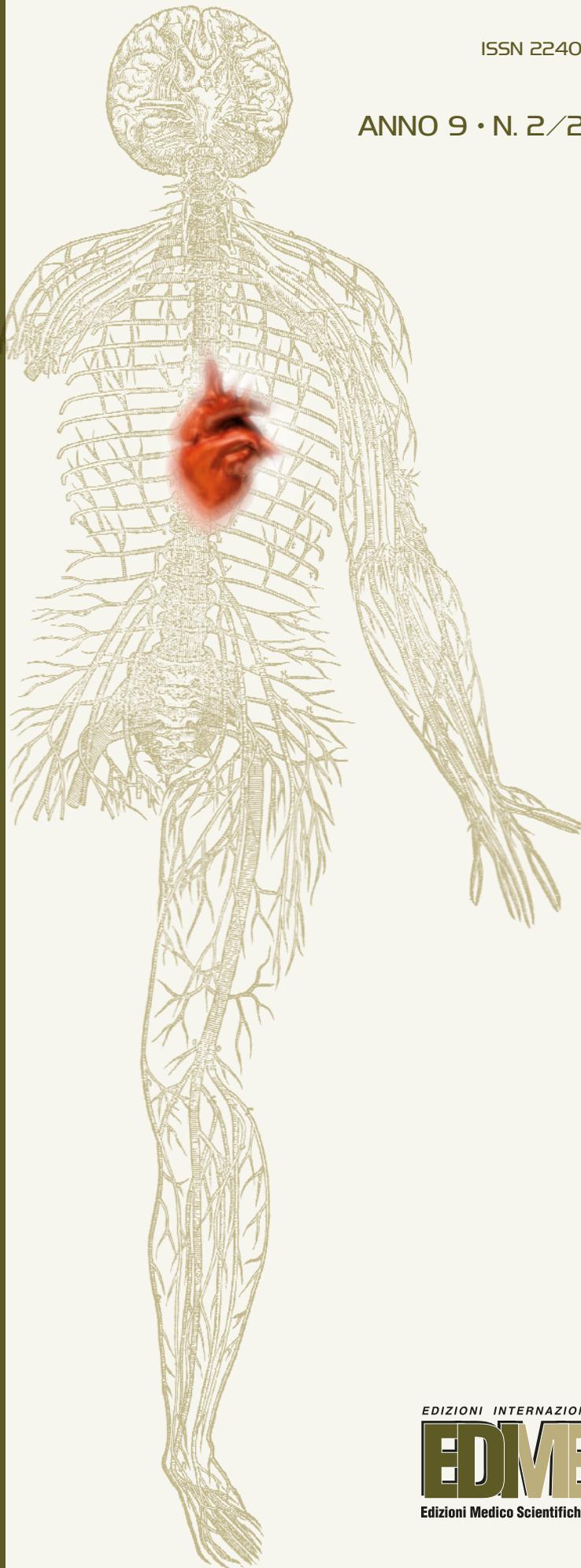


# GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI

ISSN 2240-4821

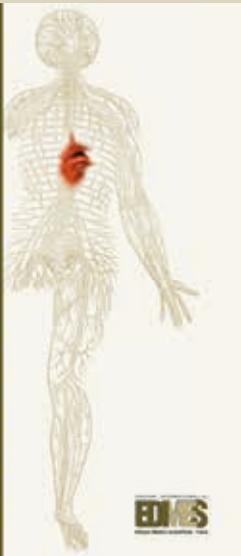
ANNO 9 • N. 2/2018



EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

**EDMES**

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia



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

**Direttori emeriti**

A. Ventura  
G.F. Salvioli  
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

### ■ METABOLISMO

**Pancreas endocrino e metabolismo del colesterolo ..... 5**  
**Endocrine pancreas and cholesterol metabolism**  
*Alessandra Galli, Eliana Sara Di Cairano, Carla Perego*

### ■ TERAPIA

**Effetti Del Sesso sulla Risposta Alle Statine ..... 20**  
**Sex Effects On Statin Therapy**  
*Valeria Raparelli, Giulio F. Romiti, Giuseppe Santangelo, Marco Vano,  
Verdiana Santori, Giacomo Visioli, Marco Borgi, Fabrizio Recchia,  
Valeria Spugnardi, Nicolò Sperduti, Stefania Basili*

**Strategie di silenziamento genico nel trattamento  
delle dislipidemie ..... 34**  
**Gene silencing strategies in the treatment of dyslipidemias**  
*Angela Pirillo, Alberico Luigi Catapano, Giuseppe Danilo Norata*

### ■ EPIDEMIOLOGIA

**Ambiente e stile di vita: una joint-venture  
per la prevenzione delle malattie cardiovascolari..... 47**  
**Environment and lifestyle: a joint venture  
for the prevention of cardiovascular diseases**  
*Salvatore Panico, Amalia Mattiello*

### ■ MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ

**Dalla fragilità alla longevità nelle cure di lungo termine  
nella società moderna: paure, speranze, certezze..... 58**  
**From fragility to longevity in long-term care:  
fears, hopes, certainties**  
*Paolo Da Col*

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)  
Tiziana Sampietro (Toscana)  
Nadia Citroni (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

## ■ **Colesterolo e $\beta$ -cellula**

### **Pancreas endocrino e metabolismo del colesterolo**

La conoscenza degli specifici meccanismi molecolari responsabili del metabolismo e della tossicità del colesterolo nella cellula beta-pancreatica rappresenta un fondamentale obiettivo della ricerca sperimentale per identificare nuovi target di intervento farmacologico.

## ■ **Medicina di genere**

### **Effetti del sesso sulla risposta alle statine**

Il sesso è uno dei fattori in grado di influenzare la farmacodinamica e la farmacocinetica delle statine; vengono presentati i loro effetti differenti nelle donne e negli uomini e le raccomandazioni, specifiche per sesso, delle linee guida internazionali.

## ■ **Nuovi approcci terapeutici**

### **Strategie di silenziamento genico nella terapia**

Il meccanismo fisiologico di silenziamento genico è stato traslato in ambito farmacologico

per sviluppare una tecnologia basata sia su oligonucleotidi antisenso, che su piccoli RNA a doppio filamento in grado di inibire l'espressione di specifici geni coinvolti nel metabolismo lipidico.

## ■ **Fattori emergenti di malattia**

### **Ambiente e stile di vita per la prevenzione delle malattie cardiovascolari**

Gli inquinanti ambientali, come i particolati, sono causa di infarto del miocardico, ictus cerebrale e di aggravamento dello scompenso cardiaco; ne consegue la necessità di connettere gli interventi preventivi alle conseguenze ambientali di uno stile di vita non corretto.

## ■ **Medicina scienza e società**

**Dalla fragilità alla longevità nelle cure di lungo termine: paure, speranze, certezze**  
Potenziare le cure di lungo termine per offrire più certezze di vita meno difficile alle persone fragili proiettate verso la longevità.



**METABOLISMO**

# PANCREAS ENDOCRINO E METABOLISMO DEL COLESTEROLO

## Endocrine pancreas and cholesterol metabolism

**ALESSANDRA GALLI, ELIANA SARA DI CAIRANO, CARLA PEREGO***Lab di Fisiologia cellulare e molecolare, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano***SUMMARY**

Type 2 diabetes includes a complex of heterogeneous metabolic disorders characterized by a lack of insulin secretion accompanied by insulin resistance. Dyslipidemia is often associated with both progressive beta-cell dysfunction and increased risk of cardiovascular complications. The latter are the main cause of mortality in diabetic subjects. Studies carried out in recent years support a key role of cholesterol not only in the development of cardiovascular complications, but also directly in the control of beta-pancreatic function, which is fundamental for ensuring insulin secretion and glycemic homeostasis. Pancreatic beta-cells are sensitive to changes in cholesterol and have developed a complex system to control their intracellular concentration. After a brief introduction on the endocrine pancreas and the molecular mechanisms that underlie the control of insulin secretion, the review examines the metabolism of cholesterol in the pancreatic beta-cell and analyzes the impact of this lipid on the function and dysfunction of this cell. Finally, in the last part, the evidence linking cholesterol metabolism, beta-pancreatic function and glucose metabolism in humans are analyzed. Knowledge of the specific molecular mechanisms of cholesterol metabolism and toxicity in the pancreatic beta-cell is a fundamental objective of the experimental research and may lead to the identification of new targets for pharmacological intervention for the treatment of diabetes and its complications, possibly even more effective and safe than those now available.

**Keywords:** *Endocrine pancreas, insulin, cholesterol, LDLR, PCSK9.*

**Introduzione**

Il diabete di tipo 2 (DMT2), comprende un complesso gruppo di disordini metabolici eterogenei caratterizzati da un deficit di secrezione di insulina accompagnato da insulino-resistenza. L'eziologia del diabete è multifattoriale e dipende sia da fattori genetici sia da fattori ambien-

*Indirizzo per la corrispondenza*

Prof.ssa Carla Perego  
Lab di Fisiologia cellulare e molecolare  
Dipartimento di Scienze Farmacologiche  
e Biomolecolari,  
Università degli Studi di Milano  
Via Trentacoste, 2 - 20134 Milano

### Elenco degli argomenti trattati

- Tre meccanismi assicurano l'omeostasi del colesterolo nella cellula beta-pancreatica: la produzione endogena promossa dalla HMG-CoA-reduttasi, il trasporto intracellulare mediato da recettori delle lipoproteine tra cui il più importante è l'LDLR, l'efflusso di colesterolo mediato da trasportatori della famiglia ABC.
- Il colesterolo nella cellula beta-pancreatica partecipa all'organizzazione strutturale e funzionale dell'apparato secretorio beta-cellulare.
- L'esposizione cronica ad alti livelli di colesterolo-LDL causa disfunzione e apoptosi beta-cellulare.
- I meccanismi molecolari di tossicità sono molteplici e comprendono alterazione del metabolismo lipidico e della trascrizione genica, alterazioni strutturali delle membrane biologiche, disfunzione mitocondriale e induzione di risposte cellulari allo stress quali stress del reticolo endoplasmatico, stress ossidativo.
- Nell'uomo, gli studi di condizioni genetiche o acquisite in cui il metabolismo del colesterolo risulta essere alterato confermano il ruolo chiave dell'LDLR e del colesterolo nella funzione beta-pancreatica e nel controllo del metabolismo glucidico.

tali. Il diabete si accompagna spesso a dislipidemia che in questi pazienti si caratterizza per un aumento dei trigliceridi, delle lipoproteine plasmatiche a bassissima densità (VLDL) e a bassa densità (LDL) e per la riduzione delle lipoproteine ad alta densità (HDL) (1). L'anomalo metabolismo lipidico contribuisce alla disfunzione beta-pancreatica ed è alla base dell'aumentato rischio di aterosclerosi e danno cardiovascolare, complicanze che rappresentano la principale causa di morbidità e mortalità nei diabetici.

Studi condotti in questi anni supportano un ruolo chiave delle LDL e del colesterolo nell'eziologia dell'aterosclerosi e della malattia coronarica. Poiché l'abbassamento di colesterolo-LDL riduce il rischio di morte cardiovascolare, le linee guida europee per la gestione delle dislipidemie raccomandano di mantenere i livel-

li di LDL-colesterolo al di sotto del valore di 100 mg/dL nei soggetti diabetici senza eventi cardiovascolari (2).

Le cellule beta-pancreatiche, fondamentali per garantire la secrezione di insulina e l'omeostasi glicemica, sono però sensibili alle variazioni di colesterolo ed hanno sviluppato un complesso sistema per controllarne omeostaticamente le concentrazioni intracellulari, dato che il loro funzionamento dipende dalla presenza del lipide ma un eccesso ne provoca la disfunzione e morte (3, 4).

Pertanto lo sviluppo di qualsiasi strategia terapeutica non può prescindere dalla conoscenza del loro effetto sul metabolismo del colesterolo in queste cellule.

### Il pancreas endocrino

Le cellule beta costituiscono circa il 60% (70-80% nel topo) delle cellule endocrine del pancreas e sono uniche nel corpo umano per la capacità di produrre l'ormone insulina, un importante ormone ad azione ipoglicemizzante e glicogenosintetica. Si trovano organizzate in piccoli clusters di cellule, insieme ad altre cellule a funzione endocrina, a formare le isole di Langerhans e sono strettamente associate al sistema circolatorio, all'interno del quale rilasciano l'ormone prodotto. Ogni isola del Langerhans può essere considerata un piccolo organo endocrino in miniatura perché contiene tutte e cinque i tipi cellulari responsabili della sintesi e secrezione dei diversi ormoni implicati nel controllo glucidico. Infatti oltre alle cellule beta, sono presenti le cellule alfa, che costituiscono circa il 30-40% delle cellule totali, e sintetizzano l'ormone glucagone, un peptide ad azione glicogenolitica e iperglicemizzante. Le cellule delta rappresentano circa il 10% delle cellule endocrine pancreatiche e producono somatostatina, un ormone con

un'importante funzione di modulazione della secrezione di glucagone e insulina nel pancreas. Le cellule PP, molto rare, costituiscono l'1-2% delle cellule totali e producono il polipeptide pancreatico, un ormone coinvolto soprattutto nella regolazione dell'appetito; infine, vi sono le cellule epsilon che costituiscono meno dell'1% del totale nell'adulto e sono deputate alla secrezione di grelina, un ormone coinvolto nella regolazione del senso della fame e nel bilancio energetico.

Cellule macrofagiche, terminazioni del sistema nervoso autonomo e cellule endoteliali sono strettamente associate alle cellule endocrine insulari e partecipano ai complessi meccanismi di regolazione della funzionalità dell'isola.

Le cellule endocrine giocano un ruolo fondamentale nella regolazione della glicemia e una qualsiasi alterazione dei complessi sistemi di regolazione della loro secrezione e/o della loro massa può essere responsabile dell'insorgenza di diversi disturbi metabolici, tra i quali il più importante è il diabete mellito.

Per quanto diversi nei meccanismi patofisiologici, gli studi recenti hanno messo in evidenza come la progressiva disfunzione e morte beta cellulare rappresenti una componente fondamentale nello sviluppo e progressione delle diverse forme di diabete (5, 6). Pertanto la maggior parte degli studi si è concentrata su questa sottopopolazione pancreatica con l'obiettivo di identificare e sviluppare nuove strategie terapeutiche mirate a ripristinare la funzionalità e vitalità beta cellulare.

### **Cellule beta-pancreatiche e secrezione di insulina**

La secrezione di insulina, mediata dalle cellule beta-pancreatiche, è un processo finemente regolato per poter assicurare

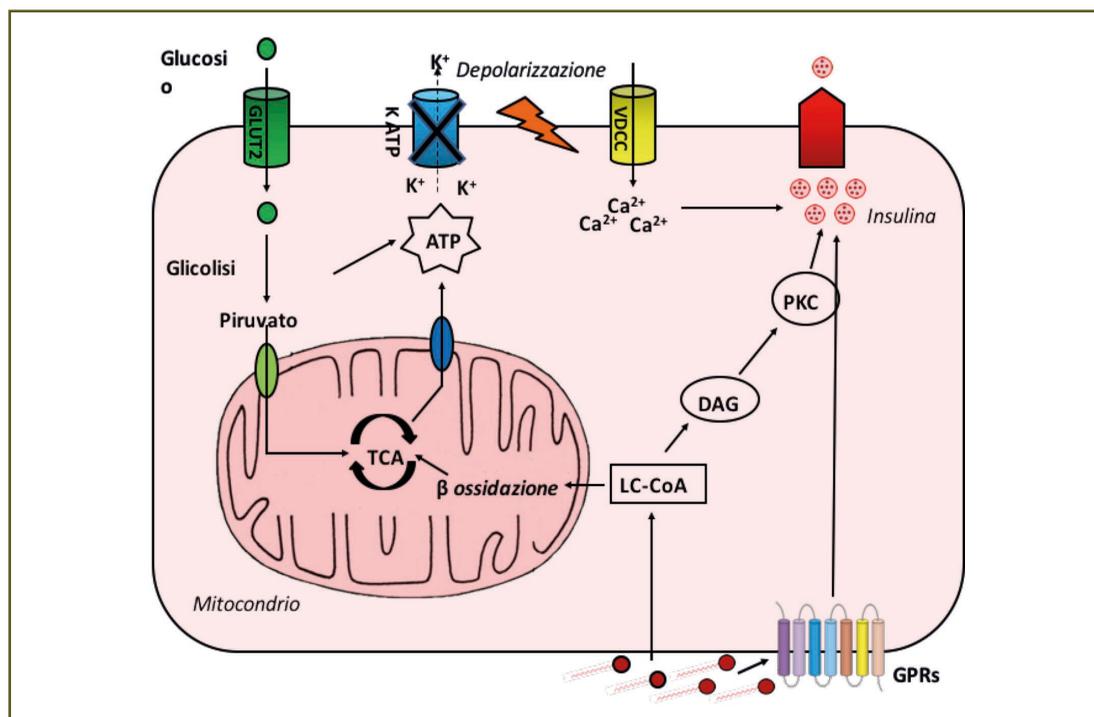
concentrazioni costanti di glucosio plasmatico sia durante il digiuno sia dopo i pasti (*Figura 1*). Tale secrezione è principalmente regolata dalla concentrazione ematica di glucosio (rilascio di insulina indotto da glucosio o GSIS) e si articola in due fasi distinte: una iniziale, molto rapida e una secondaria, prolungata nel tempo.

La fase iniziale si innesca rapidamente quando le concentrazioni ematiche di glucosio superano i 100 mg/dL. In queste condizioni il glucosio viene internalizzato nelle cellule  $\beta$  tramite il trasportatore GLUT2 (topo) o GLUT1 (uomo), fosforilato dalla glucochinasi e avviato verso la glicolisi. Sia il trasportatore sia la glucochinasi hanno bassa affinità per il glucosio, pertanto rappresentano i veri "sensori" del glucosio in quanto assicurano l'attivazione delle complesse vie metaboliche intracellulari solo quando la concentrazione ematica del glucosio diventa importante. Il piruvato che deriva dalla glicolisi, entra nel mitocondrio ed attraverso il ciclo degli acidi tricarbossilici provoca un aumento dei livelli di ATP intracellulari. La variazione di ATP determina la chiusura dei canali del  $K^+$  ATP-dipendenti con conseguente depolarizzazione della cellula ed apertura dei canali del  $Ca^{2+}$  voltaggio-dipendenti; l'ingresso dello ione  $Ca^{2+}$  rappresenta il segnale di rilascio del pool di granuli di insulina collocati in prossimità della membrana plasmatica (7). La prima fase dura circa 10 minuti ed è importante per raggiungere una concentrazione ematica ottimale di insulina e per inibire la produzione epatica del glucosio. Essa riflette l'abilità delle cellule beta-pancreatiche funzionali di rispondere rapidamente alla variazione delle concentrazioni ematiche di glucosio. Alterazioni nella prima fase di secrezione dell'insulina rappresentano il primo segno di disfunzione nelle cellule beta in pazienti affetti da DMT2.

La seconda fase potenzia gli effetti del  $\text{Ca}^{2+}$  e agisce su un secondo pool di granuli di insulina definito di “pronto rilascio”. Essa può diventare quantitativamente molto importante, dato che può essere mantenuta per diverse ore se i livelli di glucosio nel sangue rimangono elevati (8). Questa fase è anch’essa dipendente dall’aumento delle concentrazioni di glucosio ematico, non sfrutta i canali del potassio ATP-dipendenti, mentre sembra dipendere da molecole “segnale” generate dal metabolismo. Diversi gli intermedi metabolici a funzione segnale proposti per spiegare la seconda fase di secrezione di insulina, tra questi l’acetil-CoA,

l’ATP, il NADPH e l’ $\alpha$ -chetoglutarato/glutammato (9).

Non soltanto il glucosio ma anche diversi substrati quali amminoacidi, acidi grassi e segnali paracrini rilasciati dalle cellule dell’isola possono stimolare la secrezione di insulina utilizzando meccanismi alternativi (10). Particolarmente interessante e inerente allo scopo della review è l’attivazione della secrezione insulinica da parte degli acidi grassi. Per lungo tempo si è pensato che questo effetto fosse indiretto e dovuto all’accumulo citosolico di acidi grassi, la loro trasformazione a acetil-CoA e la conseguente attivazione del metabolismo lipidico. È chiaro ora che gli acidi



**Figura 1** - Meccanismi molecolari della secrezione di insulina nella cellula beta-pancreatica. La secrezione di insulina è principalmente promossa dall’aumento di glucosio ematico e comporta il trasporto del glucosio all’interno della cellula, la sua metabolizzazione attraverso la glicolisi e il ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA). Il risultante aumento della concentrazione di ATP è il segnale che induce la depolarizzazione della membrana plasmatica e l’aumento locale di  $\text{Ca}^{2+}$  necessario per l’esocitosi dei granuli di insulina. La secrezione mediata da acidi grassi è promossa dall’attivazione di recettori accoppiati a G-proteine (GPRs) o da variazioni del metabolismo degli acidi grassi che modificano le correnti di  $\text{Ca}^{2+}$ . KATP canali del  $\text{K}^{+}$  ATP-dipendenti; VDCC canali del  $\text{Ca}^{2+}$  voltaggio-dipendenti; DAG diacilglicerolo, LC-CoA (long-chain acyl Coenzima-A).

grassi possono agire anche come molecole segnale extracellulari attivando direttamente specifici recettori di membrana accoppiati a proteine G (GPR) (11). Tre sono i recettori per acidi grassi a catena lunga fino ad ora identificati in cellule beta pancreatiche: GPR40, GPR119 e GPR120. Il più caratterizzato è GPR40, un recettore a 7 domini transmembrana per acidi grassi (saturi, mono o poli insaturi) a catena lunga (C10-C23). Il legame con gli acidi grassi attiva vie di trasduzione del segnale che causano un incremento delle correnti di calcio e potenziano il rilascio di insulina. Proprio per questo motivo i recettori per acidi grassi rappresentano tuttora interessanti bersagli per lo sviluppo di farmaci ad azione secretagoga, utili nel trattamento del diabete di tipo 2 (12).

### **Colesterolo e Funzionalità beta pancreatiche**

Come per tutte le cellule dell'organismo, anche nella cellula beta pancreatica il colesterolo ha un importante ruolo strutturale. Partecipa alla formazione della membrana plasmatica della quale controlla la fluidità e la permeabilità. È particolarmente arricchito nel trans-Golgi dove svolge un ruolo importante nel processo di formazione, maturazione e traffico dei granuli contenenti insulina (13).

Il colesterolo modifica la sensibilità della cellula beta pancreatica al glucosio, controllando l'attività del trasportatore GLUT1 e della glucochinasi. Infatti, il colesterolo e l'ossido nitrico sintetasi sequestrano l'enzima sulla membrana dei granuli di insulina nella forma inattiva, limitando così la sua disponibilità e il suo coinvolgimento nei processi di glicolisi (14).

Il colesterolo controlla indirettamente anche i processi di secrezione di insulina. Infatti, insieme agli sfingolipidi, è coinvol-

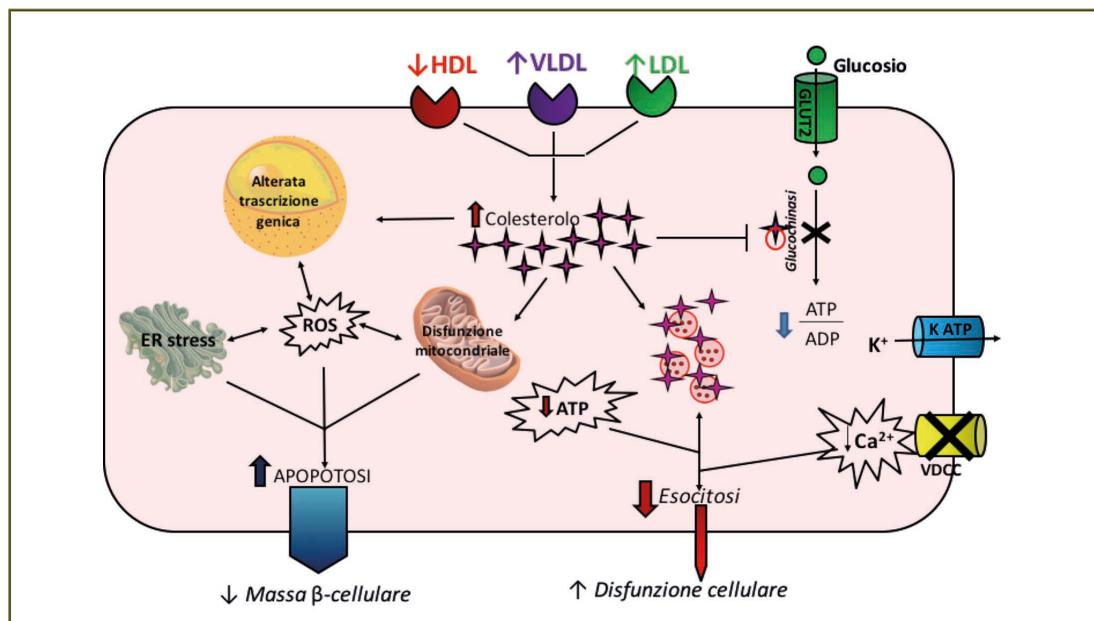
to nella formazione dei microdomini di membrana o "rafts" arricchiti in proteine fondamentali per consentire i processi di fusione dei granuli con la membrana plasmatica. È in questi microdomini infatti che si accumulano la syntaxina e SNAP25, le proteine t-SNAREs (soluble N-ethylmaleimide-sensitive NSF-attachment protein receptor) che mediano il processo di fusione delle vescicole con la membrana plasmatica. Sempre nei rafts sono contenute le proteine chiave per i processi di secrezione regolata da nutrienti, quali i canali del  $K^+$  ATP-dipendenti e i canali del  $Ca^{2+}$  voltaggio-dipendenti (15). Una deplezione di colesterolo maggiore del 50% comporta una riduzione importante della secrezione di insulina, molto probabilmente alterando le correnti di  $Ca^{2+}$  (16).

