. HC). DAS28 was correlated to GLS ( $r = 0.908$ ,  $p < 0.001$ ) and GCS ( $r = 0.868$ ,  $p < 0.001$ ) in RA, these findings being confirmed by multivariate regression analyses adjusted for confounders and Principal Component Analyses. GLS and GCS were impaired in PsA patients with high disease activity as compared to HC, and GLS was found to be a predictor of cIMT in this condition. On the other hand, vitamin D was negatively associated with cIMT in HC ( $r = -0.308$ ,  $p = 0.026$ ) but not in PsA or RA, although decreased levels were observed (both  $p < 0.001$ ). Vitamin D was an independent predictor of decreased CD34+ levels in PsA and RA. CD34+ counts negatively correlated DAS28, GLS and GCS in RA.

**Conclusions.** Subclinical myocardial dysfunction is observed in IJD patients with preserved left-ventricular function and without traditional CV risk factors. Subclinical myocardial dysfunction was found to be a very early event in IJD. Disease activity was the main predictor of myocardial strain impairment. Interestingly, myocardial function was altered and associated with cIMT also in PsA patients with high disease activity.

## A TREATMENT WITH ANTI-PROPROTEIN CONVERTASE SUBTILISIN-KEXIN TYPE 9 MONOCLONAL ANTIBODIES IS EFFECTIVE IN IMPROVING ARTERIAL STIFFNESS BESIDES EXPECTED LIPID PROFILE EFFECTS

C.O. Aragona\*, G. Mandraffino\*, F. Savarino, V. Cairo, G. Trapani, S. Quartuccio, F. Mamone, M. Scuruchi, A. Saitta, E. Imbalzano  
*Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina*

**Background.** Monoclonal antibodies that inhibit proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 (PCSK9) are a new class of drugs able to lower LDL cholesterol levels. This class of drugs is indicated in the treatment of patients affected by familial hypercholesterolemia (FH) and patients affected by acute coronary syndrome (at least six months after the event).

**Purpose.** We investigate whether after six months of treatment with anti-PCSK9 monoclonal antibodies (alirocumab or evolocumab) may induce any improvement of pro-atherogenic profile and arterial stiffness (AS) in patients with high cardiovascular risk already in treatment with the maximally tolerated statin therapy.

**Methods.** We enrolled 23 people not at target LDL-C values. At enrollment and 6 months later we evaluated anthropometrics, laboratory profile, pulse wave velocity (PWV) and carotid intima-media thickness (cIMT).

**Results.** After 6-months of treatment we found a significant decrease of inflammatory markers (hs-CRP: -41.4%; Fibrinogen: -18.8%), LDL-C and lipoprotein(a) levels (respectively -64.2% and -36.2%). PWV (-9.8%) appeared to be improved; cIMT remained unchanged. PWV reduction appeared to be correlated with inflammatory markers and LDL-C reduction. However,  $\Delta$ PWV appeared to be not dependent on  $\Delta$ LDL-C or  $\Delta$ fibrinogen by the multiple regression analysis.

**Conclusion.** After 6 months of treatment the levels of CRP, Fibrinogen, LDL-C, and Lp(a), as well AS indices, are significantly improved as compared to baseline. A treatment with anti-PCSK9 monoclonal antibodies may improve significantly the arterial stiffness in patients with high cardiovascular risk and this result seems to be independent by the improving of lipid profile.

## FACTORS ASSOCIATED WITH THE DEGREE OF LIVER AND VASCULAR DISEASE IN PATIENTS WITH NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: AN OBSERVATIONAL STUDY

V. Cairo, C. Saitta, F. Mamone, G. Mandraffino, F. Saffiotti, C.O. Aragona, F. Savarino, G. Raimondo, A. Saitta  
*Department of Clinical and Experimental medicine, University of Messina, UOC of Internal Medicine, UOC of Clinical and Biomolecular Hepatology. Outpatient clinic for Hepatic steatosis*

**Background and aims.** Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is defined as accumulation of triglycerides more than 5% in the liver in the absence of other causes of liver disease and with alcohol consumption less than 30 g per day for man and 20 per g day for woman. NAFLD enclose a spectrum of diseases ranging from simply steatosis to end stage liver diseases or to hepatocellular carcinoma (HCC); moreover, people with NAFLD have a higher risk of dying than general population, and the most common causes of death are cardiovascular disease, neoplastic disease and liver disease. NAFLD is becoming a relevant problem because of its high prevalence (~25% worldwide). Pathophysiology is not fully understood. The pivotal role of insulin resistance is validated from a huge number of literature, but other factors can take part to liver and cardiovascular damage progression, such as diagnosis of Diabetes Mellitus (DM), Arterial Hypertensions (AH), Dyslipidemia (D), modest alcohol consumption. The aim of this study is to analyze factors associated with liver and cardiovascular damage in patients with NAFLD.

**Material and methods.** We analyzed the clinical records of 258 patients with ultrasound diagnosis of NAFLD, older than 18 years at the outpatient clinic for the hepatic steatosis of the University of Messina, after the release of informed consent we collected data on anthropometrics data, diagnosis of DM, AH, D. Data on alcohol consumption were collected and patients declaring a consumption lower than the reported cut off were considered as modest consumers of alcohol, whereas the other patients were "not drinkers". Data on liver damage as evaluated by liver stiffness measurement (LSM) were collected. Data on cardiovascular damage evaluated as abnormal cIMT were also collected (only in 133 patients).