Infine il colesterolo è un importante precursore della vitamina D e degli acidi biliari e gli studi degli ultimi anni hanno messo in evidenza come entrambe queste molecole promuovono la secrezione insulinica.

### **Danno a carico delle cellule beta pancreatiche indotto dalle lipoproteine plasmatiche e dal colesterolo**

Se da una parte è fondamentale mantenere una concentrazione basale di colesterolo per il corretto funzionamento della cellula beta pancreatica, è altrettanto noto che l'esposizione a elevati e cronici livelli di colesterolo provoca la progressiva disfunzione e morte della cellula beta pancreatica. Gli effetti possono essere, a seconda dei meccanismi, a breve e a lungo termine (3, 17) (*Figura 2*).

L'esposizione ad elevati livelli di colesterolo altera la secrezione insulinica stimolata da glucosio modificando in primo luogo la capacità della cellula di sentire le variazioni di glucosio ematiche. Infat-



**Figura 2** - Meccanismi molecolari alla base del danno lipotossico indotto dal colesterolo nella cellula beta-pancreatica. L'esposizione a livelli elevati di colesterolo causa diminuzione della secrezione di insulina (parte destra) e della massa beta-cellulare (parte sinistra), due fattori che contribuiscono allo sviluppo di DMT2. I meccanismi molecolari coinvolti nei difetti di secrezione sono: la variazione dell'attività della glucochinasi, le alterazioni morfologiche dei granuli di insulina e la modulazione della densità di membrana e dell'attività dei canali ionici del  $K^+$  ATP-dipendenti (KATP) e del  $Ca^{2+}$  voltaggio-dipendenti (VDCC). I meccanismi intracellulari coinvolti nell'apoptosi comprendono alterazioni nel metabolismo lipidico e nella trascrizione genica, alterazione della permeabilità e fluidità delle diverse membrane cellulari, stress a livello del reticolo endoplasmatico (ER), disfunzione mitocondriale e stress ossidativo.

ti, il colesterolo aumenta la proporzione dell'enzima glucochinasi legata alle membrane dei granuli nella sua forma inattiva, alterando il processo glicolitico e conseguentemente la sintesi di ATP (14).

Il colesterolo può agire anche sui meccanismi distali dell'esocitosi di insulina, modificando la localizzazione e l'attività dei canali ionici del  $K^+$ -ATP dipendenti e del  $Ca^{2+}$  necessari per la fusione delle vescicole (15). Infine, un eccesso di colesterolo modifica la morfologia dei granuli di insulina alterandone la maturazione e i processi di fusione con la membrana plasmatica (13).

Croniche esposizioni a colesterolo determinano anche una riduzione della

massa beta cellulare mediante aumento dell'apoptosi, dedifferenziamento beta-cellulare e diminuzione della proliferazione. I meccanismi implicati in questo processo sono l'alterato metabolismo lipidico, un aumento dei processi infiammatori nelle isole e risposte allo stress cellulare, come lo stress ossidativo mitocondriale e lo stress del reticolo endoplasmatico (18-20). In cellule beta di topo, per esempio, un eccesso di specie reattive dell'ossigeno (ROS), indotto dal colesterolo, porta all'attivazione della chinasi JNK, determinando una riduzione dell'attivazione di AKT (un importante segnale di sopravvivenza beta pancreatica) e un'aumentata espressione di geni pro-infiammatori e pro-apoptotici

(19). L'aumento dei ROS e le alterazioni strutturali delle membrane del reticolo indotte da un eccesso di colesterolo causano stress nel reticolo, l'accumulo di proteine non correttamente "foldate" e l'attivazione di una risposta di stress (unfolded protein response o UPR) che causa morte beta cellulare per apoptosi.

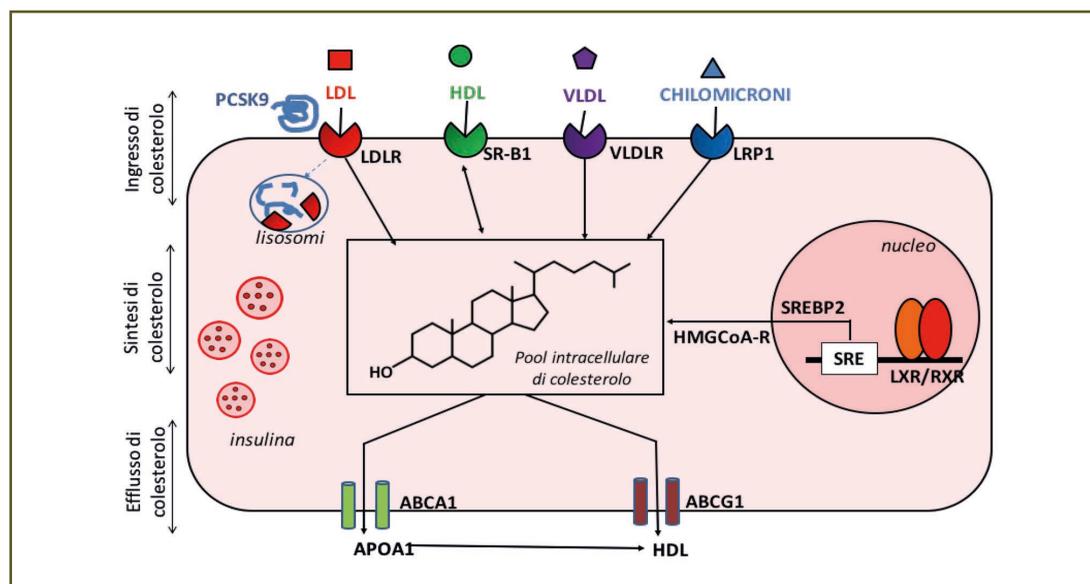
La perdita di identità beta-pancreatica (dedifferenziamento) è emersa recentemente come ulteriore meccanismo di perdita di massa funzionale beta-cellulare nel DMT2 (21). È un processo caratterizzato da una ridotta espressione di geni tipici delle cellule beta-pancreatiche e dalla contemporanea overespressione di geni solitamente espressi in cellule endocrine immature. Un eccesso di colesterolo sembra modificare questo processo perché controlla, in modo negativo, la trascrizione di PDX1 e BETA2, due fattori di trascrizione

fondamentali per conferire l'identità beta cellulare (22).

### Metabolismo del colesterolo nella cellula beta pancreatica

Poiché il colesterolo è essenziale per la normale funzione delle cellule beta-pancreatiche ma un suo eccesso causa alterazioni nella funzionalità e vitalità, la sua concentrazione deve essere finemente regolata. Tre sono i meccanismi utilizzati dalle cellule beta pancreatiche per mantenere l'omeostasi del colesterolo: sintesi *de novo* del colesterolo, captazione di colesterolo dalle lipoproteine plasmatiche ed efflusso del colesterolo (Figura 3 e Tabella 1).

1) *Biosintesi del colesterolo*. Le cellule beta pancreatiche sono in grado di sintetizzare colesterolo nel reticolo endoplasma-



**Figura 3 - Metabolismo del colesterolo nelle cellule beta pancreatiche.** La concentrazione intracellulare di colesterolo è finemente controllata da meccanismi di sintesi endogena innescati dalla HMGCoA riduttasi sotto controllo di SREBP2 (parte centrale dell'immagine), processi di trasporto verso l'interno della cellula mediati da recettori per lipoproteine (parte superiore dell'immagine) e meccanismi di efflusso mediati dai due trasportatori ABCA1 e ABCG1 (parte inferiore dell'immagine). Il ruolo di PCSK9 nella regolazione della degradazione dell'LDL è mostrato.

**Tabella 1 - Proteine coinvolte nel metabolismo del colesterolo e impatto di modifiche nella loro espressione sul metabolismo glucidico in modelli murini e nell'uomo.**

	<b>FUNZIONE</b>	<b>TOPO</b>	<b>UOMO</b>
<b>SREBP-2</b> (Sterol-responsive element-binding protein 2)	Fattore di trascrizione e importante regolatore della sintesi del colesterolo	Over-espressione di SREBP-2: riduzione dell'espressione di PDX1 e BETA2 con conseguente diminuzione della massa delle isole di Langerhans (22)	
<b>HMG-CoA reductase</b> (3-hydroxy-3-methylglutarylcoenzyme A reductase)	Enzima chiave nella sintesi del colesterolo		Mutazioni loss-of-function di HMG-CoA-R: aumentato rischio di DMT2 (35) L'inibizione dell'attività dell'enzima con statine aumenta il rischio di DMT2 (10)
<b>LDLR</b> (LDL receptor)	Recettore dell'LDL	LDLR knock-out: riduzione della clearance dei chilomicroni, della tolleranza al glucosio e della secrezione di insulina (24, 25)	Varianti LDLR loss-of-function: ipercolesterolemia MA diminuito rischio di DMT2 (36)
<b>LPR5</b> (LDL receptor-related protein 5)	Co-recettore nella via di trasduzione del segnale mediata da Wnt	LPR5 knock-out: riduzione della clearance dei chilomicroni, della tolleranza al glucosio e della secrezione di insulina (26)	Mutazioni gain-of-function di LPR5: riduzione della tolleranza al glucosio e alterazione del metabolismo glucidico (49)
<b>PCSK9</b> Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9	Regola l'espressione dell'LDLR modulandone la degradazione	PCSK9 knock-out: aumento espressione LDLR con conseguente accumulo di lipidi nell'isola, diminuita secrezione di insulina, glucosio intolleranza (30, 31)	Varianti loss-of-function: ridotti livelli di LDL plasmatico MA aumentato rischio di DMT2 Varianti gain-of-function: ipercolesterolemia MA ridotto rischio di DMT2 (35, 37, 38)
<b>ABCA1</b> (ATP-binding cassette transporter, subfamily A, member 1)	Trasportatore che media l'efflusso del colesterolo dalla cellula, consentendo la formazione di HDL in HDL. Necessita del cofattore ApoA1	ABCA1 knock-out: riduzione della tolleranza al glucosio e della secrezione di insulina (24)	Numerose varianti riscontrate in diversi gruppi etnici che predispongono allo sviluppo di DMT2: R230C (polimorfismo, loss-of-function) → riduzione del colesterolo HDL, aumento dell'indice di massa corporea (BMI) e aumentato rischio di DMT2 (25)
<b>ABCG1</b> (ATP-binding cassette transporter, subfamily G, member 1)	Trasportatore che media l'efflusso del colesterolo dalla cellula	ABCG1 knock-out: riduzione della secrezione di insulina per alterazione della morfologia dei granuli di insulina (32)	Metilazione a carico dei siti CpG di ABCG1: aumento dell'indice di massa corporea, dei livelli di trigliceridi e dei livelli di insulina a digiuno, aumento del rischio di sviluppare diabete mellito (50)
<b>LXR</b> (liver X receptor)	Recettore nucleare e attivatore trascrizionale di ABCA1	LXR $\beta$ knock-out: riduzione di espressione ABCA1 con conseguente accumulo di lipidi nell'isola, riduzione della tolleranza al glucosio e della secrezione di insulina (33). Topi transgenici con over-espressione di LXR: disfunzione e apoptosi $\beta$ cellulare (34)	

tico liscio a partire dal suo precursore, l'acetil coenzima A (acetil-CoA), attraverso una serie di reazioni enzimatiche, in cui l'idrossimetilglutaril-CoA riduttasi (HMG-CoA-R) agisce come enzima limitante. La trascrizione del gene per la riduttasi è modulata dalla disponibilità di colesterolo all'interno della cellula ed è sotto controllo del fattore di trascrizione sterol-responsive element binding protein 2 (SREBP-2). SREBP2 è normalmente presente nella forma inattiva legata alla proteina SCAP (SREBP cleavage-activating protein), che è il vero sensore degli steroli nella cellula. Quando si abbassa la concentrazione di colesterolo, la proteina SREBP si stacca dalla SCAP, e nella forma attiva trasloca nel nucleo dove lega le sequenze di regolazione degli steroli (SRE), presenti nel promotore della HMG-CoA-R. Diversi i geni controllati da SREBP2 e coinvolti nel controllo dell'identità beta cellulare e nel metabolismo del colesterolo tra questi il recettore dell'LDL e la proteina PCSK9. (Si veda dopo per la funzione di queste due proteine).

L'importanza di SREBP-2 nell'omeostasi del colesterolo e nel controllo della funzionalità beta cellulare è stata dimostrata da studi condotti su topi transgenici che over-esprimono tale proteina. I topi presentano ridotta secrezione di insulina e di massa beta cellulare e sviluppano diabete per un eccessivo accumulo di colesterolo nelle cellule beta pancreatiche (22).

2) *La captazione del colesterolo* legato alle lipoproteine plasmatiche rappresenta un altro meccanismo attraverso il quale la cellula beta pancreatica può accumulare colesterolo. Il flusso in ingresso di colesterolo nella cellula beta pancreatica è mediato da sistemi recettoriali che legano in modo selettivo e specifico le diverse lipoproteine plasmatiche. Diversi recettori per le lipoproteine plasmatiche sono espressi

nelle cellule beta-pancreatiche tra cui il recettore delle LDL (LDLR), il recettore delle VLDL (VLDLR), il recettore per LDL ossidate (CD36), le proteine correlate al recettore LDL (LRP1 specifica per chilomicroni e LRP5) e il recettore scavenger B1 (SR-B1) selettivo per le HDL (3).

La maggior parte degli studi si è concentrata sull'LDLR, selettivamente espresso nelle cellule beta-pancreatiche ma non nelle alfa-pancreatiche. Il legame con le LDL plasmatiche determina l'internalizzazione del complesso recettore-ligando e l'aumento del colesterolo intracellulare (23). Pertanto le condizioni sperimentali o farmacologiche che causano un'aumentata espressione di superficie di LDLR, determinano un sovraccarico di colesterolo nelle cellule, compromettendone la funzione. I dati *in vitro* sono corroborati dai modelli murini: l'accumulo di colesterolo nell'isola del Langerhans è notevolmente ridotto in topi knock out per LDLR (24, 25).

Un'altra proteina coinvolta nel metabolismo del colesterolo è LRP5 (proteina correlata al LDLR); l'importanza di questo co-recettore per la funzione beta pancreatica deriva ancora da studi su topi knock-out per LRP5, i quali mostrano riduzione della clearance dei chilomicroni a livello epatico, della secrezione di insulina e della tolleranza al glucosio (26).

L'emivita del LDLR ma anche di altri recettori per lipidi (CD36, VLDLR) in altri tessuti è controllata dalla proproteina plasmatica convertasi subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9) che, interagendo con il recettore, ne previene il riciclo e ne favorisce la degradazione (27). Recentemente è stato osservato che anche l'espressione dell'LDLR, e quindi il trasporto di colesterolo nelle cellule beta-pancreatiche, sono modulati da PCSK9 (28-30). Topi knock out per PCSK9, indipendentemente dalla dieta, presentano riduzione del colesterolo

lo plasmatico ma aumento del contenuto di colesterolo a livello dell'isola pancreatica come conseguenza di una maggiore espressione dell'LDLR nelle beta-cellule. Anche le isole del Langerhans sono alterate per dimensioni, per rilascio di insulina e per metabolismo lipidico (aumento dell'espressione dell'esterasi, diminuzione dell'espressione di ABCA1) (28, 30). I topi sviluppano glucosio-intolleranza che sembra essere il risultato di una insulino-insufficienza piuttosto che di una insulino-resistenza. È interessante notare che PCSK9 è espressa anche nelle isole del Langerhans dove localizza prevalentemente nelle cellule delta (31). Sembra proprio questa PCSK9 locale, e non quella epatica-circolante, maggiormente coinvolta nel controllo dell'espressione di LDLR nell'isola, dal momento che topi nei quali l'espressione di PCSK9 viene spenta nel solo fegato, presentano un livello di colesterolo circolante ridotto e un metabolismo glucidico intatto. Questo sistema paracrino ad azione locale potrebbe rappresentare un ulteriore meccanismo per controllare finemente il colesterolo e la funzionalità beta-pancreatica.

3) *Efflusso di colesterolo*. Qualora la concentrazione del colesterolo fosse elevata, la cellula beta pancreatica può controllare la concentrazione intracellulare di colesterolo promuovendo il suo efflusso. Il processo di eliminazione del colesterolo è mediato dal recettore SR-B1 (che quindi media sia l'ingresso sia l'efflusso di colesterolo) e da trasportatori appartenenti alla super-famiglia dei trasportatori ABC, proteine di membrana che mediano il trasporto attivo del colesterolo grazie all'idrolisi di ATP (3). Due sono i trasportatori di colesterolo individuati nella cellula pancreatica: i trasportatori ABCA1 e ABCG1 che consentono l'efflusso del colesterolo dalle cellule beta pancreatiche verso le lipoproteine della classe HDL. L'importan-

za di tali trasportatori è stata confermata da studi su topi knock-out per ABCA1 e ABCG1 che mostrano un aumentato accumulo di colesterolo nell'isola pancreatica e un'alterazione della secrezione di insulina (24, 32).

L'espressione dei geni ABCA1 e ABCG1 dipende dal contenuto intracellulare di colesterolo e/o di derivati ossidati del colesterolo (ossisteroli). Questi composti rappresentano ligandi-attivatori per un fattore di trascrizione denominato LXR (Liver-X-Receptor) il quale lavora come dimero con il fattore di trascrizione RXR (retinoic acid receptor). I topi knock-out per il gene LXR $\beta$  mostrano una riduzione dei livelli di mRNA codificante per ABCA1 con conseguente accumulo dei lipidi nell'isola, riduzione della tolleranza al glucosio e della secrezione di insulina (33). Viceversa l'attivazione di LXR $\beta$  causa un'aumentata espressione del trasportatore ABCA1 e una secrezione di insulina più efficiente (34).

A conferma del ruolo chiave del metabolismo del colesterolo nella funzionalità beta pancreatica, come mostrato nella tabella 1, lo spegnimento genico o l'overespressione di proteine coinvolte nel metabolismo del colesterolo nei modelli murini determina spesso insulino insufficienza e glucosio intolleranza.

### **Colesterolo e rischio metabolico: studi in uomo**

Gli studi degli ultimi anni hanno evidenziato importanti differenze morfologiche e funzionali tra isole di roditori e isole umane. Possiamo pertanto ritenere valide anche per l'uomo le osservazioni fatte sul metabolismo del colesterolo nelle linee beta-pancreatiche e nei modelli murini?

Linee di cellule beta umane e isole del Langerhans umane isolate esprimono tut-

te le proteine responsabili del metabolismo del colesterolo precedentemente descritte, compreso LDLR e, *in vitro*, sono anch'esse vulnerabili all'esposizione ad elevati e cronici livelli di colesterolo (23).

Studi epidemiologici confermano che la funzionalità beta-cellulare e la glucosio tolleranza sono modificate da alterazioni nei livelli plasmatici di lipoproteine, con importanti differenze tra le varie classi di lipoproteine. Infatti, un aumento di LDL o di VLDL induce disfunzione beta-cellulare, viceversa un aumento delle HDL, che funzionano nel trasporto inverso di colesterolo, risulta essere protettivo (19).

Gli studi di condizioni genetiche o acquisite in cui il metabolismo del colesterolo risulta essere alterato nell'uomo forniscono un'opportunità per esaminare l'impatto del colesterolo sul metabolismo glucidico e confermano un ruolo essenziale del trasporto in ingresso e in uscita del colesterolo per controllare la funzionalità beta-pancreatica. Infatti, polimorfismi che determinano una perdita di funzione (loss-of-function) di ABCA1, il trasportatore che media l'efflusso di colesterolo, sono significativamente associati allo sviluppo di DMT2 (25). Similmente, le varianti che comportano perdita di funzione della riduttasi HMGCoA e quindi limitano la biosintesi del colesterolo cellulare ma favoriscono l'assorbimento di colesterolo per aumentata espressione dell'LDLR, sono associate ad un maggior rischio di sviluppare DM (35).

Particolarmente interessanti sono i dati che derivano da pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare (FH) e sono associati ai geni che codificano per LDLR, per PCSK9. Le mutazioni/varianti geniche che comportano una perdita di funzione dell'LDLR sviluppano ipercolesterolemia per la mancata clearance di LDL-C a livello epatico, ma presentano un rischio ridotto

di DMT2 (36). Similmente, le mutazioni a carico di PCSK9 e associate a FH che comportano questa volta un guadagno di funzione di PCSK9 (gain-of-function in quanto aumentano la capacità della proteasi di degradare l'LDLR) sviluppano ipercolesterolemia ma sono associate ad un ridotto rischio di sviluppo di DMT2 (35, 37, 38). Nell'insieme, i dati emergenti da questi studi puntano l'attenzione sull'LDLR come proteina chiave per il controllo dei livelli del colesterolo e quindi della funzionalità beta-pancreatica nell'uomo. Infatti i casi di FH legati a LDLR e PCSK9 sono entrambi caratterizzati da una situazione in cui le concentrazioni plasmatiche di LDL-C sono elevate (per la mancata clearance epatica) ma le cellule beta pancreatiche sono protette dal sovraccarico di colesterolo per la mancata e/o ridotta espressione del loro recettore in superficie.

### **Farmaci che abbassano i livelli di colesterolo e rischio metabolico nell'uomo**

La riduzione di LDL-C rappresenta una strategia terapeutica efficace per gestire le complicanze diabetiche cardiovascolari legate al DMT2 (2). Diverse le strategie messe in atto in questi anni, ma due meritano particolare attenzione nel contesto di questa discussione.

Dagli anni '80, le statine rappresentano la terapia cardine per ridurre i livelli di LDL-C. Esse agiscono sopprimendo l'espressione della HMG-CoA riduttasi (39) e quindi la sintesi di colesterolo e potrebbero ridurre l'incidenza del diabete, proteggendo le beta-cellule dal sovraccarico di colesterolo. Sebbene l'efficacia della terapia con statine nella riduzione del rischio cardiovascolare primario e secondario sia indiscusso (40), diverse meta-analisi di studi randomizzati hanno riportato che la terapia con statine

è associata in modo dose-dipendente all'aumento del rischio di insorgenza di DMT2 (41, 42). Per quanto le cause non siano ancora chiarite definitivamente è importante notare che questa terapia causa un aumento di espressione dell'LDLR nelle cellule beta-pancreatiche e proprio questo effetto secondario potrebbe essere responsabile della loro disfunzione (43). Inoltre alcune statine diminuiscono la secrezione di insulina stimolata da glucosio inibendo direttamente l'attività dei canali del  $Ca^{2+}$  voltaggio-dipendenti (44).

Farmaci particolarmente efficaci nell'abbassare i livelli di colesterolo sono gli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 (45). Essi prevengono l'interazione della proconvertasi con l'LDLR e quindi la sua degradazione, come conseguenza diminuiscono i livelli di colesterolo circolanti perché aumenta il loro trasporto nelle cellule epatiche (27). Le terapie anti-PCSK9 sono state recentemente approvate per il trattamento dell'ipercolesterolemia familiare e di pazienti ad alto rischio cardiovascolare. Data l'espressione di LDLR e PCSK9 nelle cellule beta pancreatiche è possibile che queste terapie possano da una parte ridurre i livelli di LDL-C e la mortalità correlata, ma dall'altra parte aumentare il rischio di diabete. I dati relativi all'efficacia e la sicurezza di questi farmaci, in relazione al controllo della glicemia nei pazienti con DMT2, non indicano un'aumentata incidenza di diabete rispetto al gruppo in terapia standard, almeno entro i 2,2 anni di trattamento (46, 47). Recentemente però una meta-analisi ha rilevato un modesto ma significativo aumento di glicemia e emoglobina glicata nei pazienti trattati con inibitori di PCSK9, non sufficiente però per aumentare l'incidenza del diabete (48). Resta da capire se un effetto sul controllo glicemico possa apparire dopo trattamenti a lungo termine.

I recenti dati ottenuti nei nostri laboratori utilizzando topi in cui l'espressione di PCSK9 viene spenta nel solo fegato, offrono una spiegazione alternativa. I topi presentano livelli plasmatici di PCSK9 inferiori al limite di rilevazione, ma mantengono inalterata la produzione di PCSK9 nel pancreas. Come conseguenza l'espressione di LDLR e il contenuto di colesterolo nelle isole del Langerhans sono nella norma, e i topi non manifestano intolleranza al glucosio (30). Questa situazione imita le condizioni dei pazienti trattati con anticorpi anti-PCSK9 in cui PCSK9 è assente dalla circolazione ma è ancora prodotta nei tessuti extra-epatici come il pancreas e suggerisce la possibilità che le terapie anti-PCSK9, che sono dirette verso PCSK9 circolante, possano avere un impatto limitato sull'espressione di LDLR nel pancreas e sul metabolismo glucidico.

Un diverso scenario potrebbe verificarsi qualora lo spegnimento di PCSK9 fosse ottenuto mediante silenziamento genico.

## Conclusioni

In conclusione, è noto che il diabete di tipo 2 si accompagna a dislipidemia caratterizzata da aumentati livelli di trigliceridi, alterazioni nei livelli di colesterolo, elevata presenza di LDL e VLDL e bassa presenza di HDL. Negli ultimi anni particolare interesse ha assunto la variazione del colesterolo in quanto questo lipide gioca un ruolo essenziale non solo nel progressivo declino della massa beta-cellulare funzionale ma anche nello sviluppo di complicanze macro e microvascolari che costituiscono la principale causa di mortalità del diabete. Gli studi *in vivo* ed *ex vivo* sugli animali e gli studi epidemiologici nell'uomo indicano però l'esistenza di peculiari differenze nei meccanismi di controllo

dell'omeostasi del colesterolo nei diversi tessuti. Pertanto, la conoscenza degli specifici meccanismi molecolari responsabili del metabolismo e della tossicità del colesterolo nella cellula beta pancreatica

rappresenta un fondamentale obiettivo della ricerca sperimentale, per identificare nuovi target di intervento farmacologico possibilmente ancora più efficaci e sicuri di quelli ad ora disponibili.

### RIASSUNTO

Il diabete di tipo 2 comprende un complesso gruppo di disordini metabolici eterogenei caratterizzati da un deficit di secrezione di insulina accompagnato da insulino-resistenza. È spesso associato a dislipidemia che contribuisce sia alla progressiva disfunzione beta-pancreatica sia all'aumentato rischio di complicanze cardiovascolari. Queste ultime rappresentano la principale causa di mortalità nei soggetti diabetici.

Studi condotti in questi anni supportano un ruolo chiave del colesterolo non solo nello sviluppo di complicanze cardiovascolari ma anche direttamente nel controllo della funzionalità beta-pancreatica, fondamentale per garantire la secrezione di insulina e l'omeostasi glicemica. Le cellule beta-pancreatiche sono sensibili alle variazioni di colesterolo ed hanno sviluppato un complesso sistema per controllarne omeostaticamente la concentrazione intracellulare.

Dopo una breve introduzione sul pancreas endocrino e sui meccanismi molecolari che sono alla base del controllo della secrezione di insulina, la rassegna prende in esame il metabolismo del colesterolo nella cellula beta-pancreatica ed esamina l'impatto del lipide sulla funzione e disfunzione di questa cellula. Infine, nell'ultima parte, vengono analizzate le evidenze che legano il metabolismo del colesterolo, alla funzionalità beta-pancreatica e al metabolismo glucidico nell'uomo.

La conoscenza degli specifici meccanismi molecolari responsabili del metabolismo e della tossicità del colesterolo nella cellula beta-pancreatica rappresenta un fondamentale obiettivo della ricerca sperimentale per identificare nuovi target di intervento farmacologico per il trattamento del diabete e delle sue complicanze, possibilmente ancora più efficaci e sicuri di quelli ora disponibili.

**Parole chiave:** *Pancreas endocrino, insulina, colesterolo, LDLR, PCSK9.*

### Bibliografia

1. Goldberg IJ. Clinical review 124: Diabetic dyslipidemia: causes and consequences. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 965-971.
2. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of 10 societies and by invited experts). Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J.* 2016; 37: 2315-2381.
3. Fryirs M, Barter PJ, Rye K-A. Cholesterol metabolism and pancreatic beta-cell function. *Curr Opin Lipidol.* 2009; 20: 159-164.
4. Paul R, Choudhury A, Choudhury S, et al. Cholesterol in Pancreatic  $\beta$ -Cell Death and Dysfunction: Underlying Mechanisms and Pathological Implications. *Pancreas.* 2016; 45: 317-324.
5. Kahn SE. Clinical review 135: The importance of beta-cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 4047-4058.
6. Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest.* 2006; 116: 1802-1812.
7. Ashcroft FM, Rorsman P. Diabetes Mellitus and the  $\beta$  Cell: The Last Ten Years. *Cell.* 2012; 148: 1160-1171.
8. Henquin J-C, Nenquin M, Stiernet P, Ahren B. *In vivo* and *in vitro* glucose-induced biphasic insulin secretion in the mouse: pattern and role of cytoplasmic  $Ca^{2+}$  and amplification signals in beta-cells. *Diabetes.* 2006; 55: 441-451.
9. Prentki M, Matschinsky FM, Madiraju SRM. Metabolic Signaling in Fuel-Induced Insulin Secretion. *Cell Metab.* 2013; 18: 162-185.
10. Di Cairano ES, Moretti S, Marciani P, et al. Neurotransmitters and Neuropeptides: New Players in the Control of Islet of Langerhans' Cell Mass and Function. *J Cell Physiol.* 2016; 231: 756-767.
11. Morgan NG, Dhayal S. G-protein coupled recep-

- tors mediating long chain fatty acid signalling in the pancreatic beta-cell. *Biochem Pharmacol.* 2009; 78: 1419-1427.
12. Seino S, Sugawara K, Yokoi N, Takahashi H.  $\beta$ -Cell signalling and insulin secretagogues: A path for improved diabetes therapy: SEINO ET AL. *Diabetes Obes Metab.* 2017; 19: 22-29.
  13. Bogan JS, Xu Y, Hao M. Cholesterol Accumulation Increases Insulin Granule Size and Impairs Membrane Trafficking: Cholesterol in Insulin Granule Regulation. *Traffic.* 2012; 13:1466-1480.
  14. Hao M, Head WS, Gunawardana SC, et al. Direct Effect of Cholesterol on Insulin Secretion: A Novel Mechanism for Pancreatic -Cell Dysfunction. *Diabetes.* 2007; 56: 2328-2338.
  15. Xia F, Xie L, Mihic A, et al. Disruption of pancreatic beta-cell lipid rafts modifies Kv2.1 channel gating and insulin exocytosis. *J Biol Chem.* 2004; 279: 24685-24691.
  16. Xia F, Gao X, Kwan E, et al. Inhibition of cholesterol biosynthesis impairs insulin secretion and voltage-gated calcium channel function in pancreatic beta-cells. *Endocrinology.* 2008; 149: 5136-5145.
  17. Brunham LR, Kruit JK, Verchere CB, Hayden MR. Cholesterol in islet dysfunction and type 2 diabetes. *J Clin Invest.* 2008; 118: 403-408.
  18. Cnop M, Hannaert JC, Gruppig AY, Pipeleers DG. Low Density Lipoprotein Can Cause Death of Islet  $\beta$ -Cells by Its Cellular Uptake and Oxidative Modification. *Endocrinology.* 2002; 143: 3449-3453.
  19. Roehrich ME, Mooser V, Lenain V, et al. Insulin-secreting  $\beta$ -Cell Dysfunction Induced by Human Lipoproteins. *J Biol Chem.* 2003; 278: 18368-18375.
  20. Kruit JK, Brunham LR, Verchere CB, Hayden MR. HDL and LDL cholesterol significantly influence beta-cell function in type 2 diabetes mellitus. *Curr Opin Lipidol.* 2010; 21: 178-185.
  21. Cinti F, Bouchi R, Kim-Muler JY, et al. Evidence of  $\beta$ -Cell Dedifferentiation in Human Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101: 1044-1054.
  22. Ishikawa M, Iwasaki Y, Yatoh S, et al. Cholesterol accumulation and diabetes in pancreatic beta-cell-specific SREBP-2 transgenic mice: a new model for lipotoxicity. *J Lipid Res.* 2008; 49: 2524-2534.
  23. Gruppig AY, et al. Low density lipoprotein binding and uptake by human and rat islet beta cells. *Endocrinology.* 1997; 138: 4064-4068.
  24. Kruit JK, Cnop M, Van Schravendijk CF, et al. Cholesterol efflux via ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) and cholesterol uptake via the LDL receptor influences cholesterol-induced impairment of beta cell function in mice. *Diabetologia.* 2010; 53: 1110-1119.
  25. Brunham LR, Kruit JK, Verchere CB, Hayden MR. Cholesterol in islet dysfunction and type 2 diabetes. *J Clin Invest.* 2008; 118: 403-408.
  26. Fujino T, Asaba H, Kang MJ, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100: 229-234.
  27. Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Molecular biology of PCSK9: its role in LDL metabolism. *Trends Biochem Sci.* 2007; 32: 71-77.
  28. Mbikay M, Sirois F, Mayne J, et al. PCSK9-deficient mice exhibit impaired glucose tolerance and pancreatic islet abnormalities. *FEBS Lett.* 2010; 584: 701-706.
  29. Cariou B, Si-Tayeb K, Le May C. Role of PCSK9 beyond liver involvement: *Curr Opin Lipidol.* 2015; 26: 155-161.
  30. Da Dalt L, Ruscica M, Bonacina F, et al. PCSK9 deficiency reduces insulin secretion and promotes glucose intolerance: the role of the LDL receptor. *Eur Heart J.* In press.
  31. Langhi C, Le May C, Gmyr V, et al. PCSK9 is expressed in pancreatic delta-cells and does not alter insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009; 390: 1288-1293.
  32. Brunham LR, Kruit JK, Pape TD, et al. Beta-cell ABCA1 influences insulin secretion, glucose homeostasis and response to thiazolidinedione treatment. *Nat Med.* 2007; 13: 340-347.
  33. Gerin I, Dolinsky VW, Shackman JG, et al. LXRbeta is required for adipocyte growth, glucose homeostasis, and beta cell function. *J Biol Chem.* 2005; 280: 23024-23031.
  34. Efanov AM, Sewing S, Bokvist K, Gromada J. Liver X. Receptor activation stimulates insulin secretion via modulation of glucose and lipid metabolism in pancreatic beta-cells. *Diabetes.* 2004; (53 Suppl. 3): S75-78.
  35. 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.
  36. Besseling J, Kastelein JJP, Defesche JC, et al. Association Between Familial Hypercholesterolemia and Prevalence of Type 2 Diabetes Mellitus. *JAMA.* 2015; 313: 1029.
  37. Lotta LA, Sharp SJ, Burgess S, et al. Association Between Low-Density Lipoprotein Cholesterol-Lowering Genetic Variants and Risk of Type 2 Diabetes: A Meta-analysis. *JAMA.* 2016; 316: 1383.
  38. Schmidt AF, Swerdlow DI, Holmes MV, et al. PCSK9 genetic variants and risk of type 2 diabetes: a mendelian randomisation study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017; 5: 97-105.

39. Tobert JA. Lovastatin and beyond: the history of the HMG-CoA reductase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov.* 2003; 2: 517-526.
40. Vrečer M, Turk S, Drinovec J, Mrhar A. Use of statins in primary and secondary prevention of coronary heart disease and ischemic stroke. Meta-analysis of randomized trials. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2003; 41: 567-577.
41. Preiss D, Seshasai SR, Welsh P, et al. Risk of Incident Diabetes With Intensive-Dose Compared With Moderate-Dose Statin Therapy: A Meta-analysis. *JAMA.* 2011; 305: 2556.
42. Navarese EP, Buffon A, Andreotti F, et al. Meta-Analysis of Impact of Different Types and Doses of Statins on New-Onset Diabetes Mellitus. *Am J Cardiol.* 2013; 111: 1123-1130.
43. Yu Q, Chen Y, Xu C-B. Statins and New-Onset Diabetes Mellitus: LDL Receptor May Provide a Key Link. *Front Pharmacol.* 2017; 8: 372.
44. Salunkhe VA, Elvstam O, Eliasson L, Wendt A. Rosuvastatin Treatment Affects Both Basal and Glucose-Induced Insulin Secretion in INS-1 832/13 Cells. *Plos ONE.* 2016; 11: e0151592.
45. Norata GD, Tibolla G, Catapano AL. Targeting PCSK9 for Hypercholesterolemia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2014; 54: 273-293.
46. Blom DJ, Koren MJ, Roth E, et al. Evaluation of the efficacy, safety and glycaemic effects of evolocumab (AMG 145) in hypercholesterolaemic patients stratified by glycaemic status and metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab.* 2017; 19: 98-107.
47. 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 pre-specified analysis of the FOURIER randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017; 5: 941-950.
48. de Carvalho LSF, Campos AM, Sposito AC. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Inhibitors and Incident Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis With Over 96,000 Patient-Years. *Diabetes Care.* 2018; 41: 364-367.
49. Saarinen A, Saukkonen T, Kivelä T, et al. Low density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) mutations and osteoporosis, impaired glucose metabolism and hypercholesterolaemia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010; 72: 481-488.
50. Dayeh T, Tuomi T, Almgren P, et al. DNA methylation of loci within ABCG1 and PHOSPHO1 in blood DNA is associated with future type 2 diabetes risk. *Epigenetics.* 2016; 2: 11: 482-488.

**TERAPIA**

# EFFETTI DEL SESSO SULLA RISPOSTA ALLE STATINE

## Sex Effects On Statin Therapy

**VALERIA RAPARELLI<sup>1,2</sup>, GIULIO F. ROMITI<sup>3</sup>, GIUSEPPE SANTANGELO<sup>3</sup>,  
MARCO VANO<sup>3</sup>, VERDIANA SANTORI<sup>3</sup>, GIACOMO VISIOLI<sup>3</sup>, MARCO BORGHI<sup>3</sup>,  
FABRIZIO RECCHIA<sup>3</sup>, VALERIA SPUGNARDI<sup>3</sup>, NICOLÒ SPERDUTI<sup>3</sup>,  
STEFANIA BASILI<sup>3,4</sup>**

<sup>1</sup>Centre for Outcomes Research and Evaluation (CORE) - McGill University Health Centre Research Institute, Montreal, Canada;

<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma;

<sup>3</sup>Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Sapienza Università di Roma;

<sup>4</sup>Centro di Ricerca per la valutazione della qualità in Medicina e medicina di genere (CEQUAM), Sapienza Università di Roma

**SUMMARY**

Statins represent one of the most effective and widespread therapeutic approach in both primary and secondary prevention of cardiovascular disease (CVD), according to their cholesterol-lowering action and other pleiotropic effects; as a matter of fact, their use is currently endorsed by the most important international guidelines for prevention and treatment of CVD. Men and women are differently affected by CVD from several point of view, including epidemiological, clinical and pharmacological aspects. Sex was addressed as one of the factors that could affect pharmacodynamics and pharmacokinetics of statins, as well as their differential response in women and men. However, mechanisms and magnitudes of the hypothesized sex-dependent differences in statins' efficacy and safety are, to date, far to be elucidated. Women are not only underrepresented in most statins' trials, but are also reported to be undertreated and less adherent to statins therapy, perhaps leading to lower rate of LDL-cholesterol target achievements and inequalities across sexes in the management of CVD. The aim of the present review is to summarize the evidence on the use of statins in primary and secondary prevention from a sex-specific point of view. We also aim at evaluating sex-specific recommendations currently endorsed by international guidelines, focusing on future perspectives on sex-tailored management of CVD.

**Keywords:** *Statins, Cardiovascular Risk, Cardiovascular Prevention, Adherence, Women.*

Le malattie cardiovascolari (CV) rappresentano, a tutt'oggi, la principale causa di morte a livello mondiale, nonostante i

grandi progressi nella prevenzione, nella diagnosi e nel trattamento di tale ampio spettro di patologie CV (1), e in particolare della più frequente, la cardiopatia ischemica (CI). La terapia con statine mira alla riduzione dei livelli di colesterolo, e rappresenta uno dei capisaldi nella prevenzione primaria e secondaria della CI,

*Indirizzo per la corrispondenza*

Valeria Raparelli, MD, PhD  
Dipartimento di Medicina Sperimentale  
Viale Regina Elena, 324 - 00151 Roma  
email: valeria.raparelli@uniroma1.it

come riconosciuto dalle principali società internazionali, tra cui l'European Society of Cardiology (ESC) (2). L'impiego delle statine ha consentito di raggiungere livelli *target* di colesterolo totale e della sua frazione a bassa densità (LDL-C) sempre più bassi nel corso degli anni (2), con lo scopo di massimizzare l'effetto preventivo e ridurre il rischio di eventi CV, particolarmente nelle categorie di pazienti ad alto rischio.

Lo spettro di rischio CV risulta diverso tra donne e uomini: sebbene le donne abbiano un minor rischio CV rispetto agli uomini, il tasso di mortalità cardiaca, principalmente causata dalla malattia coronarica (CAD), è significativamente maggiore nelle donne (3); esse, perciò, necessitano di trattamenti di prevenzione CV, che includano farmaci ipolipemizzanti (4). Come è noto, le donne solitamente vanno incontro alla prima manifestazione di CAD ad un'età più avanzata rispetto agli uomini (5); l'incidenza di CAD nelle donne aumenta, infatti, notevolmente dopo la menopausa, probabilmente per la riduzione dell'effetto cardioprotettivo conferito dagli ormoni di produzione ovarica (6). Inoltre, anomalie dell'assetto lipidico costituiscono il fattore di rischio di più frequente riscontro nella donna, con una prevalenza pari a circa il 50% dei casi (7). Infatti, le donne in età premenopausale risultano meno affette da ipertensione arteriosa e hanno livelli di lipidi più bassi rispetto agli uomini della stessa età, ma queste differenze tendono a scomparire con l'avanzare dell'età (8); dunque, l'impatto degli alti livelli di colesterolo è tipicamente osservato dopo la menopausa (7, 8).

A tutt'oggi, i farmaci ipolipemizzanti, e particolarmente le statine rappresentano una delle strategie maggiormente efficaci nella prevenzione degli eventi CV (9). Le possibili differenze sesso-dipendenti

nella risposta a tale approccio terapeutico risultano essere meritevoli di approfondimento. Come per altri studi su farmaci cardiovascolari, le donne risultano essere sottorappresentate negli studi relativi all'utilizzo delle statine, rendendo le valutazioni legate al sesso e alla possibile risposta differenziale tra maschi e femmine di significato limitato. Il tasso di donne arruolate in tali studi si attesta tra il 14% e il 69% (10), e solo raramente vengono riportate, nei risultati, analisi stratificate per sesso.

I dati tuttora disponibili indicano comunque che le statine risultano efficaci nella prevenzione CV secondaria nelle donne. Tuttavia, sebbene i benefici della terapia con statine superino gli svantaggi nei pazienti ad elevato rischio CV, esistono molti dubbi nei confronti del suo ruolo nella prevenzione primaria in donne a rischio CV moderato o basso (11). Inoltre, alcuni dati di letteratura mostrano come nel sesso femminile, a prescindere dal profilo di rischio individuale, i tassi di prescrizione di statine ad alta intensità tendono a risultare più bassi che negli uomini (12). Nonostante l'indicazione espressa dalle principali linee guida internazionali, infatti, parte della popolazione femminile eleggibile per il trattamento si è rivelata

### Elenco degli argomenti trattati

- Differenze legate al sesso nella risposta farmacodinamica e farmacocinetica alle Statine.
- Profilo di rischio e effetti avversi: associazione col sesso.
- Prevenzione CV primaria e secondaria e ruolo delle statine: differenze tra uomini e donne e implicazioni cliniche.
- Le raccomandazioni delle linee guida internazionali sulla prevenzione primaria e secondaria: future prospettive legate al sesso.

essere sotto-trattata o non trattata (13); è stata altresì sottolineata l'influenza di fattori socioeconomici e culturali nel determinare il mancato raggiungimento della terapia ottimale (14). Lo scopo di questa rassegna è riassumere le differenze di sesso e di genere nell'utilizzo delle statine, esponendo lo stato dell'arte relativo alla gestione della prevenzione CV sesso-specifica e esplorando le possibili prospettive future.

### **Differenze sesso-specifiche nella farmacologia delle statine**

Il ruolo della terapia con statine nella prevenzione primaria e secondaria delle malattie CV risulta essenziale. Oltre al canonico effetto di riduzione dei livelli delle LDL-C, le statine posseggono anche ulteriori caratteristiche vantaggiose ed esercitano effetti pleiotropici che giustificano la loro efficacia nel trattamento e nella prevenzione della CAD. Tali effetti si manifestano attraverso la modulazione della progressione dell'aterosclerosi e l'inibizione di alcune vie infiammatorie. In particolare, le statine promuovono una riduzione dello stress ossidativo e un incremento delle difese antiossidanti e sono efficaci nel migliorare la disfunzione endoteliale, indipendentemente dalla riduzione dei livelli di colesterolo (15), sia aumentando l'espressione della NO-sintasi, attraverso una modulazione post-trascrizionale dell'mRNA, sia ripristinando i livelli di NO nelle cellule endoteliali (16). Tale effetto protettivo delle statine potrebbe essere di particolare rilevanza nel sesso femminile; recentemente, infatti, è stato dimostrato che nelle donne la CAD sembra essere associata con un'alterazione della riserva coronarica; processi infiammatori, disfunzione endoteliale e ischemia microvascolare possono altresì essere connessi con

questo fenomeno (17). Le statine sembrano inoltre inibire direttamente l'attivazione piastrinica attraverso la riduzione delle molecole ossidanti e dell'attività della NADPH ossidasi, indipendentemente dall'effetto ipolipemizzante (18). È stato anche dimostrato come le statine risultino efficaci nel modulare l'espressione e i livelli di molteplici citochine pro-infiammatorie, quali il TNF-alpha e la IL-6 (19); nelle donne tale effetto potrebbe essere di particolare interesse, considerato che esse presentano, rispetto agli uomini, una risposta molto maggiore all'effetto delle statine sullo stato pro-infiammatorio (20).

Differenze di sesso nella farmacocinetica e farmacodinamica dei farmaci, incluse le statine, sono state ampiamente descritte (21). È inoltre già noto che le differenze di sesso giocano un importante ruolo nello sviluppo dell'ipercolesterolemia e sono disponibili evidenze biochimiche inerenti il rapporto tra ormoni sessuali e fattori di rischio CV; ad esempio, i polimorfismi del gene CYP19A1, codificante le aromatasi coinvolte nella sintesi degli estrogeni, hanno mostrato un'associazione correlata al sesso con alcuni fattori di rischio CV, come i livelli di apolipoproteina B, l'ipertensione arteriosa e la resistenza insulinica (22).

Studi clinici documentano che le donne dislipidemiche sotto terapia con statine beneficiano di una minore riduzione dei livelli di colesterolo (23), raggiungendo dunque meno frequentemente i livelli target raccomandati dalle linee guida internazionali; grandi studi osservazionali (13, 24) hanno altresì dimostrato un franco divario tra i due sessi nei tassi di raggiungimento del successo terapeutico, inteso come riduzione dei livelli di LDL-C: le donne ad alto rischio risultano peraltro meno frequentemente oggetto di prescrizioni di adeguate dosi di statine o terapie ipolipe-

mizzanti combinate. Tali evidenze suggeriscono che nelle donne possa sussistere una ridotta attività ipolipemizzante delle statine, come confermato da uno studio osservazionale in cui è stato osservato un significativo maggiore effetto negli uomini in termini di riduzione dei livelli di colesterolo totale e LDL-C (23).

Lo stato ormonale può in parte contribuire a spiegare la differente efficacia del trattamento nei due sessi. Nelle donne fertili, i livelli elevati di estradiolo sono associati ad un aumento dei recettori per le LDL-C e un concomitante decremento dell'attività dell'HMG-CoA reductasi, target principale delle statine. Dopo la menopausa, la riduzione dei livelli di LDL-C nel trattamento con statine è mitigato dal basso livello di estrogeni, che interferisce con l'espressione e il metabolismo del recettore delle LDL-C (25). Inoltre, il metabolismo delle statine sembra essere più veloce nel sesso femminile: tutte le statine lipofile sono metabolizzate dal citocromo epatico altamente polimorfico P-450 3A4 (CYP3A4) (26), che è più attivo nelle donne rispetto agli uomini, come confermato dall'espressione due volte maggiore di mRNA riscontrata in biopsie epatiche da sesso femminile (27), il che porta ad un più rapido ed esteso metabolismo. Questo potrebbe spiegare, come recentemente riportato, perché atorvastatina e simvastatina possano risultare meno efficaci nelle donne (23). Questo genere di differenze farmacocinetiche e farmacodinamiche sono altresì di difficile quantificazione, anche in considerazione dell'influenza del background genetico. A titolo esemplificativo, è stato riportato che il polimorfismo del recettore estrogenico  $\alpha$  può essere associato, in modo genere-specifico, con un maggior incremento delle HDL-C in risposta all'atorvastatina nel sesso femminile (28).

L'insieme di questi dati testimonia la plausibile esistenza di una differente risposta alla terapia statinica nei due sessi, sebbene ulteriori studi siano necessari per valutare l'entità e il reale contributo di queste differenze nel modulare l'efficacia delle statine e dei suoi effetti protettivi nei confronti della CAD.

### **Effetti avversi delle statine: relazione con il sesso**

Ad oggi, nessuna evidenza definitiva depone per l'esistenza di un differente profilo di rischio tra uomini e donne. Alcuni effetti avversi delle statine, come il danno tossico sul muscolo scheletrico e l'incidenza di diabete mellito (DM), sembrano tuttavia essere di più frequente riscontro nelle donne. La tossicità muscolare è l'effetto avverso più comune (29); la rabdomiolisi è un raro effetto collaterale, mentre una lieve mialgia è abbastanza comune. Tuttavia, non esiste nessuna definizione standard per la miotossicità statina-mediata, cosicché la sua reale incidenza è difficile da quantificare. Sebbene alcuni studi clinici randomizzati riportino un'incidenza di miopatia indotta da statine minore del 5% (30), il tasso risulta essere leggermente maggiore (5-10%) nella pratica clinica quotidiana (31).

Età e sesso rappresentano fattori che possono influenzare l'incidenza e la gravità della miotossicità statina-dipendente, con le donne a più alto rischio di rabdomiolisi (32); esse risulterebbero infatti maggiormente suscettibili al danno tossico per via delle caratteristiche anatomiche della massa muscolare e della distribuzione vascolare.

Di contro, una meta-analisi basata su 18 studi non ha individuato alcuna differenza significativa relativa al sesso in relazione agli eventi avversi correlati alle statine

(33). Ciò è particolarmente importante in relazione alla pratica clinica, in quanto l'incidenza di effetti collaterali muscolari minori - inclusi mialgia, debolezza e spasmi - risulta essere il principale ostacolo per ottenere un'ottimale aderenza da parte del paziente (29).

Il tempo di osservazione di quasi tutti gli studi è troppo breve per poter trarre una conclusione definitiva riguardo il rischio di cancro correlato alle statine. Nello studio JUPITER non è stato riscontrato alcun incremento della mortalità specifica per cancro in donne trattate con rosuvastatina (34). Un'evidenza contraddittoria proviene da alcuni studi osservazionali sulle statine dotati di un follow-up a lungo termine (35-37): le donne ipercolesterolemiche trattate per più di 10 anni, infatti, mostravano un'associazione significativa con l'incidenza di carcinoma mammario invasivo rispetto alle donne non trattate (35). Tale correlazione non è stata supportata dai risultati dello studio Women's Health Initiative (WHI) (36). Degno di nota è inoltre il fatto che il WHI abbia riportato una riduzione del 18% in termini di sviluppo di carcinoma mammario nelle donne trattate con statine lipofile rispetto a coloro che non utilizzavano le statine (37). Infine, una recente meta-analisi basata su 36 studi osservazionali ha evidenziato la mancanza di associazione tra uso delle statine e rischio di cancro della mammella (38), confermando i dati della meta-analisi del Cholesterol Treatment Trialist, che non aveva mostrato alcun incremento dell'incidenza di neoplasie nel gruppo di pazienti trattato con statine (39).