**Results.** LSM indicative of advanced fibrosis correlates with BMI ( $p < 0.001$ ), CV ( $p < 0.001$ ), Age ( $p < 0.001$ ), and is associated with DM ( $p < 0.001$ ), AH ( $p < 0.001$ ), abnormal cIMT ( $p < 0.05$ ). The logistic regression models show that the presence of advanced fibrosis depends on age ( $p < 0.005$ ), BMI ( $p < 0.001$ ), CV ( $p < 0.001$ ), diagnosis of DM ( $p < 0.001$ ), AH ( $p < 0.001$ ), after adjustment for the other factors BMI and DM are the major risk factors for advanced fibrosis in patients with NAFLD ( $p < 0.05$ , OR 1.188, CI 1.004-1.405;  $p < 0.05$  OR 3.943, CI 1,221-12,735). The logistic regression models show that abnormalcIMT depends on Age ( $p < 0.001$ ), CV ( $p < 0.05$ ), DM ( $p < 0.005$ ), AH ( $p < 0.005$ ), D (0.05), LSM ( $p < 0.05$ ). After adjustment for other factors, age results the major risk factor for vascular damage in patients with NAFLD ( $p < 0.005$ ).

**Conclusion.** Our data show no association between modest alcohol consumption and the degree of liver damage. In patients with NAFLD, the presence of type 2 diabetes mellitus and obesity is the main risk factor for advanced liver fibrosis. Since the severity of liver damage is also associated with the presence of vascular damage, it would be useful to suggest this patient to undergo carotid Doppler even to assess global CV risk and personalize the treatment.



## NUTRACEUTICAL-POT IN PATIENTS WITH PERIPHERAL ARTERIAL OCCLUSIVE DISEASE AND STATINS INTOLERANCE: MORE THAN A CHANCE

S. Quartuccio, R. Pardeo, G. Mandraffino, E. Imbalzano, A. Saitta

*Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina, Sicily*

**Aim.** Peripheral Arterial Occlusive Disease is a clinical and very common manifestation of atherosclerosis in occidental countries. The main objective of these patients is the reduction of cholesterol levels (LDL-c). This objective improves claudicatio and reduce heart-associated events. We aimed evaluating the efficacy, the safety and the tolerance of a nutraceutical compound in PAOD patients which, due to an intolerance or to a volunteer refuse, weren't in treatment with any statin. We tested the hypothesis of a possible improvement of exercise performances in claudicatio patients intaking an integrator with multiple anti-atherosclerotic principles.

**Methods.** LDL-c level and treadmill test performance were evaluated on PAOD patients intaking this nutraceutical product were compared to patients in treatment with a placebo at T0 and at T6. The nutraceutical integrator contained: Omega-3: 651 mg; Monascus Purpureus: 417 mg; Policosanol: 10 mg; CoQ10: 10 mg; Resveratrol: 10 mg; Vitamine B6: 3 mg; Vitamine B12: 2.5 mcg, Folic Acid 300 mcg. 68 patients were enrolled and were divided in 2 groups (A group = nutraceutical, B group = placebo). The study had 3 phases: patient selection, screening part and patient evaluation under blind-treatment. Eligible patients had to be older than 40 years and had suffered from claudicatio for more than 6 months.

**Results.** A Group patients had a progressive and significant reduction of serum levels of total and LDL cholesterol and triglycerides than B group ( $p < 0,001$ ). A Group had also better PWV values than control group. Treadmill performance was significantly improved in patients belonging to A group than B group patients.

**Conclusions.** PAOD patients well tolerated nutraceutical administration and the treatment resulted being secure and effective. Whether it isn't possible using a statin in PAOD patients, a nutraceutical formulation it has to be considered as a valid alternative.

## CORRELATION BETWEEN BLOOD LEVELS OF S100B PROTEIN AND INCIDENCE OF HEART FAILURE OR IMA IN A CARDIOLOGY UNIT

R. Pardeo<sup>1</sup>, S. Quartuccio<sup>1</sup>, G. Mandraffino<sup>1</sup>, M. Vatrano<sup>2</sup>, M. Casciaro<sup>3</sup>, R. Ceravolo<sup>2</sup>, S. Gangemi<sup>3</sup>, E. Imbalzano<sup>1</sup>, A. Saitta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina, Sicily;*

<sup>2</sup>*UTIC and Cardiology, Hospital "Pugliese-Ciaccio" of Catanzaro, Catanzaro, Italy;*

<sup>3</sup>*School and Division of Allergy and Clinical Immunology, University of Messina, Messina, Italy*

**Background.** Since the first nineties it has been demonstrated that serum S100B levels were increased in the pathogenesis of heart disease and involved their pathogenetic mechanisms. By the years it was also noticed that after myocardial infarction both mRNA and levels of S100B protein were up-regulated. S100B by interacting with RAGE is able to start an inflammatory response with

an increase of adhesion molecules and inflammatory cytokines, leading to another cardiovascular diseases, atherogenesis. On this basis, Cai et Al. investigated whether or not S100B it was associated with stable angina and acute coronary syndrome obtaining a significant correlation. In fact S100B mRNA levels were increased in large and small infarct areas. Li et Al. dosed S100B serum levels in patients affected by heart failure in order to understand if this protein could be a reliable biomarker in the studied disease. In this study S100B was increased in failing hearts but even more higher in serum of patients that had also chronic kidneys disease. Their work included also the analysis of other disease markers such as hsCRP, TNF-alpha, NT-proBNP levels together with echocardiographic assessment. What emerged was that serum S100B was an independent risk factor for chronic heart failure and for major cardiac events. Data also underlined that higher levels of this alarmin were correlated with a worse prognosis. Differently from the already known heart disease biomarkers, S100B is a tissue-specific protein (chondrocytes, adipocytes, skeletal myofibers, cardiomyocytes, dendritic cells, etc.); it was largely demonstrated to be released after a damage and the consequent remodelling involving cardiac tissue. The obvious consequence is its increase in plasma suggesting S100B to be a more specific marker of heart disease, more than already known biomarkers.