Per quanto concerne l'associazione tra utilizzo di statine e incidenza di Diabete Mellito (DM), lo studio JUPITER ha evidenziato una maggiore tendenza nelle donne rispetto agli uomini (34); un dato confermato anche da una recente ampia

casistica (40). Il beneficio derivante dalla terapia con statine nei confronti della riduzione degli eventi CV sembra comunque superare il rischio correlato all'eventuale incremento di incidenza del DM sia negli uomini che nelle donne, sebbene queste ultime dovrebbero essere monitorate adeguatamente per lo sviluppo di DM nel corso della terapia a lungo termine con statine.

### **Statine e prevenzione cardiovascolare nei due sessi**

Le evidenze scientifiche riguardanti l'analisi sesso-specifica dell'efficacia e dei profili di sicurezza delle statine sono abbastanza limitate (7). I vari studi sperimentali hanno dimostrato un miglioramento globale degli esiti clinici CV in entrambi i sessi; tuttavia, un'analisi approfondita delle eventuali differenze nei confronti della risposta alla terapia con statine risulta essere necessaria per lo sviluppo di strategie preventive sesso-specifiche.

Per ciò che concerne la prevenzione primaria, una meta-analisi basata su 6 trials e un numero complessivo di 11.435 donne senza malattia cardiovascolare nota non ha mostrato alcun beneficio della terapia ipolipemizzante nei confronti della riduzione della mortalità o degli eventi CV maggiori (MACE) rispetto al placebo (41). Tuttavia, i dati potrebbero essere stati influenzati dalla giovane età delle donne incluse, dal basso tasso di eventi registrati e dal tempo di osservazione troppo breve. Un'ulteriore meta-analisi (42) ha invece dimostrato l'efficacia delle statine, indipendentemente dal sesso, nella riduzione dei MACE in pazienti con rischio CV ma senza pregressa malattia nota. Una meta-analisi stratificata per sesso ha dimostrato inoltre una riduzione del 37% degli eventi nelle donne (prevalentemente o esclusi-

vamente trattate in prevenzione primaria) che assumevano statine rispetto al placebo (43). Tali risultati hanno trovato parziale riscontro in letteratura, con ulteriori evidenze a supporto di un beneficio simile tra uomini e donne nei confronti della prevenzione cardiovascolare e della riduzione della mortalità totale (33).

La riduzione dei livelli di colesterolo totale e della sua frazione LDL-C, congiuntamente all'incremento dei livelli di HDL-C, risulta essere uno dei principali obiettivi in corso di prevenzione primaria della CAD. Una recente analisi basata sul database VOYAGER (44), ha dimostrato un differente grado di risposta alla terapia con statine in base a sesso ed età: le donne, in particolare quelle più anziane (>70 anni), presentano una minor tendenza all'aumento dei livelli di HDL-C rispetto alla controparte maschile, sebbene raggiungano comunque riduzioni di LDL-C significative. I livelli di colesterolo risultano essere un fattore importante nel controllo del rischio CV, come dimostrato da una recente meta-analisi condotta su circa 174.000 soggetti (46.000 donne) che ha dimostrato una riduzione del rischio di MACE del 21% per ogni 1.0 mmol/L di decremento dei livelli di LDL-C. Questi risultati si sono rivelati confrontabili tra i sessi (-16% per le donne e -22% per gli uomini), e indipendenti dal rischio cardiovascolare di base, su un follow-up a lungo termine (4,9 anni). La mortalità per tutte le cause risultava altresì diminuita significativamente sia per gli uomini che per le donne (rispettivamente -10% e -9%); tuttavia la riduzione del rischio tra i gruppi di trattamento risultava statisticamente significativa solo negli uomini (45). Tra gli individui a basso rischio (rischio stimato a 5 anni <10%), ogni riduzione di 1.0 mmol/L del LDL-C ottenuta con statina risultava in grado di diminuire in maniera significativa il rischio di MACE,

ma con entità differente nei due sessi (-35% nell'uomo, -26% nella donna;  $p=0.023$ ) (45).

Tra i trial di prevenzione primaria, lo studio JUPITER risulta essere il trial verso placebo che ha arruolato il maggior numero di donne ( $n=6801$ ) (34). Gli autori hanno condotto un'attenta analisi degli esiti clinici stratificata per sesso: durante un follow-up di 2 anni, la riduzione del rischio cardiovascolare tra uomini (-42%) e donne (-46%) trattati con rosuvastatina *vs* placebo si è dimostrata comparabile. Le donne hanno inoltre dimostrato una notevole riduzione del tasso di rivascolarizzazione e angina instabile rispetto alla controparte maschile. Infine, la mortalità per tutte le cause si è dimostrata non dissimile tra i due sessi, forse anche a causa della breve durata del *follow-up*. I risultati nettamente migliori ottenuti dalle donne arruolate in questo studio rispetto a quelli osservati in altri trial di prevenzione primaria (46) sono probabilmente attribuibili alla differente potenza delle statine somministrate in soggetti con iperlipidemia già nota: questa ipotesi è supportata dalla minor efficacia delle statine nel migliorare il profilo lipidico nelle donne dislipidemiche rispetto agli uomini (13). Nonostante ciò, una meta-analisi che includeva 6 trial (47) basati sull'utilizzo di atorvastatina, che ha incluso 11.345 donne dislipidemiche senza malattia CV nota, non ha dimostrato un beneficio in termini di efficacia nei confronti dei vari esiti clinici analizzati, nonostante l'impiego di statine ad elevata potenza.

In conclusione, in base alle evidenze analizzate, non si delinea un quadro di forte e definitiva raccomandazione circa l'utilizzo delle statine in prevenzione primaria nelle donne. Ulteriori studi di prevenzione primaria risultano necessari per individuare eventuali differenze di sesso e genere che possano influenzare i profili di rischio e i conseguenti effetti clinici.

Riguardo la prevenzione secondaria, la maggiore consapevolezza riguardo le differenze relative al sesso nella diagnosi e nel trattamento della CAD ha determinato, negli ultimi anni, un incremento degli studi relativi alla valutazione dell'efficacia delle statine nella prevenzione secondaria della CAD (7).

Le evidenze attualmente disponibili in letteratura riguardo l'impiego in prevenzione secondaria delle statine depongono per una efficacia comparabile tra i due sessi. Una recente meta-analisi (45) ha dimostrato che la riduzione di 1.0 mmol/L di LDL-C risulta correlata a una riduzione del 20% di MACE, e ad una riduzione del 25% del rischio di eventi coronarici maggiori o necessità di rivascolarizzazione coronarica. È stato inoltre dimostrato che la somministrazione di statine ad alta intensità è associata ad un incremento dei benefici senza alcuna differenza sesso-specifica (45).

Nonostante la comparabile efficacia in termini di riduzione di MACE, nel sesso femminile non sembra evidenziarsi alcuna riduzione della mortalità in seguito a trattamento con statine. Tale risultato è stato evidenziato da una meta-analisi stratificata per sesso (48) che ha dimostrato una riduzione del tasso di mortalità per tutte le cause e di ictus negli uomini, ma non nelle donne. La differente efficacia delle statine è stata attribuita sia ad una sottorappresentazione femminile nei trials clinici, sia alle interazioni sesso-dipendenti tra statine, ormoni e funzione endoteliale, come già descritto. Tale fenomeno merita ulteriori approfondimenti, considerando anche l'aumentata suscettibilità delle donne all'attivazione della risposta autoimmune e all'infiammazione, sebbene di basso grado (49), che potrebbero contribuire a determinare una differente patogenesi delle patologie croniche tra i due sessi.

A prescindere dall'efficacia del trattamento con statine in prevenzione secondaria, diversi studi osservazionali dimostrano che le donne hanno una minore probabilità di ricevere una terapia a base di statine. La prescrizione di regimi terapeutici ad alta intensità è infrequente nelle donne affette da CAD, nonostante le raccomandazioni delle principali linee guida internazionali. *"The Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study"* è stato uno dei primi studi multicentrici ad analizzare la percentuale di donne affette da patologia cardiaca conclamata con valori di LDL-C che non soddisfano i *target* raccomandati dalle linee guida. Solo il 10% di 2.736 donne in menopausa, reclutate tra il 1993 e il 1994, hanno raggiunto livelli di LDL-C <100 mg/dL, identificato all'epoca come livello *target* da raggiungere in tale categoria di pazienti (50). Più recentemente, nello studio *"Research Into Action for Diabetes"*, tra i pazienti diabetici affetti da CVD inclusi nell'analisi, una maggior percentuale di donne, rispetto agli uomini, presentava un insoddisfacente controllo dei livelli di LDL-C (51). Nello studio *"Treatment and Assessment Project 2"* (13), che ha valutato 9955 pazienti dislipidemicici (45,3% donne) in 9 paesi, il sesso femminile risultava indipendentemente associato ad una più bassa probabilità di ricevere terapia statinica (-32%) o un regime terapeutico a dosaggi elevati (-24%) quando indicato. Le *surveys "EURO-ASPIRE"* (52) hanno rivelato che, dopo un evento coronarico e indipendentemente dalla terapia farmacologica, le donne hanno meno probabilità di raggiungere i livelli di LDL-C identificati come ottimali dalle linee guida di riferimento rispetto agli uomini, anche qualora siano sottoposte a regimi terapeutici a maggiore intensità (53, 54). Una recente analisi (55) di dati provenienti da cartelle cliniche e da questionari di pazienti adulti affetti da DM

ha dimostrato che, generalmente, gli uomini con malattia CV raggiungono valori di LDL-C <100 mg/dl mentre le donne presentano una minor probabilità di ricevere un'intensificazione della terapia con statine in presenza di valori persistentemente elevati di LDL-C.

Una recente revisione dei trials clinici sulla somministrazione dell'atorvastatina in prevenzione secondaria ha inoltre evidenziato come la risposta alla terapia sia simile in entrambi i sessi, ma leggermente più discontinua nelle donne in seguito all'insorgenza di effetti collaterali (47). La differente risposta delle donne all'intensificazione della terapia con statine potrebbe peraltro avere un ruolo rilevante nel controllo dei valori lipidici e delle sue differenze tra i sessi. La ridotta aderenza terapeutica è stata riportata tra i fattori di fallimento della terapia con statine ad alta intensità; inoltre le donne tendono ad essere meno aderenti degli uomini successivamente all'intensificazione della terapia con statine (55). L'importanza di un'adeguata terapia nella prevenzione secondaria della malattia CV nelle donne è stata messa in risalto dai promettenti risultati dello studio SATURN (56): il sesso femminile è stato indipendentemente associato alla regressione delle placche aterosclerotiche coronariche, documentata con ecografia intravascolare. I progressivi effetti anti-aterosclerotici delle statine ad alta intensità sono stati osservati nelle donne con valori di LDL-C <70 mg/dl. I maggiori livelli di riduzione della placca aterosclerotica sono stati osservati nelle donne trattate con rosuvastatina rispetto alle pazienti trattate con altre statine (57). Ulteriori studi basati sulla farmacogenomica potrebbero essere utili per chiarire i potenziali e differenti effetti delle statine sul distretto vascolare, soprattutto riguardo la riduzione della componente lipidica della placca stessa.

## Analisi delle Linee Guida Internazionali

### *Linee guida sulla prevenzione secondaria della malattia CV*

Le più recenti linee guida americane raccomandano una terapia con statine ad alta intensità in tutti gli individui con documentata malattia CV aterosclerotica e non promuovono un target specifico per LDL-C, come precedentemente richiesto dal National Cholesterol Education Panel Adult Treatment Panel III (58) o dalle più recenti linee guida europee (59). Nello specifico, l'ACC/AHA nel 2013 ha pubblicato le linee-guida sui lipidi, in cui si raccomanda una terapia con statine ad alte dosi (atorvastatina 40-80 mg o rosuvastatina 20-40 mg al giorno) in uomini e donne di età ≤75 anni, e una terapia con statine a dose moderata o ad alte dosi nei pazienti più anziani, di età superiore ai 75 anni, con malattia CV aterosclerotica clinica (60). L'esclusione di specifici target di colesterolo, una terapia a dose fissa raccomandata e la superiorità delle statine rispetto ad altri trattamenti ipolipemizzanti, rappresentano le principali novità portate dalle linee guida ACC/AHA del 2013.

Non sono menzionate le specifiche differenze tra i due sessi. Tuttavia, è previsto che le donne saranno trattate opportunamente nel prossimo futuro, dal momento che un crescente numero di esse è ora eleggibile per il trattamento.

### *Linee guida sulla prevenzione primaria della malattia CV*

L'inclusione del genere nel punteggio ACC/AHA 2013 per la determinazione del rischio di malattia CV aterosclerotica è un tentativo di introdurre un approccio sesso-specifico per l'inizio della terapia con statine nella prevenzione primaria delle malattie CV. L'uso di statine è attualmente

suggerito per gli adulti asintomatici tra i 40 e i 75 anni, senza malattia CV, con livelli di colesterolo LDL-C > 189 mg/dl. Nei pazienti con DM e di età compresa tra 40 e 75 anni si consigliano statine a dosi moderate o alte, se i livelli di LDL-C sono compresi tra 70 e 189 mg/dL. Al contrario, la terapia ad alte dosi dovrebbe essere considerata in coloro che hanno un rischio CV a 10 anni  $\geq 7,5\%$  (60). Secondo l'aggiornamento delle raccomandazioni della "United States Preventive Service Task Force" sull'uso di statine per la prevenzione primaria delle malattie CV (61), in tutti gli adulti senza una storia di CAD sintomatica, si dovrebbe proporre una regime terapeutico di intensità da bassa a moderata, se hanno un'età compresa tra i 40 e i 75 anni e possiedono più di un fattore di rischio CV e un rischio CV a 10 anni  $\geq 10\%$ . Un rischio CV decennale calcolato tra il 7,5% e il 10% potrebbe indicare la necessità di un trattamento; la forza di queste raccomandazioni è, tuttavia, bassa.

Le linee guida rivolte specificamente alla prevenzione primaria della malattia CV nelle donne (62) suggeriscono come trattamento iniziale della dislipidemia il cambiamento dello stile di vita, seguito da prescrizione di statine nei pazienti ad alto rischio.

Recentemente, l'ESC ha pubblicato le nuove linee guida per la prevenzione della malattia CV (59). La valutazione sistematica del rischio CV, utilizzando il *Systemic Coronary Risk Estimation* (SCORE), deve essere considerata negli uomini di età >40 anni e nelle donne >50 o post-menopausa senza fattori di rischio CV noti. I pazienti con DM di età superiore a 40 anni o con malattie renali o con singoli fattori di rischio elevati vengono automaticamente classificati come "ad alto rischio" o "rischio molto alto". Le indicazioni ESC indicano che i livelli di LDL-C rappresentano

il *target* primario della strategia di prevenzione. Il beneficio correlato a una terapia mirata alla riduzione dei livelli di colesterolo dipende dal livello iniziale di rischio, con il massimo vantaggio nei pazienti "ad alto rischio" e "a rischio molto alto" (59). È interessante notare che le linee guida ESC tengono conto delle complicazioni ostetriche (ad esempio pre-eclampsia e ipertensione correlata alla gravidanza) come "*red flags*/segni d'allarme" per la prevenzione primaria della malattia CV. Le condizioni di cui sopra sono associate a un rischio di sviluppare malattia CV più alto nelle donne, solo parzialmente spiegato dall'aumentato sviluppo dell'ipertensione arteriosa e del DM.

## Conclusioni

Secondo le linee guida, le donne dovrebbero essere trattate con statine per la prevenzione CV primaria e secondaria, quando il beneficio supera il rischio e dopo un'attenta valutazione, individualizzata per tutti i pazienti. Sfortunatamente, l'insieme delle evidenze a sostegno di

## Glossario

<b>ACC:</b>	American College of Cardiology
<b>AHA:</b>	American Heart Association
<b>CAD:</b>	Malattia Coronarica (Coronary Artery Disease)
<b>CI:</b>	Cardiopatia Ischemica
<b>CV:</b>	Cardiovascolare
<b>DM:</b>	Diabete Mellito
<b>IMA:</b>	Infarto Miocardico Acuto
<b>NO:</b>	Ossido Nitrico
<b>ESC:</b>	European Society of Cardiology
<b>LDL-C:</b>	Colesterolo LDL
<b>HDL-C:</b>	Colesterolo HDL
<b>MACE:</b>	Major Adverse Cardiovascular Events
<b>SCORE:</b>	Systemic Coronary Risk Estimation

### Questionario di auto-apprendimento

- 1) **Quale di questi non è un effetto delle statine?**
  - a) Modulazione della disfunzione endoteliale.
  - b) Inibizione dell'HMG-CoA Reduttasi e riduzione dei livelli di LDL-C.
  - c) Riduzione dello stress ossidativo.
  - d) Sono tutti effetti delle statine.
  
- 2) **Qual è la percentuale di incidenza di miopatia indotta da statine nella pratica clinica quotidiana?**
  - a) <5%.
  - b) 5-10%.
  - c) 10-15%.
  - d) Circa il 50% delle pazienti.
  
- 3) **Per ciò che concerne l'incidenza di DM in seguito alla terapia statinica, è corretto affermare che?**
  - a) Gli uomini hanno una tendenza maggiore delle donne a sviluppare DM in seguito a terapia statinica.
  - b) Non esiste alcun dato in letteratura relativo alla correlazione fra terapia statinica e insorgenza di DM.
  - c) Le donne mostrano una tendenza maggiore a sviluppare DM in seguito a terapia statinica.
  - d) Nessuna delle precedenti.
  
- 4) **In termini di prevenzione secondaria, è corretto affermare:**
  - a) Le statine non hanno mostrato alcuna efficacia nel sesso femminile, ed è corretto non somministrare tali farmaci alle donne.
  - b) Nel sesso femminile le statine non hanno alcun effetto nel modulare i livelli di LDL-C.
  - c) Sebbene sussistano alcune differenze legate al sesso, le statine risultano farmaci efficaci nella prevenzione secondaria cardiovascolare sia negli uomini che nelle donne.
  - d) Le statine si sono rivelate farmaci utili solo nelle donne in pre-menopausa, e non hanno alcun ruolo nella prevenzione secondaria delle donne in post-menopausa.
  
- 5) **In termini di aderenza prescrittiva alle linee guida internazionali, è corretto affermare che?**
  - a) I medesimi tassi di aderenza prescrittiva alle linee guida internazionali si registrano tra uomini e donne.
  - b) Donne e uomini, sulla base del proprio rischio individuale, hanno la stessa probabilità di ricevere il trattamento più adeguato possibile.
  - c) Gli uomini tendono ad essere sottotrattati rispetto alla popolazione femminile, a parità di profilo di rischio.
  - d) La popolazione femminile tende ad essere sottotrattata rispetto a quella maschile, a parità di profilo di rischio.

*Risposte corrette:*

1) d; 2) b; 3) c; 4) c; 5) d

questo approccio è lontano dall'essere pienamente conclusivo. In particolare, le differenze sesso-specifiche sull'efficacia della terapia con statina nella prevenzione primaria sono ancora dibattute, mentre i benefici risultano essere bilanciati nei due sessi nell'ambito della prevenzione secondaria. Allo stato attuale i medici dovrebbero valutare attentamente le donne, a causa del recente documentato maggior effetto

che le statine sembrano giocare nella modulazione dell'aterosclerosi rispetto agli uomini. Ulteriori studi, adeguatamente sviluppati, con popolazioni bilanciate per sesso e correttamente reclutate, nonché dotati di analisi stratificate per sesso, risultano essere necessari per definire la reale efficacia delle statine nei due sessi e per evidenziare le eventuali differenze sugli esiti clinici e sui profili di sicurezza.

### RIASSUNTO

Le statine rappresentano uno degli approcci terapeutici più efficaci e diffusi nella prevenzione primaria e secondaria delle malattie cardiovascolari (CVD), in base all'azione di riduzione del colesterolo e ad altri effetti pleotropici; di fatto, il loro utilizzo è attualmente supportato dalle più importanti linee guida internazionali per la prevenzione e il trattamento delle malattie cardiovascolari. Uomini e donne sono diversamente interessati dalla CVD da diversi punti di vista, compresi gli aspetti epidemiologici, clinici e farmacologici. Il sesso è stato considerato come uno dei fattori che potrebbero influenzare la farmacodinamica e la farmacocinetica delle statine, nonché la loro risposta differente nelle donne e negli uomini. Tuttavia, i meccanismi e le grandezze delle ipotizzate differenze dipendenti dal sesso nell'efficacia e nella sicurezza delle statine sono, finora, ancora da chiarire. Le donne non solo sono sottorappresentate nella maggior parte degli studi delle statine, ma anche sotto-trattate e meno aderenti alla terapia con statine, portando ad una minore riduzione del colesterolo LDL e a disuguaglianze tra i sessi nella gestione delle malattie cardiovascolari. Lo scopo della presente rassegna è di riassumere le prove sull'uso delle statine nella prevenzione primaria e secondaria, specifiche per sesso. Ci siamo anche proposti di valutare le raccomandazioni, specifiche per sesso, delle linee guida internazionali, concentrandoci sulle prospettive future della gestione specifica per sesso della cardiopatia ischemica.

**Parole chiave:** *Medicina di genere, statine, rischio cardiovascolare, prevenzione cardiovascolare, aderenza terapeutica.*

### Bibliografia

1. Abajobir AA, Abbafati C, Abbas KM, et al. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* [Internet]. 2017; 390: 1151-1210.
2. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J* [Internet]. 2016; 37: 2999-3058.
3. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *Eur Heart J* [Internet]. 2014; 35: 2950-2959.
4. Kulenovic I, Mortensen MB, Bertelsen J, et al. Statin use prior to first myocardial infarction in contemporary patients: Inefficient and not gender equitable. *Prev Med (Baltim)* [Internet]. 2016; 83: 63-69.
5. Leening MJG, Ferket BS, Steyerberg EW, et al. Sex differences in lifetime risk and first manifestation of cardiovascular disease: prospective population based cohort study. *BMJ* [Internet]. 2014; 349: g5992.
6. Yusuf S, Hawken S, Ôunpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* [Internet]. 2004, 364: 937-952.
7. Garcia M, Mulvagh SL, Merz CNB, Buring JE, Manson JAE. Cardiovascular disease in women: Clinical perspectives. Vol. 118, *Circulation Research*. 2016; 1273-1293.
8. Regitz-Zagrosek V, Oertelt-Prigione S, Prescott E, et al. Gender in cardiovascular diseases: impact on clinical manifestations, management,

- and outcomes. *Eur Heart J* [Internet]. 2016; 37: 24-34.
9. McConnachie A, Walker A, Robertson M, et al. Long-term impact on healthcare resource utilization of statin treatment, and its cost effectiveness in the primary prevention of cardiovascular disease: a record linkage study. *Eur Heart J* [Internet]. 2014; 35: 290-298.
  10. Gulati M, Merz CNB. Advances in Lipid Therapy: The Role of Lipid Treatment in Women in Primary Prevention. *Prog Cardiovasc Dis* [Internet]. 2016; 59: 178-189.
  11. Tsujimoto T, Kajio H, Sugiyama T. Statin Therapy in Patients With Low Serum Levels of Low-Density Lipoprotein Cholesterol. *Am J Cardiol* [Internet]. 2017; 120: 1947-1954.
  12. Peters SAE, Colantonio LD, Zhao H, et al. Sex Differences in High-Intensity Statin Use Following Myocardial Infarction in the United States. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2018; 71: 1729-1737.
  13. Santos RD, Waters DD, Tarasenko L, et al. Low- and high-density lipoprotein cholesterol goal attainment in dyslipidemic women: The Lipid Treatment Assessment Project (L-TAP) 2. *Am Heart J*. 2009; 158: 860-866.
  14. Ladapo JA, Coles A, Dolor RJ, et al. Quantifying sociodemographic and income disparities in medical therapy and lifestyle among symptomatic patients with suspected coronary artery disease: A cross-sectional study in North America. *BMJ Open*. 2017; 7.
  15. Gelosa P, Cimino M, Pignieri A, Tremoli E, Guerrini U, Sironi L. The role of HMG-CoA reductase inhibition in endothelial dysfunction and inflammation. *Vasc Health Risk Manag*. 2007; 3: 567-577.
  16. Beckman JA, Creager MA. The nonlipid effects of statins on endothelial function. *Trends Cardiovasc Med*. 2006; 16: 156-162.
  17. Basili S, Tanzilli G, Mangieri E, et al. Intravenous ascorbic acid infusion improves myocardial perfusion grade during elective percutaneous coronary intervention: relationship with oxidative stress markers. *JACC Cardiovasc Interv*. 2010; 3: 221-229.
  18. Pignatelli P, Carnevale R, Pastori D, et al. Immediate antioxidant and antiplatelet effect of atorvastatin via inhibition of Nox2. *Circulation*. 2012; 126: 92-103.
  19. Quist-Paulsen P. Statins and inflammation: an update. *Curr Opin Cardiol*. 2010; 25: 399-405.
  20. Lodovici M, Bigagli E, Luceri C, Mannucci E, Rotella CM, Raimondi L. Gender-related drug effect on several markers of oxidation stress in diabetes patients with and without complications. *Eur J Pharmacol*. 2015; 766: 86-90.
  21. Franconi F, Brunelleschi S, Steardo L, Cuomo V. Gender differences in drug responses. *Pharmacol Res*. 2007; 55: 81-95.
  22. Coban N, Onat A, Guclu-Geyik F, Can G, Erginel-Unaltuna N. Sex- and Obesity-specific Association of Aromatase (CYP19A1) Gene Variant with Apolipoprotein B and Hypertension. *Arch Med Res*. 2015; 46: 564-571.
  23. Mombelli G, Bosisio R, Calabresi L, et al. Gender-related lipid and/or lipoprotein responses to statins in subjects in primary and secondary prevention. *J Clin Lipidol* [Internet]. 2015; 9: 226-233.
  24. Victor BM, Teal V, Ahedor L, Karalis DG. Gender differences in achieving optimal lipid goals in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2014; 113: 1611-1615.
  25. Arca M, Vega GL, Grundy SM. Hypercholesterolemia in postmenopausal women. Metabolic defects and response to low-dose lovastatin. *JAMA*. 1994; 271: 453-459.
  26. Rosano GMC, Collins P. Gender differences in treatment of cardiovascular disease: a task force on gender of the ESC proposal on gender specific studies in cardiovascular pharmacology. Vol. 24, *Fundamental & clinical pharmacology*. England. 2010; 662-663.
  27. Wolbold R, Klein K, Burk O, et al. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. *Hepatology*. 2003; 38: 978-888.
  28. Kajinami K, Brousseau ME, Lamon-Fava S, Ordovas JM, Schaefer EJ. Gender-specific effects of estrogen receptor alpha gene haplotype on high-density lipoprotein cholesterol response to atorvastatin: interaction with apolipoprotein AI gene polymorphism. *Atherosclerosis*. 2005; 178: 331-338.
  29. Pirillo A, Catapano AL. Statin Intolerance: Diagnosis and Remedies. Vol. 17, *Current Cardiology Reports*. 2015.
  30. Joy TR, Hegele RA. Narrative review: Statin-related myopathy. Vol. 150, *Annals of Internal Medicine*. 2009; 858-8568.
  31. Fernandez G, Spatz ES, Jablecki C, Phillips PS. Statin myopathy: A common dilemma not reflected in clinical trials. Vol. 78, *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. 2011; 393-403.
  32. Schech S, Graham D, Staffa J, et al. Risk factors for statin-associated rhabdomyolysis. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2007; 16: 352-358.
  33. Kostis WJ, Cheng JQ, Dobrzynski JM, Cabrera J, Kostis JB. Meta-analysis of statin effects in women versus men. *J Am Coll Cardiol*. 2012; 59: 572-582.
  34. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FAH, et al. Rosuvastatin to Prevent Vascular Events in Men and Women with Elevated C-Reactive Protein. *N Engl J Med*. 2008; 359: 2195-2207.