Chronic heart failure is one of the most common consequence of myocardial infarction, and is characterized by a reduction of the heart ability to face peripheral blood distribution. Chronic heart failure (HF) and myocardial infarction (IMA) are often associated to the augmentation of inflammation markers. S100B is an alarmin secreted by damaged cardiomyocytes. We examined the correlation between S100B protein serum levels and the incidence of acute heart failure and IMA in symptomatic patients.

**Methods.** We conducted a prospective study on 90 patients aged between 50 and 72 years accepted to our Unit referring cardiac associated symptoms (thorax pain, dyspnea, arrhythmic symptoms). They were divided in three groups: healthy subjects (group A), chronic heart failure patients (group B) and IMA patients (group C). CRP, NT-proBNP, and routine exam were performed in every patient. Moreover it was made a S100B dosage was made.

**Results.** Results demonstrated different levels among healthy subjects. However in chronic heart failure patients the alarmin levels were higher but not significantly augmented. Instead AMI patients had mean values of S100B doubled than the other two groups and significantly augmented.

**Conclusions.** According to our data S100B as the potential to be, in a near future, be considered as an acute myocardial infarction marker in addition to the ones existing. However more studies are needed to identify possible bias elements in S100B serum dosage. This together with other elements are guiding us to a better understand of micro-structural changes in damaged heart in order to consider new therapeutic targets.

SOCIETA ITALIANA PER LO STUDIO DELL'ARTERIOSCLEROSI (SISA)

## Convegno Annuale Sisa della Sezione Piemonte, Liguria, Valle D'Aosta

**NUOVE FRONTIERE NEL MANAGEMENT DEL RISCHIO  
CARDIOMETABOLICO E NELLA PREVENZIONE DELL'ATEROSCLEROSI**

Genova, 2 dicembre 2017

*Il Convegno Regionale SISA Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta a titolo "Nuove frontiere nel management del rischio cardiometabolico nella prevenzione dell'aterosclerosi", con la presenza come relatori di docenti di livello internazionale e nazionale, si è proposto di esplorare le nuove prospettive terapeutiche nel campo delle dislipidemie e della prevenzione dell'aterosclerosi, con particolare attenzione al management del rischio cardiometabolico, secondo criteri di efficacia, sicurezza, appropriatezza e sostenibilità.*

*Accanto all'appropriatezza clinica, assume sempre maggiore significato, per garantire innovazione terapeutica e sostenibilità, l'appropriatezza organizzativa; per tale ragione il percorso formativo del Convegno ha previsto nella prima sessione una focalizzazione sulla gestione del paziente a "rischio basso e moderato", valorizzando l'intervento sullo stile di vita quale prioritaria risorsa terapeutica, l'appropriato utilizzo dei Nutraceutici, secondo le linee guida Societarie e la piena valorizzazione degli attuali presidi terapeutici farmacologici e polifarmacologici, mentre nella seconda sessione l'attenzione è stata posta sulla gestione del paziente a "rischio alto e molto alto", declinando la prospettiva della massimizzazione dell'efficacia dei farmaci ipocolesterolemizzanti, secondo criteri di efficacia e sicurezza e dell'innovazione terapeutica rappresentata dall'introduzione degli anticorpi monoclonali inibitori della proteina PCSK9, secondo criteri di accurata selezione dei pazienti, efficacia, sicurezza e sostenibilità.*

*Nel corso del convegno regionale SISA dopo la Lettura Magistrale dedicata alla "Precision Medicine nell'era dei big-data", è stata approfondita la dimensione rappresentata dall'innovazione terapeutica nella cura del diabete mellito tipo 2, nella prospettiva del loro impatto sul rischio cardiometabolico.*

*Infine, significativo spazio è stato riservato alla riflessione sul presente e sul futuro Societario, con una Sessione dedicata al Gruppo Giovani Ricercatori SISA e all'Assemblea dei Soci.*

*È quindi con grande piacere che, cogliendo la squisita disponibilità del Presidente Prof. Enzo Manzato, del Segretario Prof. Marcello Arca, del Consiglio Direttivo Nazionale e dell'Editor del Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi, Prof. Luigi Cattin, che ringrazio Tutti per la preziosa opportunità, pubblichiamo i sei contributi scientifici selezionati e presentati nello "Spazio" Il Gruppo Giovani Ricercatori SISA, da giovani Lipidologi Liguri e Piemontesi, ai quali rivolgo vivissime congratulazioni per gli apprezzati contributi scientifici e per la disponibilità a costruire insieme il Futuro Societario SISA.*

Luigi Gentile

Presidente Sezione SISA Piemonte Liguria Valle d'Aosta,  
a nome del Consiglio Direttivo Regionale 2016-2019

## COMUNICAZIONI ORALI

### L'IPERCOLESTEROLEMIA RIDUCE L'AZIONE DEL GLUCAGON-LIKE PEPTIDE 1 SULLA REATTIVITÀ PIASTRINICA: EFFETTI DEL TRATTAMENTO IPOLIPEMIZZANTE CON STATINA

C. Barale<sup>1</sup>, C. Frascaroli<sup>2</sup>, P. Cataldi<sup>2</sup>, K. Bonomo<sup>2</sup>,  
F. Cavalot<sup>2</sup>, I. Russo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche,  
Università di Torino

<sup>2</sup>SSD Malattie del Metabolismo e Diabetologia,  
AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano, Torino.

**Introduzione.** Il Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) è un ormone incretinico che, oltre a svolgere un ruolo cruciale nella omeostasi del glucosio, esercita effetti sul sistema cardiovascolare. L'emivita del GLP-1 è molto breve: la sua forma biologicamente attiva, GLP-1 (7-36), è rapidamente degradata a GLP-1 (9-36), peptide considerato a lungo privo di funzioni biologiche. In studi precedenti abbiamo dimostrato che GLP-1 (7-36), GLP-1 (9-36) e Liraglutide, analogo del GLP-1 impiegato nella terapia del Diabete di Tipo 2, influenzano, nei soggetti sani, la funzionalità delle piastrine aumentando gli effetti inibitori della via ossido nitrico (NO)/cGMP/PKG/VASP, riducendo l'attivazione delle vie proaggreganti PI3K e MAPK e lo stress ossidativo. Non è noto il ruolo della ipercolesterolemia sugli effetti piastrinici del GLP-1. **Scopo dello studio.** Verificare in soggetti affetti da ipercolesterolemia, sia prima che dopo un trattamento ipolipemizzante con statina, gli effetti del GLP-1 sulla risposta piastrinica.

**Soggetti e Metodi.** In piastrine di 45 soggetti ipercolesterolemici (M/F 26/19; età 50±2 anni, BMI 25±1 kg/m<sup>2</sup>, CT 273±7 mg/dl, HDL 62±3 mg/dl, TG 173±16 mg/dl, LDL 183±6 mg/dl) e 20 soggetti sani di controllo (M/F 12/8; età 51±2 anni, BMI 24±0.3 kg/m<sup>2</sup>) è stata valutata la capacità di GLP-1 (7-36), GLP-1 (9-36) o Liraglutide (100 nmol/l) di influenzare in vitro: i) gli effetti antiaggreganti dell'NO in risposta a ADP, Collagene, acido arachidonico

(AA) (metodo di Born); ii) l'attivazione della via inibente NO/PKG mediante i livelli di fosforilazione di VASP-ser239; iii) l'attivazione delle vie PI-3K e MAPK, rispettivamente, mediante i livelli di fosforilazione di Akt e Erk-1/2; iv) la sintesi di specie reattive dell'ossigeno (ROS). Nei soggetti ipercolesterolemici, gli effetti piastrinici del GLP-1 sono stati rivalutati dopo 3 mesi di trattamento con Simvastatina 40 mg/die (n=18) o sola terapia dietetica (n=22).

**Risultati.** A differenza di quanto osservato nei soggetti sani, la preincubazione con GLP-1 (7-36), GLP-1 (9-36) o Liraglutide non ha significativamente modificato: i) l'effetto antiaggregante dell'NO in presenza di ADP (52% vs 51% con GLP-1 (7-36), 54% con GLP-1 (9-36), 52% con Liraglutide), Collagene (31% vs 36% con GLP-1 (7-36), 34% con GLP-1 (9-36), 31% con Liraglutide), AA (42% vs 44% con GLP-1 (7-36), 46% con GLP-1 (9-36), 42% con Liraglutide), ii) i livelli NO-indotti di pVASP (aumento del 3% con GLP-1 (7-36), 5% con GLP-1 (9-36) e 6% con Liraglutide); iii) i livelli di pAKT (decremento del 3% con GLP-1 (7-36), 2% con GLP-1 (9-36), 2% con Liraglutide in risposta al Collagene; decremento del 7% con GLP-1 (7-36), 5% con GLP-1 (9-36), 7% con Liraglutide in risposta a AA) e pERK-2 (decremento del 2% con GLP-1 (7-36), 2% con GLP-1 (9-36), 4% con Liraglutide in risposta al Collagene; decremento del 7% con GLP-1 (7-36), 6% con GLP-1 (9-36), 3% con Liraglutide in risposta a AA); iii) la sintesi delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) stimolata da AA. Il trattamento con Simvastatina ha ridotto significativamente i livelli circolanti di CT (da 288±12 a 206±9 mg/dl, p<0.0001) e LDL (da 198±10 a 120±9 mg/dl, p<0.0001) e, a livello piastrinico: ha migliorato la sensibilità all'asse inibitorio NO/PKG/VASP [l'effetto antiaggregante dell'NO è passato dal 51% al 67% con ADP (p<0.05), dal 35% al 55% con Collagene (p<0.001), da 41% a 49% con AA (p<0.05), i livelli di pVASP stimolati da NO sono aumentati del 30% (p<0.001)], ha ridotto la produzione di ROS sia assenza (p<0.05) sia in presenza di AA (p<0.05) ma non ha migliorato la capacità di GLP-1 (7-36), GLP-1 (9-36) o Liraglutide di interferire sulla via antiaggregante NO/PKG/VASP e di ridurre lo stress ossidativo. Nei soggetti in sola terapia dietetica non si sono osservate modificazioni né dei parametri lipidici né di quelli piastrinici. **Conclusioni.** L'ipercolesterolemia, in assenza di alterazioni del metabolismo glicidico, è caratterizzata da resistenza agli effetti piastrinici del GLP-1. Il trattamento con Simvastatina migliora il profilo lipidico e la sensibilità piastrinica agli effetti inibitori della via NO/PKG/VASP ma non è in grado di ripristinare le risposte piastriniche a GLP-1 (7-36), GLP-1 (9-36) o Liraglutide.