35. McDougall J a, Malone KE, Daling JR, Cushing-Haugen KL, Porter PL, Li CI. Long-term statin use and risk of ductal and lobular breast cancer among women 55-74 years of age. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013.
36. Desai P, Chlebowski R, Cauley J, et al. Prospective analysis of association between statin use and breast cancer risk in the women's health initiative. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013; 22: 1868-1876.
37. Cauley JA, McTiernan A, Rodabough RJ, et al. Statin use and breast cancer: Prospective results from the women's health initiative. *J Natl Cancer Inst*. 2006; 98: 700-707.
38. Islam MM, Yang H-C, Nguyen P-A, et al. Exploring association between statin use and breast cancer risk: an updated meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2017; 296: 1043-1053.
39. Mihaylova B, Emberson J, Blackwell L, et al. The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: Meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. *Lancet*. 2012; 380: 581-590.
40. Lee S, Sung JM, Cho I, Kim HC, Chang J. Risk of new-onset diabetes among patients treated with statins according to hypertension and gender : Results from a nationwide health-screening cohort. 2018; (Ci): 1-9.
41. JE W, Pignone M. Drug treatment of hyperlipidemia in women. *JAMA [Internet]*. 2004; 291: 2243-2252.
42. Brugts JJ, Yetgin T, Hoeks SE, et al. The benefits of statins in people without established cardiovascular disease but with cardiovascular risk factors: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*. 2009; 338: b2376.
43. Mora S, Glynn RJ, Hsia J, MacFadyen JG, Genest J, Ridker PM. Statins for the Primary Prevention of Cardiovascular Events in Women With Elevated High-Sensitivity C-Reactive Protein or Dyslipidemia. *Circulation [Internet]*. 2010; 121: 1069 LP-1077.
44. Karlson BW, Palmer MK, Nicholls SJ, Barter PJ, Lundman P. Effects of age, gender and statin dose on lipid levels: Results from the VOYAGER meta-analysis database. *Atherosclerosis [Internet]*. 2017; 265: 54-59.
45. Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and women: meta-analysis of individual data from 174 000 participants in 27 randomised trials. *Lancet [Internet]*. 2015; 385: 1397-1405.
46. Mizuno K, Nakaya N, Ohashi Y, et al. Usefulness of Pravastatin in Primary Prevention of Cardiovascular Events in Women. *Circulation [Internet]*. 2008; 117: 494 LP-502.
47. Hsue PY, Bittner VA, Betteridge J, et al. Impact of Female Sex on Lipid Lowering, Clinical Outcomes, and Adverse Effects in Atorvastatin Trials. *Am J Cardiol [Internet]*. 2015; 115: 447-453.
48. Gutierrez J, Ramirez G, Rundek T, RL S. Statin therapy in the prevention of recurrent cardiovascular events: A sex-based meta-analysis. *Arch Intern Med [Internet]*. 2012; 172: 909-919.
49. Onat A, Can G. Enhanced proinflammatory state and autoimmune activation: a breakthrough to understanding chronic diseases. *Curr Pharm Des*. 2014; 20: 575-584.
50. Schrott HG, Bittner V, Vittinghoff E, Herrington DM, Hulley S. Adherence to National Cholesterol Education Program Treatment goals in postmenopausal women with heart disease. The Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS). The HERS Research Group. *JAMA*. 1997; 277: 1281-1286.
51. Ferrara A, Mangione CM, Kim C, et al. Sex disparities in control and treatment of modifiable cardiovascular disease risk factors among patients with diabetes: Translating Research Into Action for Diabetes (TRIAD) Study. *Diabetes Care [Internet]*. 2008; 31: 69-74.
52. Dallongeville J, De Bacquer D, Heidrich J, et al. Gender differences in the implementation of cardiovascular prevention measures after an acute coronary event. *Heart [Internet]*. 2010; 96: 1744-1749.
53. Bugiardini R, Yan AT, Yan RT, et al. Factors influencing underutilization of evidence-based therapies in women. *Eur Heart J [Internet]*. 2011; 32: 1337-1344.
54. Manteuffel M, Williams S, Chen W, Verbrugge RR, Pittman DG, Steinkellner A. Influence of Patient Sex and Gender on Medication Use, Adherence, and Prescribing Alignment with Guidelines. *J Women's Heal [Internet]*. 2014; 23: 112-119.
55. Billimek J, Malik S, Sorkin DH, et al. Understanding Disparities in Lipid Management Among Patients with Type 2 Diabetes: Gender Differences in Medication Nonadherence after Treatment Intensification. *Women's Heal Issues [Internet]*. 2015; 25: 6-12.
56. Puri R, Nissen SE, Shao M, et al. Sex-Related Differences of Coronary Atherosclerosis Regression Following Maximally Intensive Statin Therapy: Insights From SATURN. *JACC Cardiovasc Imaging [Internet]*. 2014; 7: 1013-1022.
57. Bergheanu SC, Reijmers T, Zwinderman AH, et al. Lipidomic approach to evaluate rosuvastatin and atorvastatin at various dosages: investigating differential effects among statins. *Curr Med Res Opin [Internet]*. 2008; 24: 2477-2487.
58. Grundy SM, Cleeman JI, Bairrey Merz CN, et

- al. Implications of Recent Clinical Trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2004; 44: 720-732.
59. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur J Prev Cardiol* [Internet]. 2016; 23(11): NP1-NP96.
60. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2014; 63: 2889-2934.
61. Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, et al. Statin Use for the Primary Prevention of Cardiovascular Disease in Adults. *JAMA* [Internet]. 2016; 316: 1997.
62. Mosca L, Benjamin EJ, Berra K, et al. Effectiveness-Based Guidelines for the Prevention of Cardiovascular Disease in Women - 2011 Update: A Guideline From the American Heart Association. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2011; 57: 1404-1423.

**TERAPIA****STRATEGIE DI SILENZIAMENTO  
GENICO NEL TRATTAMENTO  
DELLE DISLIPIDEMIE****Gene silencing strategies in the treatment  
of dyslipidemias****ANGELA PIRILLO<sup>1,2</sup>, ALBERICO LUIGI CATAPANO<sup>2,3</sup>, GIUSEPPE DANILO NORATA<sup>1,3</sup>**<sup>1</sup>Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale E. Bassini, Cinisello Balsamo, Milano;<sup>2</sup>IRCCS MultiMedica, Milano;<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,  
Università degli Studi di Milano**SUMMARY**

Despite progress in the management of dyslipidaemias, there is still need of new pharmacological approaches able to correct alterations in lipid/lipoprotein metabolism to reduce the residual cardiovascular risk, which persists also in optimally treated patients. In the recent years, the physiological mechanism of gene silencing, a post-transcriptional process by which cells regulate gene expression by turning off a selected gene, has been translated into selective pharmacological targeting and both antisense oligonucleotides (ASO) and small interfering RNA (siRNA) technologies have been developed with the aim to control the expression of specific genes playing key roles in lipid metabolism. Several antisense oligonucleotides have been developed to target apolipoprotein B, the main structural protein of VLDL, LDL and chylomicrons, apolipoprotein CIII or angiopoietin-like 3, both playing a role in regulating triglyceride levels, or apolipoprotein(a), to reduce lipoprotein (a) levels. A siRNA approach targeting PCSK9, a key modulator of LDL receptor trafficking which impacts plasma LDL-cholesterol levels, is also under clinical development. These gene-silencing approaches are highly specific and may be used with improved dose regimen as compared with conventional lipid-lowering therapies and might help in limiting their side effects. To date, clinical trials have demonstrated the efficacy of these therapies, but follow-up studies are warranted to demonstrate a benefit on cardiovascular outcome in parallel, to confirm their long-term safety and exclude off-target effects.

**Keywords:** *Gene silencing; antisense oligonucleotide; siRNA; dyslipidemia; cardiovascular disease.*

**Introduzione**

Le dislipidemie rappresentano uno dei principali fattori di rischio per le malattie cardiovascolari; nonostante l'introduzione di nuovi farmaci (quali gli anticorpi monoclonali contro PCSK9) e l'ottimizza-

*Indirizzo per la corrispondenza*

Prof. Giuseppe Danilo Norata  
Dipartimento di Scienze Farmacologiche e  
Biomolecolari, Università degli Studi di Milano  
Via Balzaretti, 9 - 20133 Milano  
e-mail: danilo.norata@unimi.it

zione delle terapie, permane nei pazienti trattati un rischio cardiovascolare residuo spesso dipendente da infiammazione e/o ipertrigliceridemia. Anche pazienti con ipercolesterolemia familiare geneticamente determinata (*Familial hypercholesterolemia*, FH), caratterizzata da livelli elevati di colesterolo LDL (LDL-C) sin dalla nascita e da comparsa di malattia cardiovascolare precoce se non trattata adeguatamente, presentano un rilevante rischio cardiovascolare residuo nonostante l'ottimizzazione della terapia.

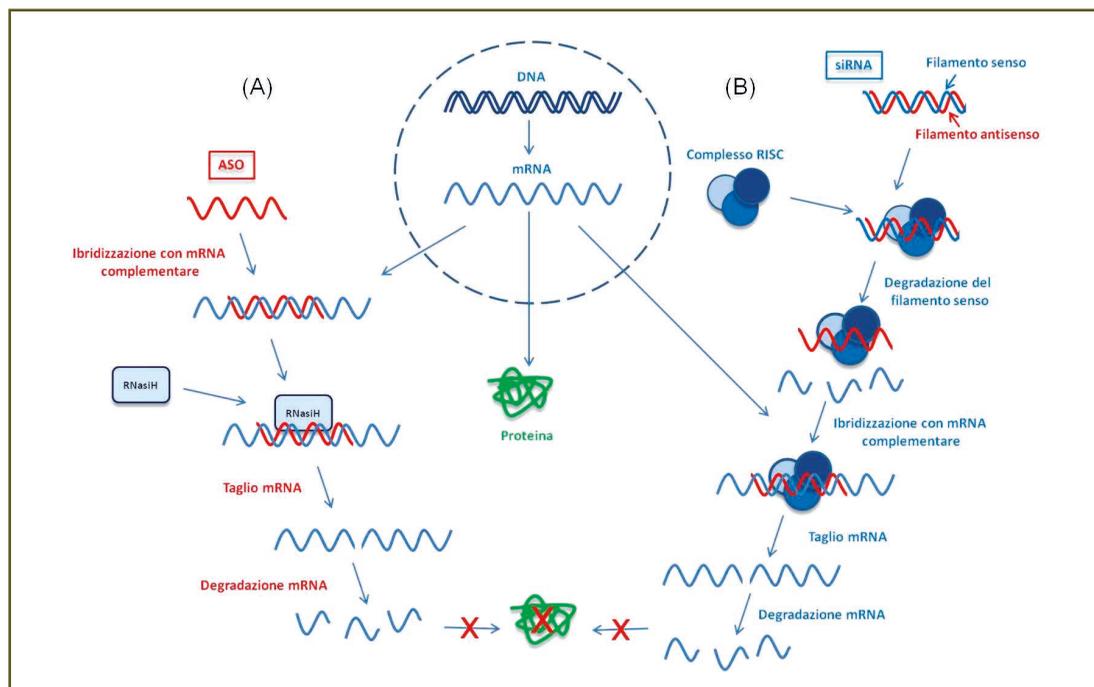
Negli ultimi anni, anche nell'ambito del trattamento delle dislipidemie, c'è stato un forte sviluppo dell'approccio basato sul silenziamento genico, ovvero sulla possibilità di usare oligonucleotidi antisenso a singolo filamento o sequenze corte di RNA a doppio filamento per "spegnere" in modo specifico l'espressione di un gene. Il vantaggio di questo approccio consiste nel fatto che le molecole agiscono all'interno della cellula, prevenendo la traduzione dell'mRNA nella proteina corrispondente, mentre altri tipi di approcci (quali gli anticorpi monoclonali) possono agire solo sulla proteina circolante. La riduzione dei livelli di proteine dannose attraverso RNA interferenza è applicabile a tutti i bersagli molecolari, inclusi quelli che sono difficilmente attaccabili con i tradizionali approcci farmacologici a base di piccole molecole o proteine. Questo ha portato allo sviluppo di diversi farmaci biologici per il controllo delle dislipidemie. Obiettivo di questa rassegna è presentare e discutere i dati recenti ottenuti con l'approccio del silenziamento genico in ambito cardiovascolare.

## Il silenziamento genico

Il silenziamento genico è un processo post-trascrizionale di controllo dell'espressione genica che sfrutta la capacità di una

sequenza oligonucleotidica "antisenso" di ibridizzarsi con uno specifico mRNA target ("senso"), rendendolo non accessibile per la traduzione nella proteina corrispondente e determinando la sua degradazione da parte di specifiche nucleasi. Attualmente esistono due strategie di silenziamento genico che sono state sviluppate a fini farmacologici: gli oligonucleotidi antisenso (ASO) e gli *small interfering RNA* (siRNA) (Figura 1).

Gli oligonucleotidi antisenso, o ASO, sono brevi sequenze nucleotidiche a singolo filamento di DNA (o RNA) disegnate per legarsi in modo specifico a un mRNA e inibire la sintesi della proteina corrispondente. Gli ASO tal quali hanno una bassa affinità per l'mRNA bersaglio; per questo motivo sono state introdotte modificazioni chimiche dei nucleotidi (introduzione di gruppi alchilici -2'-*O*-metile o 2'-*O*-metossietile- nella posizione 2' dello zucchero) che aumentano l'affinità per la sequenza complementare, permettendo così di ridurre i dosaggi (1). Inoltre, gli ASO sono soggetti a rapida degradazione da parte delle nucleasi; sono quindi state introdotte una serie di modificazioni chimiche della molecola inserendo oligonucleotidi fosforotioati, in cui un atomo di ossigeno non coinvolto nei legami è sostituito con un atomo di zolfo: questo determina una maggiore stabilità, una maggiore resistenza all'attività delle nucleasi e un'emivita più lunga (1). La somministrazione di ASO può indurre tossicità; questa può derivare sia da un eccessivo effetto farmacologico, sia dalla possibilità che l'ASO legghi un mRNA diverso da quello target; inoltre l'ASO può accumularsi, o indurre una risposta pro-infiammatoria oppure ancora legarsi a proteine cellulari, o infine dare tossicità epatica o renale (2). Un altro effetto osservato con la somministrazione di ASO è la comparsa di



**Figura 1 - Meccanismo d'azione di ASO e siRNA.** (A) L'oligonucleotide antisense (ASO) si lega alla sequenza complementare di uno specifico mRNA, determinando il taglio enzimatico (mediato da RNasi H) dell'mRNA stesso e la sua successiva degradazione. (B) il siRNA a doppio filamento si associa al complesso enzimatico RISC; il filamento senso viene degradato, mentre quello antisenso può ibridizzarsi all'mRNA complementare, che viene tagliato ad opera di una nucleasi e successivamente degradato ad opera di ribonucleasi.

trombocitopenia (2), che in alcuni studi ha interessato dal 20% al 60% dei pazienti trattati, portando all'interruzione del trattamento stesso.

Questo effetto collaterale sembra indipendente dalla sequenza ma piuttosto legato alla chimica degli ASO. Questa osservazione lascia spazio alla formulazione di ASO con caratteristiche chimiche differenti volte a minimizzare questo importante effetto collaterale.

Il processo di interferenza dell'RNA (RNA interference, RNAi) è un meccanismo di silenziamento genico post-trascrizionale comune a tutti gli organismi e altamente conservato, basato sulla capacità di frammenti di RNA a doppio filamento non codificanti (*double stranded RNA*, dsRNA) di prevenire l'espressione di uno specifico

gene attraverso l'appaiamento con mRNA bersaglio, seguito dalla sua degradazione. Questo avviene fisiologicamente attraverso un complesso processo che coinvolge più componenti. Inizialmente una lunga molecola di RNA a doppio filamento viene tagliata in un RNA a doppio filamento più corto contenente 20-25 nucleotidi (siRNA) che viene incorporato in un complesso enzimatico (*RNA-induced silencing complex*, RISC) e ridotto a singolo filamento: il filamento antisenso (quello attivo) rimane legato al complesso, mentre il filamento senso viene degradato. In presenza di un mRNA complementare, avviene l'ibridizzazione al filamento antisenso, seguita dall'attivazione di un enzima presente nel complesso RISC che opera un taglio sull'mRNA e dalla degradazione dei due

frammenti così generati. Il risultato finale è l'inibizione dell'espressione di uno specifico gene (Figura 1). Il filamento antisenso di RNA rimane protetto dal complesso RISC a lungo, creando una condizione per cui può silenziare l'espressione genica anche in un momento successivo. La scoperta di questo meccanismo ha permesso a C. Mello e A. Fire (3) di vincere il premio Nobel per la Medicina nel 2006. Questo processo fisiologico è subito diventato oggetto di intensi studi per sviluppare approcci farmacologici in grado di bersagliare geni specifici. Un vantaggio dell'RNAi è che non modifica direttamente il DNA, e quindi pone meno problemi sia dal punto di vista della sicurezza che dal punto di vista etico.

Anche la struttura dei siRNA viene ottimizzata attraverso modificazione con 2'-O-metile nel filamento antisenso, aumento della stabilità (fosforotioati per inibire l'attività delle nucleasi) e coniugazione con residui di carboidrati (N-acetilgalattosamina trivalente, GalNAc) per migliorare il tropismo epatico. Nell'ultimo caso infatti, il complesso GalNAc viene riconosciuto da un recettore specifico a livello epatico (ASGPR o recettore per le asialoglicoproteine), portando alla ve-

colazione del siRNA nel fegato. Grazie a queste modificazioni, i siRNA hanno un'elevata stabilità, sono resistenti all'azione delle nucleasi e hanno una farmacocinetica migliore rispetto ai siRNA non coniugati. Il risultato farmacologico è un robusto e duraturo silenziamento dell'mRNA target nel fegato.

### Terapie ipocolesterolemizzanti basate sul silenziamento genico

Nel panorama dei numerosi farmaci per il controllo dell'ipercolesterolemia (4), occupano uno spazio sempre più im-

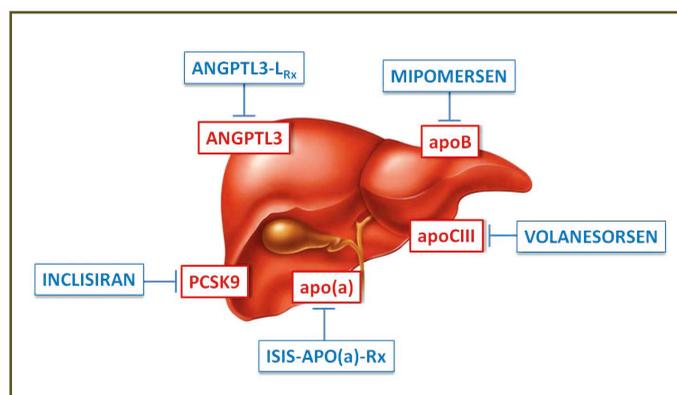


Figura 2 - Target epatici e approcci farmacologici basati sul silenziamento genico per il trattamento delle dislipidemie.

Tabella 1 - Approcci farmacologici basati sul silenziamento genico nell'ambito delle dislipidemie.

ASO o siRNA	Target	Riduzione % del target	Riduzioni %	Fase di sviluppo
Mipomersen	Apolipoproteina B	19%-54%	LDL-C: 13%-34%	Approvato
Inclisiran	PCSK9	32%-74,5%	LDL-C: Singola dose: 27,9%-41,9% Doppia dose: 35,5%-52,6%	FASE III
Volanesorsen	Apolipoproteina CIII	19,7%-90%	HTG TG: Monoterapia: 31,3%-71% Combinazione con fibrati: 51%-64% FCS TG: 56%-80%	FASE III
ANGPTL3-Rx	ANGPTL3	46,6%-84,5%	TG: 33,2%-63,1%	FASE II
ISIS-APO(a)-Rx	Apolipoproteina(a)	-	Lp(a): 26,2%-92%	FASE II

Abbreviazioni: HTG: ipertrigliceridemia; FCS: familial chylomicron syndrome.

portante i farmaci biologici, che includono gli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 (5) e i farmaci basati sul silenziamento genico quali gli inibitori dell'apolipoproteina B (mipomersen) (6) o di PCSK9 (inclisiran) (7) (Figura 2, Tabella 1).

### *Mipomersen*

L'apolipoproteina B è la principale apoproteina presente in LDL, VLDL, chilomicroni e Lp(a) ed è fondamentale per l'assemblaggio di queste lipoproteine a livello epatico ed intestinale. Elevati livelli plasmatici di apoB rappresentano un fattore di rischio cardiovascolare (8), suggerendo che la sua inibizione possa rappresentare un possibile target farmacologico per il trattamento dell'ipercolesterolemia. A questo scopo è stato sviluppato mipomersen, un oligonucleotide antisense di seconda generazione, che lega l'mRNA che codifica per apoB, inibendo la sintesi di apoB e, come conseguenza, di tutte le lipoproteine pro-aterogene contenenti apoB. Dato che il meccanismo di riduzione dei livelli di LDL-C è indipendente dal recettore LDL (LDLR) (9), il farmaco è efficace anche nei pazienti con FH che presentano mutazioni sul gene che codifica per LDLR associate ad una mancanza totale o ad una riduzione importante dell'attività di questo recettore. Mipomersen è stato approvato negli Stati Uniti per il trattamento dell'ipercolesterolemia familiare omozigote, mentre gli importanti effetti collaterali hanno portato l'EMA a non concedere l'autorizzazione in Europa. Mipomersen riduce significativamente i livelli di colesterolo sia in monoterapia che quando somministrato in combinazione con altri farmaci ipolipemizzanti, sia in pazienti con ipercolesterolemia familiare omozigote (HoFH) che eterozigote (HeFH) (10-12). Il farmaco è caratterizzato da una rapida distribuzio-

ne ai tessuti e ha un'emivita di circa 30 giorni; la concentrazione all'equilibrio viene raggiunta dopo circa 4-6 mesi di somministrazione settimanale. Poiché non viene metabolizzato dal sistema del citocromo P450 e non inibisce questi enzimi, mipomersen non mostra interazioni farmacocinetiche clinicamente rilevanti con altri farmaci ipolipemizzanti che potrebbero essere somministrati in concomitanza a questi pazienti, quali statine o ezetimibe (13).

Nei soggetti HoFH, mipomersen riduce i livelli di LDL-C fino al 21% ( $p=0,0003$ ) e di Lp(a) fino al 23% ( $p=0,0013$ ) (12). Il trattamento di pazienti HeFH già in terapia con farmaci ipolipemizzanti convenzionali riduce ulteriormente sia i livelli di LDL-C (fino a -37%,  $p<0,001$ ) che di Lp(a) (fino a -29%,  $p<0,05$ ) (10). Questa ulteriore diminuzione è da attribuirsi al diverso meccanismo d'azione di mipomersen. Anche soggetti HeFH con malattia cardiovascolare beneficiano del trattamento con mipomersen, che riduce significativamente i livelli di LDL-C (differenza mipomersen-placebo: -28%,  $p<0,001$ ) e Lp(a) (-21,1%,  $p<0,001$ ) (11). Il principale evento avverso osservato durante lo studio clinico è stata la reazione nel sito di iniezione associata in alcuni casi a sindrome simil-influenzale (12). In alcuni pazienti è stato osservato un aumento delle transaminasi il cui significato clinico è ancora poco chiaro (11). Questo effetto è stato evidenziato anche in due meta-analisi che, pur confermando l'effetto ipolipemizzante di mipomersen, hanno comunque riportato un aumento degli enzimi epatici e steatosi (14, 15). Quest'ultimo effetto, osservato prevalentemente in studi a breve termine, sembra essere transitorio, in quanto studi a più lungo termine (fino a 104 settimane) hanno osservato un ritorno ai valori basali dei livelli epatici di TG

(16, 17). Biopsie epatiche di soggetti in trattamento con mipomersen hanno evidenziato la presenza di steatosi semplice non associata ad infiammazione o fibrosi (18), situazione successivamente confermata in uno studio a lungo termine condotto in pazienti con FH (sia HeFH che HoFH) (19). L'aumento dell'incidenza di steatosi è la conseguenza diretta del meccanismo d'azione del farmaco e implica la necessità di associare una dieta controllata povera in lipidi durante la terapia con mipomersen.