## ANALISI DI EFFICACIA E SICUREZZA DI EVOLOCUMAB ED ALIROCUMAB IN PAZIENTI FH E NON FH IN PREVENZIONE PRIMARIA E SECONDARIA

A.L. Cremonini<sup>1</sup>, A. Pasta<sup>2</sup>, F. Dallegri<sup>2,3</sup>, S. Bertolini<sup>2</sup>, L. Pisciotta<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Università di Parma; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova; <sup>3</sup>Ospedale Policlinico San Martino

**Introduzione.** È ormai noto il ruolo della proteina PCSK-9 nella regolazione dei livelli di colesterolo LDL (LDL-C) e dell'efficacia e della sicurezza nei trials clinici dei due anticorpi monoclonali anti-PCSK9 approvati per il trattamento dell'ipercolesterolemia. In Liguria, da maggio 2017 Evolocumab ed Alirocumab sono prescrivibili in regime di rimborsabilità SSN (classe A) in adulti con ipercolesterolemia primaria (familiar eterozigote (HeFH) o non familiare) o dislipidemia mista in associazione a statine e/o altre terapie ipolipemizzanti o in monoterapia in soggetti intolleranti alle statine, qualora non sia raggiunto il target di LDL-C desiderato.

**Pazienti e metodi.** Presso il Centro Dislipidemie dell'Ospedale Policlinico San Martino di Genova sono attualmente in trattamento 27 soggetti affetti da HeFH in prevenzione primaria o secondaria (16 pazienti con Evolocumab e 11 con Alirocumab) e 5 soggetti con ipercolesterolemia non familiare in prevenzione secondaria (2 con Evolocumab e 3 con Alirocumab). Abbiamo analizzato i parametri lipidici dei pazienti di cui abbiamo eseguito il primo follow-up a 3 mesi valutando quanti pazienti hanno raggiunto il target terapeutico raccomandato e abbiamo analizzato i risultati sul colesterolo LDL di 21 dei 27 soggetti con HeFH prima e dopo 3 mesi dall'inizio della somministrazione dell'anticorpo monoclonale, tenendo conto della terapia ipolipemizzante di base per valutare eventuali differenze nella risposta terapeutica in pazienti in terapia "on top" (atorvastatina 40-80 mg o rosuvastatina 20-40 mg ed ezetimibe 10 mg) rispetto a pazienti in terapia non massimale perché intolleranti parziali o totali alle statine.

**Risultati.** 14 pazienti su 21 hanno raggiunto il target di LDL-C raccomandato dalle linee guida; da notare che tutti i pazienti in terapia "on top" (9 pazienti) hanno raggiunto l'obiettivo prefissato. Nei pazienti He-FH la media di LDL-C in assenza di qualsiasi terapia è risultata 323±68 mg/dl, con ezetimibe in monoterapia o in associazione alla massima dose tollerata si statina, si ottiene una riduzione del LDL-C del 38% (LDL-C 200±85 mg/dl); con l'introduzione dell'anticorpo monoclonale, LDL-C si riduce ulteriormente del 48%. Complessivamente, la riduzione del LDL-C risulta essere del 68% rispetto al basale. Suddividendo i pazienti in tre gruppi (intolleranti totali, intolleranti parziali alle statine e soggetti in terapia con statine ad alta intensità+ezetimibe) si nota come l'anticorpo monoclonale anti-PCSK9 sia meno efficace nei pazienti intolleranti totali o parziali alle statine e abbia invece un effetto ipocolesterolemizzante più spiccato nei soggetti in terapia "on-top": la riduzione percentuale media complessiva del LDL-C è infatti del 33%, 47% e 75% rispettivamente. Ad oggi non abbiamo registrato effetti avversi correlabili all'uso di anticorpi monoclonali anti-PCSK9 anche in casi complessi (paziente sottoposta a trapianto renale in terapia immunosoppressiva, paziente con epatite autoimmune, paziente in terapia con Warfarin).

**Conclusioni.** Questi risultati, oltre a confermare l'efficacia e la sicurezza di questa nuova classe di farmaci, lasciano supporre un beneficio maggiore in termini di riduzione percentuale di LDL-C in pazienti in terapia con statine ad alte dosi, verosimilmente per l'aumento di espressione di PCSK-9 in risposta alla stimolazione di SREBP-1 indotto dalle statine, anche se questa ipotesi andrà confermata con ulteriori studi. Indubbiamente questi nuovi farmaci biologici consentono il raggiungimento degli obiettivi raccomandati di LDL-C in associazione alle terapie orali tradizionali e ad oggi non possono essere considerati sostitutivi delle stesse.

## COMBINAZIONI DI NUTRACEUTICI IPOCOLESTEROLEMIZZANTI A CONFRONTO: ESPERIENZA DELL'AMBULATORIO DISLIPIDEMIE DI GENOVA

E. Formisano<sup>1</sup>; G. Balleari<sup>2</sup>; T. Semino<sup>2</sup>; A. Pasta<sup>2</sup>; L. Pisciotta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Università degli Studi di Milano, interfaccoltà di Scienze Agrarie e Alimentari; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Genova

**Introduzione.** L'ipercolesterolemia rappresenta uno dei principali fattori di rischio che contribuiscono allo sviluppo della malattia cardiovascolare aterosclerotica. In particolare il colesterolo LDL (LDL-C) rappresenta il target terapeutico del trattamento della dislipidemia. Negli ultimi anni si è diffuso notevolmente l'utilizzo dei nutraceutici per il controllo dell'ipercolesterolemia. Principi attivi nutraceutici ipolipemizzanti differenti, che presentano diversi meccanismi di azione, possono essere associati tra loro per ottenere un effetto sinergico.

**Scopo dello studio.** Confrontare la tollerabilità e l'efficacia nella riduzione di LDL-C di integratori contenenti berberina e monocolina K a diverse concentrazioni con integratori contenenti estratto di riso rosso fermentato a diverse concentrazioni di monocolina K.

**Pazienti e metodi.** Sono stati selezionati pazienti afferenti all'Ambulatorio Dislipidemie (Clinica Medicina interna - Ospedale Policlinico San Martino di Genova) affetti da ipercolesterolemia primitiva poligenica, in prevenzione primaria con rischio cardiovascolare basso-moderato (Risk Score <5%) che presentavano valori di LDL-C superiori al livello raccomandato. Il profilo lipidico completo ed i parametri di sicurezza (GOT, GPT e CPK) sono stati determinati prima e al termine del trattamento nutraceutico dopo 2 mesi. Sono stati testati in aperto su 30 pazienti Berberol®K, Armolipid Plus®, Normolip 5®, e su 40 pazienti Lipolysar Long Action®.

**Risultati.** I soggetti in terapia con Berberol®K (monocolina K+KA in rapporto 1:1 al 10%+ berberina 500 mg+Silimarina) mostrano una riduzione media percentuale di LDL-C pari a 31,3 ± 8,1% con un'ampia variabilità interindividuale di risposta. Con Armolipid Plus® (che differisce per la dose di Monocolina k titolata al 3%, l'assenza di Silimarina e la presenza di coenzima Q10, Astaxantina, Acido folico e Policosanoli) la percentuale di riduzione è stata 32% ±8,9%; con Normolip 5® (che differisce per l'assenza di Berberina e Silimarina, la presenza di Monocolina K al 10%, Policosanoli, Cromo, Coenzima Q10) la riduzione è stata del 27%±16,8%. La prima formulazione, che prevedeva una concentrazione di monocolina K al 3% e gamma-orizanolo, aveva permesso di ottenere una riduzione di LDL-C di circa il 18%. Con Lipolysar Long Action® che contiene esclusivamente una bassa concentrazione di monocolina K (2.16 mg) ed un'alta concentrazione di flavonoidi, la riduzione è stata del 14.5%. Non si sono verificati eventi avversi o alterazioni dei parametri di sicurezza con tutti i nutraceutici.

**Conclusioni.** L'estratto di riso rosso fermentato si dimostra efficace nella riduzione del colesterolo già a bassa concentrazione di monocolina K con un aumento di efficacia dose-dipendente. L'associazione con la berberina permette di incrementare l'effetto ipocolesterolemizzante. In questa ristretta casistica l'associazione della berberina con silimarina e monocolina K-KA 10% altamente purificata si dimostra efficace ma mediamente non più vantaggiosa della associazione di berberina con monocolina K 3% e policosanoli. In alcuni pazienti, tuttavia, si sono osservate riduzioni di colesterolemia LDL pari a quelle ottenute con le statine più efficaci (atorvastatina 20 mg o rosuvastatina 10 mg). Tutti i prodotti si dimostrano ben tollerati sotto il profilo clinico e biochimico.

## EFFICACIA E SICUREZZA DELLA TERAPIA CON ANTI-PCSK9 IN UNA COORTE DI SOGGETTI DISLIPIDEMICI

F. Nota, M. Traversa, A. Altavilla, V. Bellino, P. Massucco, F. Cavalot, K. Bonomo  
 SSD Malattie Metaboliche e Diabetologia,  
 AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO).

**Introduzione.** Gli inibitori di PCSK9 sono stati recentemente introdotti nella pratica clinica per il trattamento dell'ipercolesterolemia. Nonostante la documentata efficacia delle statine, numerosi pazienti non raggiungono valori ottimali di LDL-colesterolo (LDL-C) o non tollerano le statine e sono pertanto esposti ad un rischio maggiore di eventi cardiovascolari. Alirocumab ed Evolocumab sono i due anticorpi monoclonali "fully human" attualmente approvati dall'AIFA per l'uso clinico. La loro azione si basa sull'inibizione della PCSK9 circolante, una proteina espressa prevalentemente a livello epatico ed in grado di indurre l'internalizzazione e la degradazione del recettore delle LDL, limitando in tal modo la rimozione del colesterolo dal circolo. Studi di efficacia con gli inibitori di PCSK9 hanno dimostrato una riduzione dei livelli di LDL-C fino al 60%, sia in monoterapia sia in associazione con statine.

**Scopi.** Lo scopo del lavoro è valutare la riproducibilità nella real-life dei dati di efficacia, durability e sicurezza nel tempo della terapia con gli anticorpi anti-PCSK9.

**Popolazione e metodi.** È stato avviato il trattamento con Alirocumab (75-150 mg s.c. ogni 14 giorni) o Evolocumab (140 mg s.c. ogni 14 giorni) in 27 soggetti con livelli di LDL-C non a target secondo il profilo di rischio cardiovascolare (linee guida ESC/EAS 2016). FH eterozigote (Dutch Lipid Score >8) era presente in 15 soggetti (55%); di questi, 5 erano in prevenzione primaria, 7 in prevenzione secondaria e 3 intolleranti alle statine. I restanti 12 soggetti (45%) presentavano una forma di ipercolesterolemia poligenica ed erano a rischio CV molto alto o in prevenzione secondaria; tra questi 7 erano intolleranti alle statine. Tutti i soggetti assumevano ezetimibe 10 mg/die e 17 (63%) erano trattati con statine ad alta efficacia (atorvastatina o rosuvastatina alla massima dose tollerata). È stato eseguito il dosaggio dei livelli sierici di colesterolo totale, colesterolo HDL e trigliceridi prima e a 2 (n=27), 6 (n=19) e 12 (n=14) mesi dall'avvio del trattamento con anti-PCSK9. I dati sono espressi come  $m \pm SD$ . I dati sono stati analizzati con t di Student per dati semplici o per dati appaiati a seconda dei casi.