### *Inclisiran*

Inclisiran è un oligonucleotide sintetico di RNA a doppio filamento (siRNA) disegnato con nucleotidi modificati per aumentarne l'emivita (7) e coniugato con tre molecole di N-acetilgalattosamina (GalNAc), che, attraverso il legame ai recettori ASGPR, abbondantemente espressi nel fegato, favoriscono la distribuzione del farmaco negli epatociti con elevata selettività. Il siRNA è disegnato per silenziare in modo selettivo PCSK9 nel fegato (7). PCSK9 è una proteina che regola i livelli di LDL-C attraverso il controllo dell'emivita di LDLR (5). Livelli elevati di PCSK9 portano ad una riduzione dell'espressione di LDLR e, come conseguenza, a elevati livelli di LDL-C; viceversa, l'inibizione di PCSK9 induce aumento dei livelli di LDLR e aumento del catabolismo delle LDL (5).

Studi di fase 1 condotti in volontari sani con livelli plasmatici di LDL-C  $\geq 100$  mg/dL hanno mostrato che il trattamento con inclisiran per 3 mesi riduce significativamente i livelli di PCSK9 (~70% con dosaggi >300 mg) e LDL-C (~50% con dosaggi >100 mg) (7). Durante il periodo di trattamento non sono stati riportati eventi avversi clinicamente rilevanti. Successivamente, inclisiran è stato testato in

pazienti ad alto rischio cardiovascolare e con livelli di LDL-C >70 mg/dL in presenza di pregressa malattia cardiovascolare aterosclerotica o >100 mg/dL in assenza di malattia cardiovascolare (20). I pazienti sono stati randomizzati in due gruppi: il primo ha ricevuto una singola somministrazione di inclisiran (200, 300 o 500 mg) mentre il secondo due somministrazioni (la prima al giorno 1 e la seconda al giorno 90; 100, 200 o 300 mg) (20). A sei mesi dalla somministrazione della prima dose, i livelli di LDL-C sono risultati significativamente inferiori in entrambi i gruppi rispetto al basale, con riduzioni medie da -28% a -42% nel gruppo che ha ricevuto la singola somministrazione e da -35% a -53% nel gruppo che ha ricevuto due somministrazioni (20). La riduzione maggiore è stata osservata nel gruppo che ha ricevuto il dosaggio di 300 mg e due somministrazioni; il 48% dei pazienti trattati in questo gruppo sperimentale ha raggiunto livelli di LDL-C inferiori a 50 mg/dL (20).

È interessante sottolineare come i livelli di LDL-C si siano mantenuti ridotti fino a 240 giorni dopo la prima somministrazione (20). Inclisiran è attualmente in attivo sviluppo clinico e i principali studi ne stanno valutando la sicurezza e l'efficacia anche in pazienti FH (NCT03397121, NCT02963311). È attualmente in preparazione ORION-4, uno studio di *outcome* cardiovascolari che arruolerà oltre 15.000 pazienti con malattia cardiovascolare aterosclerotica che assumeranno il farmaco per circa 5 anni.

Ad oggi, i dati disponibili mostrano che inclisiran mantiene la sua efficacia nel diminuire i livelli di LDL-C con un regime posologico di 2 somministrazioni all'anno rispetto alle 12-16 somministrazioni annue degli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 o la somministrazione giornaliera di altri

farmaci ipolipemizzanti. Una differenza importante di inclisiran rispetto agli anticorpi monoclonali è che il farmaco riduce sia i livelli circolanti che quelli intracellulari (epatici) di PCSK9; l'effetto sui livelli intracellulari potrebbe contribuire a migliorare l'efficacia ma potrebbe anche smascherare effetti inattesi legati al blocco di PCSK9. Gli studi in corso saranno cruciali per rispondere a questi quesiti.

### Silenziamento genico per il controllo dell'ipertrigliceridemia

La comprensione dei meccanismi molecolari responsabili del controllo del metabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TG) ha portato negli ultimi 10-15 anni a identificare e caratterizzare diversi fattori che agiscono come inibitori o attivatori delle lipasi. Sulla base di queste osservazioni, la ricerca farmacologica si è orientata verso lo studio di strategie per controllare quelle proteine che inibiscono l'attività delle lipasi, e in particolare della lipasi lipoproteica (LPL), o che concorrono a rallentarne il catabolismo. Apolipoproteina CIII e angiopoietina-like 3 rappresentano due di queste proteine e ad oggi sono in corso diversi studi clinici per valutare l'efficacia di strategie di silenziamento genico su questi target per il trattamento delle iperlipidemie miste o dell'ipertrigliceridemia (*Figura 2, Tabella 1*).

#### *Volanesorsen*

Apolipoproteina CIII (apoCIII) è una proteina sintetizzata prevalentemente nel fegato che svolge un ruolo chiave nel controllare i livelli circolanti di TG, chilomicroni e lipoproteine ricche in TG, mediante diversi meccanismi. ApoCIII infatti, inibisce l'attività della lipoproteina lipasi (LPL), enzima chiave nel metaboli-

simo delle lipoproteine ricche in TG, interferisce con il legame di apoB o apoE a recettori epatici, inibendo quindi il catabolismo delle lipoproteine remnant, e influenza il processo epatico di assemblaggio e secrezione delle VLDL (21). Elevati livelli plasmatici di apoCIII sono associati alla progressione della malattia cardiovascolare indipendentemente dagli altri fattori di rischio (22). La riduzione di 1 mg/dL dei livelli plasmatici di apoCIII si associa a una riduzione del 4% del rischio di malattia coronarica (23); in linea con questa osservazione, individui portatori di mutazioni *loss-of-function* (LOF) di apoCIII hanno ridotti livelli di TG e un rischio significativamente ridotto di malattia coronarica (-40%) (23) e di malattia cardiovascolare ischemica (~-40%) (24). Queste osservazioni supportano l'inibizione di apoCIII come possibile approccio per il trattamento dell'ipertrigliceridemia (HTG). Infatti molti farmaci ipolipemizzanti usati per ridurre i livelli di TG, inclusi fibrati, statine, e acidi grassi polinsaturi omega-3, agiscono riducendo i livelli di apoCIII (21) del 10-30%; tuttavia, un'importante riduzione del rischio cardiovascolare è stata osservata quando i livelli di apoCIII scendono almeno del 50%, come nel caso dei soggetti portatori di mutazioni LOF. Questo ha portato la ricerca farmacologica a testare l'efficacia di un trattamento basato sul silenziamento genico di apoCIII.

Volanesorsen (ISIS-APOCIII<sub>Rx</sub>) è un ASO modificato di seconda generazione ideato per ridurre la sintesi epatica e i livelli circolanti di apoCIII. Dati preclinici in diversi modelli animali hanno dimostrato che volanesorsen inibisce la sintesi di apoCIII (riduzione dell'mRNA: 66%-98%) e riduce massivamente i livelli di TG (fino all'89%) e VLDL, con un buon profilo di tolleranza e sicurezza, senza de-

terminare aumentata deposizione epatica di TG o epatotossicità (25). Studi di fase I in volontari sani hanno riportato una riduzione dose-dipendente dei livelli di apoCIII (19,7%→77%) e TG (19,5%→43,8%) in seguito a trattamento con volanesorsen per circa 3 settimane, senza mostrare cambiamenti importanti nei livelli degli enzimi epatici (25). Gli studi di fase 2 hanno dimostrato l'efficacia di volanesorsen sia in monoterapia sia in combinazione con fibrati in soggetti con diverse forme di HTG (26-28). Il farmaco è risultato efficace in pazienti con diabete di tipo 2 e HTG portando anche ad un miglioramento della sensibilità all'insulina (29). In soggetti affetti da sindrome da chilomicronemia familiare (FCS), una dislipidemia genetica causata da mutazioni nel gene LPL o in geni che codificano per proteine che modulano l'attività di LPL e caratterizzata da elevati livelli di chilomicroni e severa HTG (30), volanesorsen riduce i livelli circolanti di apoCIII fino al 70-90% con una conseguente riduzione dei livelli di TG dal 55 all'85% (31). Gli studi di fase 3 APPROACH (condotto in pazienti con FCS) e COMPASS (condotto in pazienti con HTG) hanno confermato l'efficacia di volanesorsen nel ridurre in modo significativo i livelli plasmatici di TG (del 77% e del 71%, rispettivamente) (32, 33); questo effetto è stato associato anche alla riduzione della frequenza di pancreatiti che caratterizza i pazienti affetti da FCS (33, 34). Durante il trattamento non sono stati osservati eventi avversi a livello renale o epatico; nello studio APPROACH è stata osservata una riduzione della conta piastrinica che ha portato 5 soggetti a sospendere lo studio (2 dei quali con conte <25,000/μl, risolto con la sospensione del trattamento) (32), mentre non è stata riscontrata trombocitopenia nello studio COMPASS (33). Anomalie della coagula-

zione e trombocitopenia sono stati riportati anche in seguito alla somministrazione di altri ASO, suggerendo la possibilità di un effetto di classe. Tuttavia, l'analisi dei dati ottenuti in diversi studi clinici che hanno testato l'effetto degli ASO non ha riportato evidenze di trombocitopenia clinicamente rilevanti (35).

Attualmente è anche in corso uno studio per la valutazione di volanesorsen in pazienti con lipodistrofia parziale familiare (BROADEN, NCT02527343), patologia caratterizzata da HTG, anomalie nella distribuzione del grasso corporeo e disordini metabolici quali insulino-resistenza, steatosi epatica, dislipidemia. Lo studio, oltre a indagare la riduzione dei livelli di TG dopo 13 settimane di trattamento, valuterà anche variazioni del contenuto di grasso epatico.

#### *ANGPTL3LRx*

Angiopietina-like 3 (ANGPTL3) è un inibitore endogeno di due enzimi coinvolti nel metabolismo delle lipoproteine, LPL e lipasi endoteliale (EL) (36). La mancanza del gene *ANGPTL3* in topi apoE KO riduce notevolmente la formazione di placca aterosclerotica (37). Nell'uomo, mutazioni LOF nel gene *ANGPTL3* sono associate a ridotti livelli di TG, LDL-C e HDL-C e a una significativa riduzione del rischio di malattia coronarica e di infarto del miocardio. In accordo, soggetti con livelli di ANGPTL3 nel terzile più basso hanno una significativa riduzione del rischio di infarto miocardico rispetto a soggetti con livelli nel terzile più alto (38, 39). Queste osservazioni hanno suggerito ANGPTL3 come possibile target farmacologico per il trattamento delle iperlipidemie miste, ed è interessante il fatto che l'attività ipocolesterolemizzante sia indipendente dal recettore LDL, suggerendo che l'inibizione farmacologica di questa proteina potrebbe

avere un'importante applicazione anche nel trattamento dei pazienti FH (40). Sono stati sviluppati due approcci per inibire ANGPTL3, uno mediante l'utilizzo di un anticorpo monoclonale (evinacumab), l'altro tramite il metodo del silenziamento genico. ANGPTL3<sub>Rx</sub>, rappresenta un oligonucleotide antisense di seconda generazione contenente nucleotidi modificati che conferiscono un'aumentata affinità per l'mRNA target, una maggiore resistenza a endonucleasi ed esonucleasi e una ridotta tossicità alle alte dosi, associato quindi a un migliore profilo di sicurezza (41). Il composto è stato inoltre modificato per migliorare l'attività dell'enzima RNasi H1 attraverso l'introduzione di modificazioni nella porzione centrale dell'oligonucleotide (41). L'ulteriore evoluzione della sintesi degli ASO ha portato a formulare ANGPTL3-L<sub>Rx</sub>, un ASO di terza generazione a cui sono stati legati covalentemente tre residui di GalNac per favorire il riconoscimento specifico da parte dei recettori ASGPR del fegato (41), aumentandone l'efficacia nel tessuto che la produce maggiormente e permettendo la riduzione del dosaggio.

In diversi modelli animali, il trattamento con ANGPTL3<sub>Rx</sub> ha ridotto notevolmente i livelli di proteina ANGPTL3, con contemporanea riduzione dei livelli di TG, LDL-C, contenuto epatico di TG, progressione dell'aterosclerosi e miglioramento della sensibilità all'insulina (41). La somministrazione per 6 settimane in soggetti con elevati livelli di TG plasmatici ha prodotto una riduzione dose-dipendente dei livelli circolanti di proteina ANGPTL3 (47%-84%), associata ad una riduzione dei livelli di TG (33%-63%), LDL-C (1.3%-33%), VLDL-C (28%-60%) e apoCIII (19%-59%) (41). Durante il trattamento non sono stati riportati eventi avversi gravi, e rispetto agli ASO delle precedenti generazioni non

è stata riportata evidenza di effetti pro-trombotici, episodi di sanguinamento, riduzione della conta piastrinica, suggerendo il superamento dei problemi legati alla formulazione dell'ASO con oligonucleotidi fosforotioati (41).

### **Silenziamento genico per il controllo di elevati livelli di lipoproteina (a)**

#### *ISIS-APO(a)Rx*

Numerosi studi epidemiologici hanno evidenziato come livelli elevati di lipoproteina (a) (Lp(a)) si associno ad aumentato rischio cardiovascolare (42). Più recentemente, studi genetici hanno suggerito un ruolo causale per Lp(a) nella comparsa di infarto al miocardio, malattia ischemica e stenosi alla valvola aortica (43-46). I meccanismi attraverso i quali Lp(a) favorisce l'aterotrombosi sono ancora discussi e coinvolgono sia la componente LDL che apo(a). Quest'ultima sembra avere un'importante ruolo pro-infiammatorio, associato a disfunzione endoteliale, aumento del reclutamento di monociti nella parete vascolare, maturazione a macrofagi e trasformazione in cellule schiumose; inoltre rappresenta una molecola in grado di trasportare fosfolipidi ossidati ma anche di inibire la fibrinolisi (47).

Queste osservazioni hanno supportato lo sviluppo di strategie farmacologiche volte a controllare Lp(a). Tra queste sembra essere particolarmente promettente la possibilità di silenziare apo(a) (*Figura 2*) ed a questo scopo è stato generato un oligonucleotide antisense in grado di ridurre l'espressione epatica e la concentrazione plasmatica di apo(a) nei primati di più dell'80% (48). Gli studi di fase I hanno mostrato come sei somministrazioni di ASO (ISIS-APO(a)<sub>Rx</sub>) a dosaggi da 100 a 300 mg in soggetti con

livelli di Lp(a) attorno ai 40 mg/dL porti ad una riduzione dei livelli di Lp(a) dose-dipendente dal 40% fino al 78% (49). Successivamente sono state apportate modifiche alla molecola per favorirne la veicolazione epatica attraverso l'aggiunta di GalNac che favorisce il riconoscimento selettivo da parte del recettore epatico ASGPR. Questo ASO di terza generazione (ISIS-APO(a)-L<sub>Rx</sub>) è risultato essere 30 volte più potente di quello precedente, permettendo di utilizzare dosaggi di farmaco inferiori (10-40 mg). I dati degli studi di fase II hanno mostrato in pazienti con livelli di Lp(a) al basale attorno ai 60 mg/dL una riduzione dei livelli fino al 92% (50) (Tabella 1). Non sono stati osservati effetti collaterali maggiori nei pazienti trattati con ASO, tuttavia nel 20% dei pazienti sono emersi sintomi collegati a risposta simil-influenzale. Attualmente è in corso uno studio di fase 2b con lo scopo di verificare la sicurezza e l'efficacia di diversi dosaggi di APO(a)-L<sub>Rx</sub> in 270 pazienti con elevati livelli di apo(a) (NCT03070782) ed i risultati sono attesi per fine 2018. I risultati di questo studio saranno cruciali per decidere dosaggio e frequenza di somministrazione per gli studi di fase III pianificati per valutare il beneficio della terapia sull'*outcome* cardiovascolare.

È importante ricordare come basse concentrazioni di Lp(a) siano state associate con un aumento del rischio di diabete di tipo II (51, 52), in particolare per livelli inferiori a 5 mg/dL. Dato che una terapia aggressiva con gli ASO potrebbe ridurre fino al 90% i livelli di Lp(a), questo aspetto andrà monitorato con attenzione negli studi futuri; tuttavia è difficile ipotizzare

che in pazienti con livelli elevati di Lp(a) la terapia con ASO anti-apo(a) riduca Lp(a) a livelli così bassi. L'osservazione che livelli elevati di Lp(a) sono associati a protezione da sanguinamenti maggiori nel cervello e nelle vie aeree (53) suggerisce anche la necessità di valutare negli studi clinici di *outcome* cardiovascolare se un approccio aggressivo di riduzione dei livelli di Lp(a) possa aumentare il rischio di sanguinamento.

Dato il ruolo causale di Lp(a) nella malattia cardiovascolare, la riduzione dei suoi livelli nei soggetti a rischio cardiovascolare rappresenterà uno degli obiettivi terapeutici futuri e la strategia di silenziamento genico è ad oggi quella in fase più avanzata di sviluppo clinico.

### Conclusioni e prospettive future

L'approccio di silenziamento genico con ASO o con siRNA rappresenta un passo decisivo verso lo sviluppo di una terapia personalizzata anche nell'ambito delle dislipidemie. L'evoluzione del disegno di questi farmaci ha portato allo sviluppo di molecole con un ottimo profilo farmacocinetico che permettono di ridurre la frequenza di somministrazione e di migliorare il profilo di sicurezza. Numerosi studi clinici supportano l'efficacia dei diversi trattamenti nel ridurre i livelli di lipidi o lipoproteine circolanti; tuttavia è necessario attendere i risultati degli studi di follow-up a lungo termine per capire se la riduzione dei livelli di lipidi circolanti si possa tradurre in un beneficio cardiovascolare e rassicurare sul profilo di sicurezza e tollerabilità di questo approccio farmacologico.

**RIASSUNTO**

Nonostante i progressi nel trattamento delle dislipidemie, c'è ancora la necessità di sviluppare nuovi approcci farmacologici in grado di correggere le alterazioni nel metabolismo di lipidi/lipoproteine per ridurre il rischio cardiovascolare residuo, che persiste anche nei pazienti trattati con terapia ottimale. Negli ultimi anni, il meccanismo fisiologico di silenziamento genico, un processo post-trascrizionale tramite cui le cellule regolano l'espressione genica "spegnendo" selettivamente geni specifici, è stato traslato in ambito farmacologico e, in particolare, è stata sviluppata una tecnologia basata sia su oligonucleotidi antisenso a singolo filamento (ASO) che su piccoli RNA a doppio filamento (siRNA) in grado di inibire l'espressione di specifici geni coinvolti nel metabolismo lipidico. Tra questi sono stati sviluppati oligonucleotidi antisenso contro gli mRNA che codificano per apolipoproteina B, la principale proteina presente nelle lipoproteine aterogene, apolipoproteina CIII o angiopoietina-like 3, coinvolte nella regolazione dei livelli di trigliceridi, o apolipoproteina(a), per ridurre i livelli di lipoproteina(a). È stato sviluppato anche un siRNA per inibire PCSK9, una proteina che regola i livelli circolanti di colesterolo LDL. Questi approcci di silenziamento genico sono altamente specifici e quindi possono essere usati a basse dosi e somministrati con frequenze inferiori rispetto alle terapie convenzionali. Rispetto alle prime generazioni di ASO o siRNA, le modificazioni introdotte nelle molecole hanno permesso di migliorare il quadro degli effetti tossici off-target. Gli studi clinici condotti finora hanno dimostrato l'efficacia di questo tipo di approccio, ma sono necessari ulteriori studi per valutare sia la sicurezza a lungo termine che l'efficacia in termini di protezione cardiovascolare.

**Parole chiave:** *Silenziamento genico; oligonucleotidi antisenso; siRNA; dislipidemia; malattia cardiovascolare.*

**Bibliografia**

1. Watts JK, Corey D.R. Silencing disease genes in the laboratory and the clinic. *J Pathol.* 2012; 226: 365-379.
2. Frazier KS. Antisense oligonucleotide therapies: the promise and the challenges from a toxicologic pathologist's perspective. *Toxicol Pathol.* 2015; 43: 78-89.
3. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 1998; 391: 806-811.
4. Norata GD, Ballantyne CM, Catapano AL. New therapeutic principles in dyslipidaemia: focus on LDL and Lp(a) lowering drugs. *Eur Heart J.* 2013; 34: 1783-1789.
5. Norata GD, Tibolla G, Catapano AL. Targeting PCSK9 for hypercholesterolemia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2014; 54: 273-293.
6. Norata GD, Tibolla G, Catapano AL. Gene silencing approaches for the management of dyslipidaemia. *Trends Pharmacol Sci.* 2013; 34: 198-205.
7. Fitzgerald K, White S, Borodovsky A, Bettencourt BR, Strahs A, Clausen V, et al. A Highly Durable RNAi Therapeutic Inhibitor of PCSK9. *N Engl J Med.* 2017; 376: 41-51.
8. Sniderman AD, Williams K, Contois JH, Monroe HM, McQueen MJ, de Graaf J, Furberg CD. A meta-analysis of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B as markers of cardiovascular risk. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2011; 4: 337-345.
9. Crooke ST, Geary RS. Clinical pharmacological properties of mipomersen (Kynamro), a second generation antisense inhibitor of apolipoprotein B. *Br J Clin Pharmacol.* 2013; 76: 269-276.
10. Akdim F, Visser ME, Tribble DL, Baker BF, Stroes ES, Yu R, et al. Effect of mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, on low-density lipoprotein cholesterol in patients with familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 2010; 105: 1413-1419.
11. Stein EA, Dufour R, Gagne C, Gaudet D, East C, Donovan JM, et al. Apolipoprotein B synthesis inhibition with mipomersen in heterozygous familial hypercholesterolemia: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial to assess efficacy and safety as add-on therapy in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 2012; 126: 2283-2292.
12. Raal FJ, Santos RD, Blom DJ, Marais AD, Chang MJ, Cromwell WC, et al. Crooke, Mipomersen, an apolipoprotein B synthesis inhibitor, for lowering of LDL cholesterol concentrations in patients with homozygous familial hypercholesterolemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2010; 375: 998-1006.