**Risultati.** Dopo due mesi di terapia i livelli di LDL-C si sono ridotti in media del 53,9% rispetto al basale (da  $195 \pm 78$  mg/dl pre-trattamento a  $87 \pm 58$  mg/dl,  $p < 0.005$ ), mentre non si sono evidenziate differenze statisticamente significative tra i livelli di LDL-C a 2 mesi, 6 e 12 mesi (rispettivamente  $87,4 \pm 73$  e  $98 \pm 74$  mg/dl) ( $p = ns$ ). Risultati sovrapponibili si sono ottenuti per i livelli di colesterolo non-HDL:  $224 \pm 82$  mg/dl pre-trattamento vs  $107 \pm 71$  mg/dL a 2 mesi ( $p < 0,005$  vs basale) e  $113 \pm 73$  dopo 12 mesi ( $p < 0,005$  vs basale). È stata osservata una riduzione significativa della trigliceridemia a due mesi (basale,  $131 \pm 48$  mg/dL, 2 mesi  $99 \pm 25$  mg/dL  $p < 0,005$ ) e a 6 mesi ( $99,7 \pm 34$  mg/dL,  $p = 0,023$ ), mentre a 12 mesi ( $109 \pm 39$  mg/dL,  $p = ns$ ) la differenza non raggiungeva la significatività statistica.

Non si sono osservate variazioni significative dei livelli di HDL-C prima e dopo l'introduzione in terapia degli anti-PCSK9:  $48 \pm 10$  mg/dL al basale vs  $47 \pm 9$  mg/dL a 2 mesi ( $p = ns$ ),  $48,0 \pm 9,5$  mg/dL a 6 mesi ( $p = ns$ ) e  $51 \pm 8$  mg/dL a 12 mesi ( $p = ns$ ). Il rapporto colesterolo totale/HDL-C si è ridotto da  $5,9 \pm 1,9$  pre-trattamento a  $3,29 \pm 1,3$  a 2 mesi e  $3,23 \pm 1,3$  ad un anno ( $p < 0.000$  vs basale).

L'LDL-C basale nel gruppo di soggetti intolleranti alle statine (n=10) era di  $187,1 \pm 74$  mg/dL e  $199,8 \pm 81$  mg/dL nei soggetti in

terapia con statine (n=17) ( $p = ns$ ). Dopo 2 mesi di terapia i valori di LDL-C si sono ridotti a  $100,6 \pm 54$  mg/dL negli intolleranti (46,2%) e a  $79 \pm 60$  mg/dL (-60,4%) nei soggetti che assumevano statina,, riduzione statisticamente non differente tra i due gruppi ( $p = ns$ ). Infine, non si sono riscontrati effetti collaterali di rilievo in termini di reazioni locali né di reazioni sistemiche.

**Conclusioni.** I dati ottenuti in questa coorte confermano l'efficacia degli inibitori di PCSK9 sulla riduzione dei valori di colesterolo LDL e non-HDL. Si è osservata una riduzione di circa il 30% dei trigliceridi, anche se il dato va confermato su un maggior numero di soggetti seguiti per più tempo. La riduzione dei livelli di LDL-C con inibitori di PCSK9 è sovrapponibile sia nei soggetti in trattamento con statina ed ezetimibe sia nei soggetti intolleranti alle statine che assumono solo ezetimibe

L'effetto massimale viene raggiunto già dopo due mesi di terapia e rimane stabile nel tempo con un effetto plateau. Nella popolazione esaminata, 85% dei soggetti hanno ottenuto valori di LDL-C a target, risultato difficilmente raggiungibile fino a pochi mesi fa. Sono da sottolineare la stabilità dei valori di HDL-C nonostante la marcata riduzione dei valori di colesterolo totale e la conseguente e rilevante riduzione del rapporto colesterolo totale/HDL-C. L'assenza di effetti collaterali di rilievo depone a favore della sicurezza del trattamento con anticorpi anti-PCSK9.

## INTOLLERANZA ALLE STATINE, I DATI DELLO STUDIO PROSISA: L'ESPERIENZA DEL CENTRO DISLIPIDEMIE GENOVESE

C. Orlando<sup>1</sup>, G. Bruzzone<sup>1</sup>, A. Pasta<sup>1</sup>, A.L. Cremonini<sup>2</sup>, F. Dallegrì<sup>1</sup>, L. Pisciotta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Genova-Ospedale Policlinico San Martino;

<sup>2</sup>Università degli Studi di Parma

**Background.** Nella pratica clinica, la terapia con statine presenta alcuni limiti tra cui la scarsa aderenza al trattamento. Una delle cause è l'intolleranza soggettiva, riferita prevalentemente a livello muscolo-scheletrico. Lo studio PROSISA (studio di coorte osservazionale, non interventistico, retrospettivo) ha l'obiettivo di stabilire la prevalenza di intolleranza muscolare alle statine in pazienti affetti da dislipidemia afferenti ai centri lipidologici SISA. Obiettivi secondari sono: caratterizzare il fenotipo biochimico del paziente intollerante, valutare i possibili fattori di rischio coinvolti nell'insorgenza della sintomatologia e creare un database nazionale di pazienti dislipidemici intolleranti alle statine. Si riporta l'esperienza del Centro Dislipidemie dell'Ospedale Policlinico San Martino di Genova.

**Pazienti e metodi.** I soggetti rispondenti ai criteri di inclusione (età > 18 anni, presenza di dislipidemia in terapia con almeno una statina) sono stati sottoposti a una valutazione dei dati demografici, anamnestici, biochimici: per coloro che tollerano la statina non sono previste altre valutazioni. I pazienti che lamentano sintomatologia muscolare o a cui vengono rilevate alterazioni del CPK vengono sottoposti a "dechallenge" e "rechallenge" con una seconda statina a diverso dosaggio, eventualmente associata a ezetimibe e/o nutraceutici e rivalutati dal punto di vista clinico e biochimico.

**Risultati.** Sono stati arruolati 455 pazienti di cui il 4,8% ha manifestato sintomatologia muscolare durante terapia ipolipemizzante di prima linea con statina. La maggior parte dei pazienti sintomatici lamentava mialgie, fatica o crampi, mentre non ci sono stati casi di miosite o rabdomioli. Nella maggioranza dei casi alla sospensione della terapia conseguiva la scomparsa dei sintomi muscolari. Al "rechallenge", la terapia di seconda linea non è stata seguita da ricomparsa della sintomatologia muscolare nel 77,3% dei casi e soltanto nel 22,7% dei pazienti si è riconfermata l'intolleranza muscolare. Pertanto l'intolleranza alle statine è stata confermata nell'1% dei pazienti. Dall'analisi del profilo lipidico si è osservato che la terapia di seconda linea proposta al "rechallenge" è risultata efficace quanto la terapia standard nel raggiungere il target lipidico.

**Conclusioni.** I nostri risultati, con i limiti della numerosità del campione ed il tempo di osservazione breve previsto dal protocollo, dimostrano che le statine sono farmaci sicuri ed efficaci e la diagnosi di intolleranza deve basarsi su un'attenta valutazione clinico-anamnestica e laboratoristica che non sempre è immediata. Sostituendo la terapia iniziale con una statina diversa o a diverso dosaggio eventualmente associata ad altri ipolipemizzanti, è possibile nella maggior parte dei casi proseguire il trattamento, consentendo una maggiore adesione alla terapia e mantenendo costante, di fatto, la percentuale di pazienti che raggiungono il target raccomandato di LDL-C.

## VALUTAZIONE DELL'EFFETTO DELLA PRESENZA DI VARIANTI GENETICHE COMUNI DEI GENI LPL, LIPA E GCKR SUL FENOTIPO BIOCHIMICO DI PAZIENTI AFFETTI DA SINDROME METABOLICA IN TERAPIA DIETETICA

A. Pasta<sup>1</sup>, M.R. Ferrando<sup>1</sup>, C. Salve<sup>1</sup>, I. Pace<sup>1</sup>, R. Fresa<sup>1</sup>, N. Artom<sup>2</sup>, A. Pende<sup>1</sup>, L. Pisciotta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova;

<sup>2</sup>Ospedale San Paolo, ASL 2 savonese

**Introduzione ed obiettivi dello studio.** La sindrome metabolica, denominata anche "sindrome da insulino-resistenza", è una condizione clinica caratterizzata da diversi fattori di rischio (obesità centrale, dislipidemia aterogena, iperglicemia a digiuno, ipertensione arteriosa) che predispongono il paziente a sviluppare diabete mellito, aterosclerosi e cardiopatia ischemica, incrementando il rischio di mortalità cardiovascolare. Alcune varianti genetiche comuni di geni modulanti il metabolismo lipidico e glucidico (LPL, GCKR, LIPA) possono influenzare il fenotipo clinico e biochimico determinando dislipidemia o iperglicemia. Obiettivi dello studio sono: valutare gli effetti di una dieta mediterranea ipocalorica eseguita per 6 mesi in una coorte di pazienti affetti da sindrome metabolica in relazione alla presenza dell'allele raro dei seguenti polimorfismi genetici: c.46 A>C p.T16P del gene LIPA, che codifica per l'enzima Lipasi Acida Lisosomiale (LAL) responsabile dell'idrolisi degli esteri del colesterolo e dei trigliceridi a livello lisosomiale; c.1337 T>C p.P446L del gene GCKR che codifica per la glucocinasi regulatory protein (GKRP) inibente l'enzima glucochinasi responsabile della sintesi di glicogeno; c.953 A>G p.N291S del gene LPL che codifica per la lipoproteinlipasi che idrolizza i trigliceridi delle lipoproteine plasmatiche in acidi grassi liberi e glicerolo.

**Pazienti e metodi.** Sono stati selezionati 154 pazienti affetti da sindrome metabolica diagnosticata secondo i criteri ATP III (NECP-I). E' stata proposta a tutti i pazienti una dieta mediterranea ipocalorica (2100 Kcal per gli uomini e 1700 kcal per le donne) per 6 mesi. Al basale ed al follow-up sono stati valutati peso, circonferenza vita, pressione arteriosa, colesterolo totale, HDL-C, LDL-C, trigliceridemia, glicemia e HbA1c. I polimorfismi genetici sono stati studiati da DNA estratto da leucociti con metodica RFLP.

**Risultati.** La dieta mediterranea si è rivelata efficace nel migliorare tutti i parametri clinici (peso circonferenza vita, pressione arteriosa) e biochimici (profilo lipidico ed emoglobina glicata) dei pazienti. La presenza dell'allele raro (genotipo AC+CC) del polimorfismo del gene LIPA determina persistenza di livelli di trigliceridi significativamente più elevati dopo dieta. Il polimorfismo del gene GCKR (genotipo CC) determina un livello di HbA1c significativamente più elevato al basale che non migliora in risposta alla dieta. Infine il polimorfismo p. N291S del gene LPL (genotipo AG) dimostra di influire significativamente sull'incremento dei livelli di trigliceridi che, in risposta alla dieta, si riducono proporzionalmente di più nei portatori rispetto ai non portatori dell'allele G.

**Conclusioni.** Varianti genetiche comuni dei geni modulanti il profilo lipidico o il metabolismo glucidico influenzano il fenotipo biochimico e sono in grado di modulare la risposta clinica alla terapia dietetica.