13. Geary RS, Baker BF, Crooke ST. Clinical and preclinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mipomersen (kynamro<sup>®</sup>): a second-generation antisense oligonucleotide inhibitor of apolipoprotein B. *Clin Pharmacokinet*. 2015; 54: 133-146.
14. Li N, Li Q, Tian XQ, Qian HY, Yang YJ. Mipomersen is a promising therapy in the management of hypercholesterolemia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2014; 14: 367-376.
15. Panta R, Dahal K, Kunwar S. Efficacy and safety of mipomersen in treatment of dyslipidemia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Lipidol*. 2015; 9: 217-225.
16. Sahebkar A, Watts GF. New LDL-cholesterol lowering therapies: pharmacology, clinical trials, and relevance to acute coronary syndromes. *Clin Ther*. 2013; 35: 1082-1098.
17. Toth PP. Emerging LDL therapies: Mipomersen-antisense oligonucleotide therapy in the management of hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2013; 7: S6-10.
18. Hashemi N, Odze RD, McGowan MP, Santos RD, Stroes ES, Cohen DE. Liver histology during Mipomersen therapy for severe hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2014; 8: 606-611.
19. Santos RD, Duell PB, East C, Guyton JR, Moriarty PM, Chin W, Mittleman RS. Long-term efficacy and safety of mipomersen in patients with familial hypercholesterolaemia: 2-year interim results of an open-label extension. *Eur Heart J*. 2015; 36: 566-575.
20. Ray KK, Landmesser U, Leiter LA, Kallend D, Dufour R, Karakas M, et al. Inclisiran in Patients at High Cardiovascular Risk with Elevated LDL Cholesterol. *N Engl J Med*. 2017; 376: 1430-1440.
21. Norata GD, Tsimikas S, Pirillo A, Catapano AL. Apolipoprotein C-III: From Pathophysiology to Pharmacology. *Trends Pharmacol Sci*. 2015; 36: 675-687.
22. Ooi EM, Barrett PH, Chan DC, Watts GF. Apolipoprotein C-III: understanding an emerging cardiovascular risk factor. *Clin Sci (Lond)*. 2008; 114: 611-624.
23. Crosby J., Peloso G.M., Auer P.L., Crosslin D.R., Stitzel N.O., Lange L.A., et al. Loss-of-function mutations in APOC3, triglycerides, and coronary disease. *N Engl J Med*. 2014; 371: 22-31.
24. Jorgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Loss-of-function mutations in APOC3 and risk of ischemic vascular disease. *N Engl J Med*. 2014; 371: 32-41.
25. Graham MJ, Lee RG, Bell TA 3rd, Fu W, Mullick AE, Alexander VJ, et al. Antisense oligonucleotide inhibition of apolipoprotein C-III reduces plasma triglycerides in rodents, nonhuman primates, and humans. *Circ Res*. 2013; 112: 1479-1490.
26. Gaudet D, Alexander VJ, Baker BF, Brisson D, Tremblay K, Singleton W, et al. Antisense inhibition of apolipoprotein C-III in patients with hypertriglyceridemia. *N Engl J Med*. 2015; 373: 438-447.
27. Yang X, Lee SR, Choi YS, Alexander VJ, Digenio A, Yang YI, et al. Reduction in lipoprotein-associated apoC-III levels following volanesorsen therapy: phase 2 randomized trial results. *J Lipid Res*. 2016; 57: 706-713.
28. Alexander VJ, Gaudet D, Brisson D, Flaim J, Hughes S, Singleton W, Geary RS. Antisense inhibitor of apoC-III produces significant decreases in apoC-III and triglycerides and increases in HDL-C as a single agent or in combination with fibrates in hypertriglyceridemic patients. *European Heart Journal*. 2014; 35: 218-219.
29. Digenio A, Dunbar RL, Alexander VJ, Hompesch M, Morrow L, Lee RG, et al. Antisense-Mediated Lowering of Plasma Apolipoprotein C-III by Volanesorsen Improves Dyslipidemia and Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2016; 39: 1408-1415.
30. Brahm AJ, Hegele RA. Chylomicronaemia—current diagnosis and future therapies. *Nat Rev Endocrinol*. 2015; 11: 352-362.
31. Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, Alexander VJ, Singleton W, Hughes SG, et al. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med*. 2014; 371: 2200-2206.
32. Gaudet D, Digenio A, Alexander VJ, Arca M, Jones AF, Stroes E, et al. The APPROACH Study: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Study of Volanesorsen Administered Subcutaneously to Patients with Familial Chylomicronemia Syndrome (FCS). *J Clin Lipidol*. 2017; 11: 814-815.
33. Gouni-Berthold I, Alexander V, Digenio A, Dufour R, Steinhagen-Thiessen E, Martin S, et al. Apolipoprotein C-III Inhibition With Volanesorsen in Patients With Hypertriglyceridemia (COMPASS): A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *J Clin Lipidol*. 2017; 11: 794-795.
34. Gelrud A, Digenio A, Alexander V, Williams K, Hsieh A, Gouni-Berthold I, et al. Treatment with Volanesorsen (VLN) Reduced Triglycerides and Pancreatitis in Patients with FCS and sHTG vs Placebo: Results of the APPROACH and COMPASS. *J Clin Lipidol*. 2018; 12: 537.
35. Crooke ST, Baker BF, Witztum JL, Kwoh TJ, Pham NC, Salgado N, et al. The Effects of 2'-O-Methoxyethyl Containing Antisense Oligo-

- nucleotides on Platelets in Human Clinical Trials. *Nucleic Acid Ther.* 2017; 27: 121-129.
36. Tikka A, Jauhiainen M. The role of ANGPTL3 in controlling lipoprotein metabolism. *Endocrine.* 2016; 52: 187-193.
  37. Ando Y, Shimizugawa T, Takeshita S, Ono M, Shimamura M, Koishi R, Furukawa H. A decreased expression of angiopoietin-like 3 is protective against atherosclerosis in apoE-deficient mice. *J Lipid Res.* 2003; 44: 1216-1223.
  38. Stitzel NO, Khera AV, Wang X, Bierhals AJ, Vourakis AC, Sperry AE, et al. Myocardial Infarction Genetics Consortium, ANGPTL3 Deficiency and Protection Against Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2017; 69: 2054-2063.
  39. Dewey FE, Gusarova V, Dunbar RL, O'Dushlaine C, Schurmann C, Gottesman O, et al. Genetic and Pharmacologic Inactivation of ANGPTL3 and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017; 377: 211-221.
  40. Wang Y, Gusarova V, Banfi S, Gromada J, Cohen JC, Hobbs HH. Inactivation of ANGPTL3 reduces hepatic VLDL-triglyceride secretion. *J Lipid Res.* 2015; 56: 1296-1307.
  41. Graham MJ, Lee RG, Brandt TA, Tai LJ, Fu W, Peralta R, et al. Cardiovascular and Metabolic Effects of ANGPTL3 Antisense Oligonucleotides. *N Engl J Med.* 2017; 377: 222-232.
  42. Nordestgaard BG, Langsted A. Lipoprotein (a) as a cause of cardiovascular disease: insights from epidemiology, genetics, and biology. *J Lipid Res.* 2016; 57: 1953-1975.
  43. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC, Kyriakou T, Goel A, Heath SC, et al. Consortium, Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *N Engl J Med.* 2009; 361: 2518-2528.
  44. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Nordestgaard BG. Genetically elevated lipoprotein(a) and increased risk of myocardial infarction. *Jama.* 2009; 301: 2331-2339.
  45. Thanassoulis G, Campbell CY, Owens DS, Smith JG, Smith AV, Peloso GM, et al. C.E.C.W. Group, Genetic associations with valvular calcification and aortic stenosis. *N Engl J Med.* 2013; 368: 503-512.
  46. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Extreme lipoprotein(a) levels and improved cardiovascular risk prediction. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61: 1146-1156.
  47. Kronenberg F, Utermann G. Lipoprotein(a): resurrected by genetics. *J Intern Med.* 2013; 273: 6-30.
  48. Graham MJ, Viney N, Croke RM, Tsimikas S. Antisense inhibition of apolipoprotein (a) to lower plasma lipoprotein (a) levels in humans. *J Lipid Res.* 2016; 57: 340-351.
  49. Tsimikas S, Viney NJ, Hughes SG, Singleton W, Graham MJ, Baker BF, et al. Antisense therapy targeting apolipoprotein(a): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 1 study. *Lancet.* 2015; 386: 1472-1483.
  50. Viney NJ, van Capelleveen JC, Geary RS, Xia S, Tami JA, Yu RZ, et al. Antisense oligonucleotides targeting apolipoprotein(a) in people with raised lipoprotein(a): two randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trials. *Lancet.* 2016; 388: 2239-2253.
  51. Mora S, Kamstrup PR, Rifai N, Nordestgaard BG, Buring JE, Ridker PM. Lipoprotein(a) and risk of type 2 diabetes. *Clin Chem.* 2010; 56: 1252-1260.
  52. Kamstrup PR, Nordestgaard BG. Lipoprotein(a) concentrations, isoform size, and risk of type 2 diabetes: a Mendelian randomisation study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2013; 1: 220-227.
  53. Langsted A, Kamstrup PR, Nordestgaard BG. High Lipoprotein(a) and Low Risk of Major Bleeding in Brain and Airways in the General Population: a Mendelian Randomization Study. *Clin Chem.* 2017; 63: 1714-1723.

**EPIDEMIOLOGIA**

# AMBIENTE E STILE DI VITA: UNA JOINT-VENTURE PER LA PREVENZIONE DELLE MALATTIE CARDIOVASCOLARI

## Environment and lifestyle: a joint venture for the prevention of cardiovascular diseases

**SALVATORE PANICO, AMALIA MATTIELLO**

Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Università Federico II Napoli  
& Centro per l'Informazione Scientifica e la Comunicazione (CRISC) AOU Federico II Napoli

**SUMMARY**

The knowledge of the etiological role of environmental factors on cardiovascular diseases of arteriosclerotic origin has been built with delay when compared with that of tumors. Global data such as the Italian ones reveal the importance of environmental pollutants such as particulates (PM 2.5 and PM 10), whether the exposure occurs in acute periods, even for short periods, or that it takes place over a long period. They cause cardiovascular events such as myocardial infarction, cerebral stroke and the aggravation of heart failure. It follows the need to connect more preventive and curative interventions, based on the indications of a correct lifestyle (eating habits and physical activity), to a knowledge of the environmental consequences of an incorrect lifestyle.

**Key words:** *Cardiovascular diseases, lifestyle, environmental pollution, prevention, global health.*

**Background storico culturale**

Il processo conoscitivo sull'eziologia delle malattie cardiovascolari di natura arteriosclerotica è stato segnato dal fatto che fin dalla metà del primo Novecento

l'argomento principale di studio e di discussione è stato l'effetto delle abitudini alimentari e le loro conseguenze metaboliche (1). Quando dalle sperimentazioni animali si è passati agli studi di popolazione, in particolare dopo la Seconda Guerra Mondiale, si sono concretizzate le prime evidenze epidemiologiche, grazie soprattutto al Seven Countries Study ideato e condotto sotto la *leadership* di Ancel Keys. La Diet-Heart Hypothesis affermatasi con questi studi ha focalizzato l'attenzione su metabolismo e componenti della dieta

*Indirizzo per la corrispondenza*

Salvatore Panico  
Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia,  
Università Federico II Napoli & Centro per  
l'Informazione Scientifica e la Comunicazione  
Via Pansini, 5 - 80131 Napoli  
e-mail: spanico@unina.it

quotidiana (2). Non a caso sono stati i fisiologi e poi i clinici a occuparsi di questi temi consolidando così il primato dell'eziologia legata allo stile di vita, in particolare quello alimentare. La conseguenza è stata la grande attenzione alle variabili biologiche individuali (es. pressione arteriosa, colesterolemia, massa corporea), con tantissime interconnessioni tra attività clinica preventiva (azione sui fattori di rischio) e curativa. Questa storia scientifico-culturale ha visto in parallelo la grande attenzione a variabili fisiche e chimiche attive nell'ambiente da parte del mondo scientifico che analizzava l'eziologia dei tumori; prevalentemente esperti di medicina occupazionale hanno popolato questo campo di ricerca. L'attenzione iniziale è stata pertanto poco focalizzata sullo stile di vita individuale ed i clinici hanno affrontato queste patologie essenzialmente nel momento della diagnosi e delle possibili terapie. Da una parte (cardiovascolare) il primato della conoscenza eziologica veniva attribuito alla dimostrazione coerente che le abitudini alimentari e le condizioni metaboliche e vascolari determinassero il rischio di ammalarsi e di morire per queste malattie (1,2); dall'altra (le malattie oncologiche) il primato si manifestava attraverso lo studio dei fattori eziologici ambientali, a cominciare da quelli prodotti nel mondo del lavoro (basta ricordare gli studi sull'amianto) e dalle grandi catastrofi prodotte nell'ambiente dall'azione umana (vedi gli studi sui sopravvissuti alle esplosioni atomiche a Hiroshima e Nagasaki) (3, 4).

La storia scientifica ha finito per far incrociare questi due percorsi negli ultimi decenni, soprattutto negli ultimi due, così che oggi grande attenzione viene posta in campo oncologico alla cosiddetta *carcinogenesi metabolica*, vale a dire al riconoscimento del ruolo del microambiente cellulare e pericellulare nel determinare

direttamente le modificazioni dell'assetto genetico che sono alla base della trasformazione cancerosa e che con sempre maggiore evidenza appaiono legate al sistema metabolico (5). Sul versante cardiovascolare l'attenzione al rischio ambientale è andata crescendo e oggi è possibile fare riferimento a numerosi studi che ne definiscono le caratteristiche, le relazioni con le malattie cardiovascolari, i fattori di rischio e le condizioni che possono favorirne l'insorgenza o il peggioramento. Va detto che quello che viene analizzato è essenzialmente l'ambiente antropizzato, vale a dire: inquinamento ambientale, rumore, temperature, spazi verdi. Appare chiaro che esso si intrecci con stile di vita, comportamenti, contesto socio-economico. La complessità di questo intreccio include anche le abitudini alimentari e quelle legate all'attività fisica, che sono determinate dall'ambiente antropizzato e a loro volta possono determinare (spesso sfavorevolmente) le condizioni ambientali. Appare sempre più evidente che da come organizziamo la nostra vita individuale e collettiva dipende una condizione di benessere o malessere cardiovascolare. In seguito saranno riportati punti di vista e proposte formulate nel panorama scientifico, tese a favorire complessivamente la prevenzione cardiovascolare. La filosofia di fondo è tenere insieme individui e collettività attraverso interventi sugli individui e strutturali sull'organizzazione sociale.

### Lo sviluppo degli studi

Gli studi più frequentemente pubblicati valutano gli effetti dell'inquinamento ambientale. In considerazione di tanta informazione disponibile, proprio recentemente uno *statement* dell'ERS/ATS (European Respiratory Society & American Thoracic Society) ha dedicato una rilevante sezione

alle malattie cardiovascolari (6). Lo *statement* contribuisce a chiarire i possibili effetti immediati e prolungati delle componenti dell'inquinamento sul cuore, i vasi e le loro funzionalità. Nella tabella 1 sono riportate le più rilevanti conseguenze cardiovascolari. Sono molto coerenti gli studi che collegano l'insorgenza di *infarto del miocardio* all'incremento, poche ore o giorni prima, degli indicatori di inquinamento ambientale (7, 8); per l'esposizione a lungo termine la coerenza è minore, ma la tendenza è certamente quella di un aumento degli episodi di infarto miocardico e di morte ad esso associato in condizioni di esposizione prolungata (9-16). Anche per gli *ictus cerebrali* c'è coerenza nei risultati che definiscono un aumento di rischio legato a esposizione recente di inquinanti ambientali (17, 18). Un risultato coincidente con quello riportato sull'esacerbazione dei sintomi dello *scompenso cardiaco* (17, 18). Per l'esposizione a lungo termine il dato sull'ictus rivela un aumento di rischio, mentre il rischio è meno evidente per lo scompenso cardiaco (17, 18). Analoghi risultati sono disponibili per l'insorgenza di *aritmie* (19, 20), particolarmente nelle fasi di esposizione a breve termine, e per l'incremento della *pressione arteriosa* che può, ben a ragione, annoverare tra le sue cause l'inquinamento ambientale a breve o lunga esposizione (21, 22).

Va detto che alcuni noti biomarcatori di effetti cardiovascolari sono stati messi in relazione con i livelli di inquinamento ambientale. Tra questi appaiono molto coerenti le osservazioni sulla riduzione della *variabilità della frequenza cardiaca* (23); l'aumento dello *spessore medio-intimale carotideo* e la sua *stiffness* (24-28); l'aumento dell'*infiammazione* e dello *stress ossidativo*, con un probabile effetto sulla riduzione di biodisponibilità di NO e il potenziamento di mediatori vasocoscrittivi (come l'*endote-*

*lina*) (29); i conseguenti aumenti di fattori favorenti la *trombogenicità*. Proprio l'aumento cronico dello stato infiammatorio è collegato con il rilevamento di un aumento di rischio di *obesità* e *diabete* (30), in linea con gli esperimenti animali che rilevano aumento dell'insulino-resistenza associato all'esposizione a inquinanti ambientali (31). Per completezza di informazione, è opportuno ricordare che ci sono evidenze di associazione tra altri elementi di «disturbo» ambientale, come il *rumore*, e patologie cardiovascolari (infarto miocardico, ictus cerebrale, altre complicanze dell'arteriosclerosi) o di condizioni che le favoriscono, come la diminuita variabilità della frequenza o l'aumento della pressione arteriosa. (32, 33). Proprio l'effetto negativo sulla pressione arteriosa è corroborato da una specifica meta-analisi, che analizza sia l'effetto ad esposizione breve che prolungata (34).

È interessante anche rilevare che alcuni elementi dell'organizzazione della vita umana, che caratterizzano in particolare le nostre città possono esser considerati come fattori di esposizione ambientali che influenzano incidenza e mortalità per malattie cardiovascolari. È questo il caso della presenza o assenza di spazi verdi nella residenzialità urbana (più spazi verdi meno mortalità cardiovascolare) (35). Come è noto, l'aumento della temperatura, determinato da un eccessivo consumo di energia nelle nostre città, ha un legame con incidenza, mortalità e aumento dei

**Tabella 1. Conseguenze dell'inquinamento ambientale riportate in letteratura**

Infarto miocardico – SCA	Mortalità cardiovascolare
Ictus cerebrale	Aumento dei ricoveri ospedalieri
Aumento della pressione arteriosa	Aritmie

ricoveri ospedalieri per malattie cardiovascolari. Un fenomeno studiato e rinvenuto anche nel nostro Paese (36)

### **La dimensione epidemiologica: gli inquinanti ambientali**

I principali inquinanti ambientali sono il particolato atmosferico (PM10, PM2.5), il biossido di azoto (NO2) e l'ozono (O3). La loro rilevanza deriva dalle elevate concentrazioni che si raggiungono nelle aree urbane e dai loro effetti sanitari. Gli indicatori più comunemente impiegati per valutare l'impatto sulla salute delle popolazioni sono il PM10 e il PM2.5. Questi due inquinanti si sono mostrati particolarmente deleteri, ovunque siano stati studiati, per la salute delle popolazioni. Siccome gran parte dell'inquinamento è dovuto ad attività antropiche, si sono continuamente rese necessarie delle normative che hanno cercato di definire degli standard di accettabilità proprio per questi indicatori. Il continuo aggiornamento delle conoscenze ha spinto le direttive nazionali e internazionali a scegliere limiti sempre più contenuti, anche se l'incrocio di interessi economici ha spesso mitigato sia le normative che la loro applicazione. Le direttive europee 2004/107/CE e 2008/50/CE, attuate negli ultimi anni con i decreti legislativi 152/2007 e 155/2010, hanno in parte accolto le indicazioni del mondo scientifico sulla necessità di avere standard protettivi per la popolazione. Un valore limite annuale per il PM2.5 è stato inserito per la prima volta nel DLgs 155/2010.

Di recente l'Agenzia per l'Ambiente dell'Unione Europea ha pubblicato i dati sulle stime di mortalità legate all'inquinamento dei Paesi europei. Per l'Italia sono stati stimati circa 80.000 morti l'anno legati a forme di inquinamento ambientale

(<https://www.eea.europa.eu/it>). Qualche anno prima, più dettagliatamente il Progetto Viias ([www.viias.com](http://www.viias.com)), che aveva messo insieme alcune realtà istituzionali italiane, aveva stimato il seguente scenario: 34.552 decessi sono attribuibili a livelli di concentrazione di PM2.5  $\geq 10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , stimando che questo tipo di inquinamento accorci mediamente la vita di ciascun italiano di 10 mesi (14 per chi vive al Nord). In questa collaborazione sono stati messi a punto anche scenari di riduzione delle emissioni attraverso politiche di contenimento, con la conclusione che il solo rispetto dei limiti di legge salverebbe 11.000 vite all'anno, moltissime delle quali risparmiate da morte cardiovascolare.

### **La dimensione epidemiologica: il livello globale**

Un contributo rilevante che aiuta a definire il livello globale della relazione tra inquinamento ambientale e stato delle malattie cardiovascolari è stato proprio di recente pubblicato in una *classic review* su *Circulation* (37). La *review* ha preso in considerazione, analizzandolo dettagliatamente, questo nuovo livello conoscitivo per promuovere un'attenzione specifica anche in clinica al tema dell'inquinamento. Vale dunque la pena riportarne le parti essenziali e le discussioni proposte. In una realtà numerica che vede oltre 17 milioni di morti premature globalmente nel 2016, si stima che l'inquinamento ambientale sia responsabile di 3,3 milioni di queste morti: più di 2,1 milioni per malattia ischemica cardiaca e più di 1,1 milioni per ictus cerebrale. Per comprendere più praticamente l'entità del fenomeno e trovare eventualmente anche delle soluzioni, viene posta una distinzione tra inquinamento outdoor (traffico, industrie, incenerimenti agricoli o non controllati, particolati sospesi

si) e quello indoor (abitudini di cucina e impianti di riscaldamento che bruciano biomasse in maniera inefficiente o usano combustibili a carbone – modalità questa utilizzata in più di metà della popolazione mondiale). Tra i fattori di rischio di mortalità queste due sezioni di inquinamento si trovano ai primi posti sia nel mondo economicamente sviluppato, sia in quello ancora in transizione economica. L'American Heart Association ha recentemente proposto una riduzione del 25% della mortalità per il 2025. Appare chiaro, alla luce di quanto detto, che senza politiche che intervengano sull'ambiente questo traguardo appare irraggiungibile. Un traguardo che impone azioni locali, nazionali e internazionali. Un altro tema interessante di discussione nella *review* è stato proposto in relazione al fatto che molti studi recenti dimostrano che il rischio attribuibile di popolazione associato all'inquinamento non solo è quantificabile, ma anche modificabile sia a livello di comunità che a livello individuale (38-40). In questa direzione le raccomandazioni ai clinici indicano la necessità professionale di occuparsi non solo dei fattori di rischio tradizionali, ma anche di identificare pazienti a elevato rischio individuale di esposizione a inquinamento ambientale, per suggerire le indicazioni possibili a livello individuale. L'auspicio è che l'approccio clinico in questo ambito sia più chiaro e soprattutto più diffuso.

### La dimensione epidemiologica: il livello italiano

Negli ultimi anni sono stati condotti diversi studi sugli effetti dell'inquinamento ambientale sugli esiti sanitari nella popolazione italiana. In particolare di grande interesse, per quanto riguarda le malattie cardiovascolari, sono gli studi EpiAir 1 e EpiAir2. I 2 progetti EpiAir costituiscono complessivamente il più recente e ampio studio sugli effetti a breve termine degli inquinanti atmosferici (PM10, NO2 e O3 e per la prima volta in Italia il PM2.5) rilevati nel periodo 2001-2005 in 10 città italiane (Torino, Milano, Mestre-Venezia, Bologna, Firenze, Pisa, Roma, Taranto, Palermo, Cagliari), a cui si sono aggiunte altre 15 città nella seconda fase (Treviso, Padova, Rovigo, Trieste, Genova, Piacenza, Reggio Emilia, Parma, Modena, Rimini, Ferrara, Ancona, Napoli, Bari, Brindisi) (2001-2010). I risultati di questi studi fanno chiarezza in particolare sugli effetti a breve termine: aumento dei ricoveri e dei decessi attribuibili all'inquinamento (41). Lo studio ha dunque analizzato gli effetti dell'inquinamento tra il 2001 e il 2010 in 25 città italiane grandi e medie e ha prodotto numerosi articoli fornendo indicazioni in particolare sulle malattie cardiovascolari e su quelle respiratorie. Nella tabella 2 vengono riportati alcuni dei risultati prodotti dagli studi EpiAir che vale la pena com-

**Tabella 2. Effetti a breve termine dell'inquinamento atmosferico (aumento in % dei decessi e ricoveri per malattie cardiache e respiratorie), per incrementi di 10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  della concentrazione di ciascun inquinante (41)**

	Ricoveri per cause cardiache		Morti per cause cardiache		Ricoveri per cause respiratorie		Morti per cause respiratorie	
	%	IC 95%	%	IC 95%	%	IC 95%	IC	IC 95%
PM10	0,69	0,35-1,03	1,06	0,30	0,78	0,40-1,16	3,38	1,59-4,59
NO2	0,69	0,20-1,19	2,63	1,53	0,71	0,14-1,28	2,87	0,09-5,72
O3*	0,04	-0,63-0,72	2,29	1,09	0,45	-0,41-1,31	2,78	0,29-5,34

\*misurato da aprile a settembre.

mentare per rendersi conto del carico di malattia che l'inquinamento può causare. Lo studio conferma, anche nel nostro Paese, la relazione tra mortalità e incrementi di concentrazione dei principali inquinanti atmosferici. Gli effetti più rilevanti sembrano appannaggio dell'inquinamento da traffico veicolare: NO<sub>2</sub> e PM<sub>10</sub> hanno effetti significativi sull'aumento dei decessi, sia cardiaci che respiratori, e tendenzialmente anche sui ricoveri legati a queste malattie. Meno forte è la relazione tra ozono e mortalità cardiaca. In generale, gli effetti degli inquinamenti studiati, soprattutto del particolato, appaiono più elevati nella stagione calda; inoltre, appare chiaro che le persone anziane, in particolare quelle con malattia in atto, cardiaca o respiratoria, sono le più colpite (42-44).

Gli studi nella popolazione italiana corroborano quelli condotti in altri Paesi europei e nord-americani, i cui risultati non si discostano da essi. Anche nei Paesi in transizione economica questi studi sono stati condotti in gran numero, soprattutto perché proprio in questi Paesi la mancanza di regolamentazioni rigorose ha favorito l'occorrenza di veri e propri disastri ambientali con conseguenze in qualche caso catastrofiche per le popolazioni coinvolte, spesso immediatamente colpite da cambiamenti climatici drammatici. Questa pletora di studi ha consentito di fare il punto sul peso che fattori legati allo stile di vita e all'inquinamento possono esercitare sulle principali patologie. Tra queste un ruolo fondamentale hanno sia le malattie cardiovascolari che i tumori. Su *Lancet* sono stati pubblicati negli ultimi cinque anni una serie di articoli che danno conto della dimensione del "burden of disease" in generale nel mondo e analiticamente nei vari Paesi con particolare attenzione alle differenze tra Paesi economicamente sviluppati e quelli ancora in transizione

economica. Il riferimento per noi più interessante è quello che analizza, oltre al quadro mondiale, i dati relativi all'Italia (45). L'impatto sanitario è stato espresso in Disability Adjusted Life Years (DALY), ovvero una misura sintetica della salute della popolazione che combina mortalità e morbilità. Le stime sono basate sulle evidenze scientifiche più recenti riguardanti l'esposizione della popolazione e gli effetti sulla salute. Analizzando questi dati che si riferiscono alla misura di quanto siano "pesanti" gli effetti in termini di costi umani ed economici, singoli e collettivi, balza subito agli occhi il ruolo primario giocato nel nostro Paese dai rischi legati alle abitudini alimentari per quanto riguarda le malattie cardiovascolari: il 7-8% dei DALYs negli uomini e il 5% nelle donne. Il rischio legato all'inquinamento ambientale, sempre relativo alle malattie cardiovascolari, è stimato essere poco più del 3% negli uomini e circa il 4% nelle donne. Nelle stime prodotte è interessante notare come sui DALYs l'inquinamento ha un effetto maggiore sulle malattie cardiovascolari che non sui tumori, sia negli uomini che nelle donne; un effetto dovuto alla maggiore possibilità di sopravvivenza dei malati cardiovascolari rispetto a quelli oncologici. Questi fattori di rischio, classificati tra i primi quattro della lista, si accompagnano nei primi sei ad altri fattori ben noti ai clinici che si occupano di arteriosclerosi e delle sue complicanze cardiovascolari, vale a dire, l'ipertensione arteriosa, l'ipercolesterolemia, l'iperglicemia e il diabete, il sovrappeso e l'obesità. Tutti questi rischi clinici e ambientali (potenzialmente modificabili) rappresentano oltre la metà dei DALYs. Se un messaggio rilevante emerge da queste analisi è che l'inquinamento gioca un ruolo importante nel determinare le malattie cardiovascolari e gli esiti sanitari ad esse legati. L'altro commento è relativo a quan-

to sia il margine disponibile per potenziare la prevenzione delle malattie cardiovascolari, utilizzando programmi di prevenzione più complessi. La prevenzione cardiovascolare, alla luce delle nuove evidenze sul ruolo dell'inquinamento ambientale, deve tener conto sia sul versante dei programmi di comunità, sia su quello dell'intervento clinico individuale, di nuove indicazioni. In molti casi queste indicazioni potrebbero rivelarsi anche più incisive di quelle finora proposte. In particolare appare interessante la possibilità di legare il comportamento individuale agli interessi della collettività, facendo riferimento anche a normative più stringenti. L'esperienza che abbiamo avuto in Italia con l'istituzione della legge contro il fumo nei locali pubblici è stata dirompente con la dimostrazione della diminuzione della prevalenza dei fumatori, ma soprattutto con la riduzione delle conseguenze sanitarie, come è stato il caso della riduzione dell'incidenza e della mortalità per tumore al polmone ([www.registri-tumori.it](http://www.registri-tumori.it)), ma anche della riduzione di ricoveri ospedalieri e dei decessi per malattie cardiovascolari (46).

### Note metodologiche

Abbiamo già visto che le evidenze scientifiche tengono ben distinti gli effetti in tempi brevi da quelli in tempi lunghi di esposizione ad inquinanti ambientali. In realtà una maggiore sistematica attenzione ai tempi brevi di esposizione è dovuta al fatto che, mentre l'esposizione sulla popolazione è facilmente stimabile, quella sui singoli individui è particolarmente difficile da stimare. Per molto tempo questo è parso un problema insormontabile e ha impedito un confronto tra l'esposizione a fattori chiaramente identificabili nell'individuo (variabili biologiche, comportamentali, sociologiche o antropologiche misu-

rabili con una certa accuratezza) e quella a fattori ambientali, dove la misurazione della specifica esposizione individuale (soprattutto a lungo termine) non è mai parsa affidabilmente accurata. Molte delle esposizioni a lungo termine sono definite da misurazioni ambientali, in alcuni casi su spazi molto grandi che poco informano su sotto-insiemi di spazi dove le singole persone osservate vivono. Recentemente questo tipo di problema è stato affrontato utilizzando misurazioni dirette sul posto dove vivono gli individui, con ancora qualche difficoltà sull'esposizione a lungo termine. Neanche l'utilizzo di biomarcatori prelevati da campioni biologici dei singoli individui ha aumentato l'accuratezza sui lunghi tempi di esposizione, a parte alcuni casi eccezionali spesso adducibili a esposizioni avvenute in tempi brevi. Una possibilità nuova è legata all'utilizzo di dati satellitari che forniscono informazioni sulla rifrazione atmosferica, determinata essenzialmente dalla presenza di particolato. Gli spazi per i quali è possibile misurare questa rifrazione sono relativamente ridotti, soprattutto possono essere monitorati per molti anni (i dati sono disponibili pubblicamente dal 2004). Un'esperienza iniziale con questo sistema di rilevazione, con la messa a punto del metodo per il territorio italiano e la sua popolazione, è stata recentemente avviata con una mappatura della penisola (47). Sono in corso studi sugli effetti dell'inquinamento ambientale in Italia su varie patologie, incluse quelle cardiovascolari, in particolare sono molto attesi i dati derivanti dalla collaborazione tra coloro che hanno sviluppato questa metodologia e i ricercatori dello studio EPIC Italia; la collaborazione tra coorti italiane ha già fornito numerose indicazioni sulla relazione tra abitudini alimentari e malattie cardiovascolari in circa 50.000 individui osservati per oltre 10 anni (48). Sarà così

possibile valutare in individui italiani il peso delle variabili biologiche, abitudini di vita ed esposizione al particolato.

### Verso una più completa (complessa) prevenzione cardiovascolare

Alla luce delle interconnessioni tra lo stile di vita individuale o di comunità, relativo alle abitudini alimentari, chiamato in causa nella prevenzione dalle malattie cardiovascolari e il complesso delle cause ambientali, appare interessante fare riferimento ad alcune proposte che vengono sviluppate per monitorare i cambiamenti auspicabili per promuovere una completa, anche se complessa, prevenzione cardiovascolare, in particolare nelle realtà urbane. Un'interessante proposta di linee-guida comportamentali della comunità e degli individui è apparsa su Environmental Health Perspective (<http://ehponline.org/EHP220>) con l'intento di presentare una proposta programmatica per la città e gli abitanti di Barcellona. La tabella 3 riporta le raccomandazioni essenziali che

includono indicazioni per gli individui e la comunità, alle quali attenersi in un futuro prossimo per modificare il rischio di malattie cardiovascolari (e non solo, evidentemente). È interessante notare che la selezione cade sulle indicazioni *evidence-based* proposte dalle agenzie internazionali (EC, WHO) o da revisioni di letteratura e come non si faccia differenza rispetto alla richiesta di impegno di singoli individui (es. attività fisica) o di comunità (spazi verdi). Attraverso questi indicatori va avviata la valutazione delle modifiche auspicabili a livello individuale e collettivo per comprendere con accuratezza l'impatto ottenibile sulla salute (malattie cardiovascolari e tumori in testa) nelle realtà urbane. Questa complessità è già stata già intuita dai clinici, consapevoli che fattori come sovrappeso e obesità, definibili oramai come un problema globale (*globesity*), sfuggono a un intervento troppo semplificato, individuale, slegato da azioni più complesse e impegnative per la collettività e la sua organizzazione sociale. Rispetto alle raccomandazioni alimentari appare sempre più chiaro che insieme ad una piramide alimentare *stricto sensu* va utilizzata, sia in termini di strumento educativo che conoscitivo, una piramide ambientale che colleghi l'utilizzo degli alimenti agli effetti che il loro consumo può avere sull'ambiente. Fortunatamente, un'alimentazione considerata protettiva per le malattie cardiovascolari, come la dieta mediterranea, appare molto vicina al tipo di alimentazione considerata sostenibile per l'ambiente (49).

### Le nuove responsabilità dei clinici

Alla luce delle evidenze scientifiche, che aprono più complessi scenari eziologici per le malattie cardiovascolari di natura arteriosclerotica, appare necessario introdurre nel bagaglio professionale dei clinici

**Tabella 3. Obiettivi per modificare l'impatto sulla salute nella città di Barcellona**

Attività fisica (WHO)	150 minuti di attività fisica aerobica di moderata intensità o 75 minuti di attività fisica aerobica intensa alla settimana
Inquinamento ambientale (WHO)	Media annuale PM2.5 = 10 µg/m <sup>3</sup>
Rumore (WHO)	Livello di rumore outdoor ≤55 dB nel corso della giornata (7:00-23:00)
Calore - aumento della temperatura (letteratura)	Modifiche della pianificazione urbana che possano consentire un raffreddamento fino a 4 °C
Spazi verdi (EC, WHO)	Accesso a spazi verdi ≥0.5 ha all'interno di una distanza lineare di 300 metri

<http://ehponline.org/EHP220>

la consapevolezza di affrontare, anche sul piano individuale, raccomandazioni sullo stile di vita connesso con le questioni ambientali. Non farlo significherebbe ridurre il potenziale preventivo che è nelle possibilità dei clinici. Una maggiore responsabilizzazione viene richiesta anche sul

versante dell'organizzazione della società, che riporta il ruolo del medico a quello originario, che un grande patologo come Virchow, primo grande studioso dell'arteriosclerosi aveva così definito *"Medicine is a social science and politics is nothing else but medicine on a larger scale"*.

### RIASSUNTO

La conoscenza del ruolo eziologico dei fattori ambientali sulle malattie cardiovascolari di natura arteriosclerotica si è andata costruendo con ritardo se confrontata con quella dei tumori. I dati globali come quelli italiani rivelano l'importanza degli inquinanti ambientali come i particolati (PM 2.5 e PM 10), sia che l'esposizione avvenga in periodi acuti, anche di breve durata, sia che avvenga in un periodo lungo. Essi sono causa di eventi cardiovascolari come l'infarto miocardico, l'ictus cerebrale e l'aggravarsi dello scompenso cardiaco. Ne consegue la necessità di connettere sempre più gli interventi preventivi e anche curativi, basati sulle indicazioni di uno stile di vita corretto (abitudini alimentari e attività fisica), a una conoscenza delle conseguenze ambientali di uno stile di vita non corretto.

**Parole chiave:** *Malattie cardiovascolari, stile di vita, inquinamento ambientale, prevenzione, salute globale.*

### Bibliografia

1. Moro E. La dieta mediterranea. Mito e storia di uno stile di vita. Il Mulino Editore, 2014.
2. Kromhout D, Menotti A, Bloemberg B, et al. Dietary saturated and trans fatty acids and cholesterol and 25-year mortality from coronary heart disease: the Seven Countries Study. *Prev Med.* 1995; 24: 308-315.
3. LaDou J. The asbestos cancer epidemic. *Environ Health Perspect.* 2004;112: 285-290.
4. Finch SC. Radiation-induced leukemia: lessons from history. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2007; 20: 109-118.
5. Riboli E. The role of metabolic carcinogenesis in cancer causation and prevention: evidence from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Treat Res.* 2014; 159: 3-20.
6. Thurston GD, Kipen H, Annesi-Maesano I, Balmes J et al. A joint ERS/ATS policy statement: what constitutes an adverse health effect of air pollution? An analytical framework. *Eur Respir J.* 2017; 49.
7. Mustafic H, Jabre P, Caussin C, et al. Main air pollutants and myocardial infarction a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2012; 307: 713-721.
8. Gardner B, Ling F, Hopke PK, et al. Ambient fine particulate air pollution triggers ST-elevation myocardial infarction, but not non-ST elevation myocardial infarction: a case-crossover study. *Part Fibre Toxicol.* 2014; 11: 1.
9. Tonne C, Wilkinson P. Long-term exposure to air pollution is associated with survival following acute coronary syndrome. *Eur Heart J.* 2013; 34: 1306-1311.
10. Miller KA, Siscovick DS, Sheppard L, et al. Long-term exposure to air pollution and incidence of cardiovascular events in women. *N Engl J Med.* 2007; 356:447-458.
11. Crouse DL, Peters PA, van Donkelaar A, et al. Risk of nonaccidental and cardiovascular mortality in relation to long-term exposure to low concentrations of fine particulate matter: a Canadian national-level cohort study. *Environ Health Perspect.* 2012; 120:708-714.
12. Pope CA III, Turner MC, Burnett RT, et al. Relationships between fine particulate air pollution, cardiometabolic disorders, and cardiovascular mortality. *Circ Res.* 2015; 116: 108-115.
13. Raaschou-Nielsen O, Andersen ZJ, Jensen SS, et al. Traffic air pollution and mortality from cardiovascular disease and all causes: a Danish cohort study. *Environ Health.* 2012; 11:60.
14. Atkinson RW, Carey IM, Kent AJ, et al. Long-term exposure to outdoor air pollution and incidence of cardiovascular diseases. *Epidemiology.* 2013; 24: 44-53.

15. Lipsett MJ, Ostro BD, Reynolds P, et al. Long-term exposure to air pollution and cardiorespiratory disease in the California teachers study cohort. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011; 184: 828-835.
16. Thurston GD, Ahn J, Cromar KR, et al. Ambient particulate matter air pollution exposure and mortality in the NIH-AARP diet and health cohort. *Environ Health Perspect.* 2016; 124: 484-490.
17. Shah ASV, Langrish JP, Nair H, et al. Global association of air pollution and heart failure: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2013; 382: 1039-1048.
18. Shah ASV, Lee KK, McAllister DA, et al. Short term exposure to air pollution and stroke: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2015; 350: h1295.
19. Link MS, Dockery DW. Air pollution and the triggering of cardiac arrhythmias. *Curr Opin Cardiol.* 2010; 25: 16-22.
20. Link MS, Luttmann-Gibson H, Schwartz J, et al. Acute exposure to air pollution triggers atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 62: 816-825.
21. Brook RD, Rajagopalan S. Particulate matter, air pollution, and blood pressure. *J Am Soc Hypertens.* 2009; 3: 332-350.
22. Chen H, Burnett RT, Kwong JC, et al. Spatial association between ambient fine particulate matter and incident hypertension. *Circulation.* 2014; 129: 562-569.
23. Pieters N, Plusquin M, Cox B, et al. An epidemiological appraisal of the association between heart rate variability and particulate air pollution: a meta-analysis. *Heart.* 2012; 98: 1127-1135.
24. Künzli N, Jerrett M, Mack WJ, et al. Ambient air pollution and atherosclerosis in Los Angeles. *Environ Health Perspect.* 2005; 113: 201-206.
25. Perez L, Wolf K, Hennig F, et al. Air pollution and atherosclerosis: a cross-sectional analysis of four European cohort studies in the ESCAPE study. *Environ Health Perspect.* 2015; 123: 597-605.
26. Provost EB, Madhloum N, Int Panis L, et al. Carotid intima-media thickness, a marker of sub-clinical atherosclerosis, and particulate air pollution exposure: the meta-analytical evidence. *PLoS One.* 2015; 10: e0127014.
27. Lorenz MW, Polak JF, Kavousi M, et al. Carotid intima-media thickness progression to predict cardiovascular events in the general population (the PROG-IMT collaborative project): a meta-analysis of individual participant data. *Lancet.* 2012; 379: 2053-2062.
28. Newman JD, Thurston GD, Cromar K, et al. Particulate air pollution and carotid artery stenosis. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 65: 1150-1151.
29. Langrish JP, Unosson J, Bosson J, et al. Altered nitric oxide bioavailability contributes to diesel exhaust inhalation-induced cardiovascular dysfunction in man. *J Am Heart Assoc.* 2013; 2: e004309.
30. Eze IC, Hemkens LG, Bucher HC, et al. Association between ambient air pollution and diabetes mellitus in Europe and North America: systematic review and meta-analysis. *Environ Health Perspect.* 2015; 123: 381-389.
31. Rajagopalan S, Brook RD. Air pollution and type 2 diabetes mechanistic insights. *Diabetes.* 2012; 61:3037-3045.
32. Münzel T, Gori T, Schmidt CardioPulse. Noise pollution and arterial hypertension. *Eur Heart J.* 2016; 37: 933-936.
33. Recio A, Linares C, Banegas JR, Díaz J. The short-term association of road traffic noise with cardiovascular, respiratory, and diabetes-related mortality. *Environ Res.* 2016; 150: 383-90.
34. van Kempen E, Babisch W. The quantitative relationship between road traffic noise and hypertension: a meta-analysis, *Journal of Hypertension.* 2012; 30: 1075-1086.
35. Gascon M, Triguero-Mas M, Martines D, Davand P, et al. Residential green spaces and mortality: A systematic review. *Environment International.* 2016; 86: 60-67.
36. Michelozzi P, De' Donato F, Scortichini M, De Sario M, et al. On the increase in mortality in Italy in 2015: analysis of seasonal mortality in the 32 municipalities included in the Surveillance system of daily mortality. *Epidemiol Prev.* 2016; 40: 22-28.
37. Hadley MB, Baumgartner J, Vedanthan R. Developing a Clinical Approach to Air Pollution and Cardiovascular Health. *Circulation.* 2018; 137: 725-742.
38. Newby DE, Mannucci PM, Tell GS, Baccarelli AA, et al. ESC Working Group on Thrombosis, European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation; ESC Heart Failure Association. Expert position paper on air pollution and cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2015; 36: 83-93b.
39. Burnett RT, Pope CA, Ezzati M, Olives C, et al. An integrated risk function for estimating the global burden of disease attributable to ambient fine particulate matter exposure. *Environ Health Perspect.* 2014; 122: 397-403.
40. Steinle S, Reis S, Sabel CE. Quantifying human exposure to air pollution—moving from static monitoring to spatio-temporally resolved personal exposure assessment. *Sci Total Environ.* 2013; 443: 184-193.
41. Forastiere f, Faustini A, Stafoggia M, Badaloni C, et al. Inquinamento atmosferico: il fattore am-

- bientale con il più elevato impatto sulla salute. *Epidemiol Prev.* 2011; 35 (Suppl. 2): 1-136.
42. Alessandrini ER, Faustini A, Chiusolo M, Stafoggia M, et al. Gruppo collaborativo EpiAir2. Air pollution and mortality in twenty-five Italian cities: results of The EpiAir2 Project. *Epidemiol Prev.* 2013; 37: 220-209.
  43. Scarinzi C, Alessandrini ER, Chiusolo M, Galassi C, et al. Gruppo collaborativo EpiAir2. Air pollution and urgent hospital admissions in 25 Italian cities: results from the EpiAir2 project. *Epidemiol Prev.* 2013; 37: 230-241.
  44. Stafoggia M, Forastiere F, Faustini A, et al. per il Gruppo collaborativo EpiAir. Susceptibility factors to ozone-related mortality: a population-based case-crossover analysis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010; 182: 376-384.
  45. GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet.* 2016; 388: 1459-1544.
  46. Cesaroni G, Forastiere F, Agabiti N, Valente, P et al. Effect of the Italian Smoking Ban on Population Rates of Acute Coronary Events. (*Circulation.* 2008;117: 1183-1188.
  47. Stafoggia M1, Schwartz J2, Badaloni C3, Bellander T, et al. Estimation of daily PM10 concentrations in Italy (2006-2012) using finely resolved satellite data, land use variables and meteorology. *Environ Int.* 2017; 99: 234-244.
  48. Mattiello A, Panico S. Le moderne abitudini alimentari degli Italiani e le malattie cardiovascolari: i risultati della coorte EPICOR. *Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi* 2016; 7: 54-63.
  49. Baroni L, Cenci L, Tettamanti M, Berati M. Evaluating the environmental impact of various dietary patterns combined with different food production systems. *Eur J Clin Nutr.* 2007; 61: 279-286.
  50. Mackenbach JP. Politics is nothing but medicine at a larger scale: reflections on public health's biggest idea. *J Epidemiol Community Health.* 2009; 63: 181-184.

**MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ**

# DALLA FRAGILITÀ ALLA LONGEVITÀ NELLE CURE DI LUNGO TERMINE NELLA SOCIETÀ MODERNA: PAURE, SPERANZE, CERTEZZE

**From fragility to longevity in long-term care:  
fears, hopes, certainties**

**PAOLO DA COL***Responsabile Centro Studi CARD Italia; Direttore Sanitario RSA Casa di Cura Igea, Trieste*

Il titolo anticipa il messaggio principale di questa mia testimonianza: potenziamo le cure di lungo termine per offrire più certezze di vita meno difficile ai milioni di persone fragili proiettate verso la longevità. La priorità sta, a mio parere, nelle cure di lungo termine, *long term care* (LTC), irrinunciabili per prendersi cura delle fragilità (1), o, meglio, delle persone fragili, ancor più di quelle anziane. La fragilità appartiene a tutte le età, aumenta negli anni e così la vulnerabilità, il rischio di rottura dei delicati equilibri per riserve omeostatiche ridotte (2); in fortissima crescita nei grandi anziani<sup>1</sup>, tipicamente nei centenari, per lo più “sani”, sempre fragili. La fragilità non scompare, ma può stabilizzarsi o

ridursi (diversamente dall'età) grazie ad attenzioni intelligenti protratte nel lungo periodo, ad un'assistenza integrale e integrante che può prevenire i danni, migliorare la durata e, soprattutto, la qualità della vita, parametro su cui dovremmo verificare il valore delle nostre cure (3).

La LTC si presenta, nell'attuale evoluzione dei bisogni, come l'anello debole dei nostri servizi di cura, ancor oggi tarati sull'acuzie e sull'urgenza, nonostante i milioni di persone, sempre di più, con multipatologie e multi-problematicità inguaribili ma curabili. Perché oggi conta molto di più curare che guarire. Curare con più determinazione la fragilità, che alla “cronicità” è affine, ma in essa non si esaurisce, coinvolgendo ogni aspetto della vita, oltre i perimetri medico-clinici. In ogni caso, ciò che più spesso difetta in entrambe le condizioni è la capacità di sostenere cure nei tempi lunghi. Una debolezza che potrà

*Indirizzo per la corrispondenza*

Paolo Da Col  
mail: pg.dacol@gmail.com

ridursi se avrà attuazione il Piano Nazionale delle Cronicità<sup>2</sup> (PNC), approvato dalla Conferenza Stato Regioni, dunque al massimo livello istituzionale. Merita studiarlo attentamente perché apre nuove possibilità di colmare lacune esistenti, anche culturali. L'aggiornamento culturale degli operatori, a tutti i livelli, è un'esigenza che va colmata, lungo un percorso ben strutturato, mai episodico, prevedendo - per il tema della cronicità - anche robuste formazioni sul campo. Trattare bene la "cronicità" significa portare soluzioni anche alla fragilità, dati i molti punti in comune tra le due:

- a) necessità della presa in carico continua e globale, ponendo al centro le esigenze della persona (e non dei servizi);
- b) lavoro in team multi-professionale e percorsi ben concatenati nelle fasi dell'accoglienza, della valutazione multidimensionale, della definizione del piano di cura individualizzato (PAI) e degli obiettivi personalizzati;
- c) stratificazione dell'intensità di cura con il contributo del *care e case management*, secondo profilo di necessità, e del *self care*;
- d) valutazione degli esiti finali.

In tutto questo, è sul "tempo" che noi cediamo, perché oggi si pretendono tempi di cura sempre più brevi, mentre qui le esigenze si protraggono per anni o decenni.

A mio avviso, la spinta al cambiamento del PNC sarebbe maggiore se si usassero parole nuove, perché sono anche le parole a generare le azioni del cambiamento: dizioni quali "di lungo termine, di lungo periodo" (4) anziché "cronico-cronicità", che possono causare stigma ed indurre

attitudini e comportamenti di rinuncia o rassegnazione.

Uno dei meriti del PNC è il risalto dato alle cure domiciliari (pag. 16), che sono essenziali sia nella "cronicità" che nella fragilità, come da tempo sottolineato da CARD (Associazione Nazionale dei Distretti - vedi il Manifesto sulle Cure Domiciliari sul sito [www.carditalia.com](http://www.carditalia.com)). L'LCT si rafforza con "*ICT integrated home care*" (5), in altre parole con cure domiciliari ad alta integrazione e qualificazione professionale (infermieri innanzitutto, ma anche medici, fisioterapisti e altri), in cui ICT consente lo scambio di dati di rilevanza clinica mediante la cartella informatizzata, alimentabile e consultabile da tutti gli attori di cura e dagli assistiti, il controllo in remoto di parametri vitali e ambientali, delle terapie, del *self care* e molto altro. Le cure domiciliari sono comprese nell'elenco delle prestazioni "essenziali" del Decreto Ministeriale sui Livelli Essenziali di Assistenza (LEA). I LEA si riferiscono a tre macro-livelli: la prevenzione, l'assistenza ospedaliera, l'assistenza distrettuale; ciascuno contiene le prestazioni del SSN che divengono doveri per le Aziende Sanitarie (quando i LEA sono recepiti dalle Regioni) e diritti costituzionalmente esigibili per gli utenti; sono "essenziali" perché irrinunciabili e di provata efficacia, pertanto appropriate e per questo con costi a carico della collettività. È quindi un documento che non riguarda i "burocrati", ma tutti coloro che sono impegnati nelle buone pratiche dei servizi pubblici. Gli adempimenti dei LEA nelle Regioni sono monitorati dal

1 In Italia nel 2030 gli ultra85enni saranno tre milioni, nel 2065 il 10% della popolazione vs il 3,2% attuale; 1,3 milioni gli ultra95enni; la vita media dei maschi crescerà da 77,4 nel 2005 a 83,6 anni nel 2050, quella delle donne da 83,3 a 88,8 anni (Istat 2017).

2 [http://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2584\\_allegato.pdf](http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2584_allegato.pdf)

Ministero, che insieme al Piano Nazionale Esiti, costituiscono due strumenti di garanzia (e certezze, su cui tornerò oltre) per i cittadini-contribuenti.

I LEA del livello ospedaliero e distrettuale ci riportano alla questione del rapporto tra ospedale e territorio, che segna il dibattito attuale. Se si accetta che l'assistenza per i problemi acuti competa all'ospedale, per cui vale l'assioma "acuzie=ospedale", non altrettanta chiarezza vale per la "cronicità" e, in questo contesto, per la fragilità; in altre parole, non sussiste simmetricamente "cronicità/fragilità=Distretto". Il Distretto, anche nel recente PNC, stenta a essere riconosciuto come la struttura centrale del "territorio", che continua a rimanere subalterno all'ospedale. Al Distretto non dappertutto è affidata la responsabilità della regia di un sistema integrato per la "cronicità", della fragilità e della LTC, in cui sono necessarie pratiche integrate. Si stima che meno della metà dei 600 Distretti nelle 200 Aziende Sanitarie delle ventuno Regioni italiane funzionino in questa direzione, pur essendo ben chiara nella legge di riforma del SSN (DL 229/99-riforma "Bindi"). Senza un Distretto "forte" (6) non può svilupparsi l'integrazione, lo strumento più adatto per rispondere ai bisogni complessi della fragilità; non quella di tipo verticale, ovvero intra-sanitaria e quindi tra medicina generale e specialistica, e nemmeno quella di tipo orizzontale, dove si congiungono interventi sanitari e sociali nelle aree ad alta integrazione socio-sanitaria (anziani, minori, salute donna e famiglie, salute mentale, dipendenze, terminalità), in cui le prestazioni sanitarie e sociali sono inscindibili.

L'OMS/WHO raccomanda che i sistemi sanitari anche dei Paesi avanzati siano fondati sulla *Primary Health Care* (PHC - traduzione impropria: cure primarie) (7). La debolezza di visione strategica sul ter-

ritorio e sul Distretto impedisce in Italia l'affermarsi della PHC; ne resta penalizzato lo sviluppo della LTC, in essa incluse. La PHC non può ovviamente trovare sede nell'ospedale, ma non ha ancora trovato altrove uniforme riferimento; certamente non sempre nel Distretto, sua sede naturale. Per questo il "territorio" resta arretrato, i LEA distrettuali non sono adempiuti, aumentano le disuguaglianze di salute tra le Regioni e al loro stesso interno (Osservatorio Salute 2018). La fragilità è affrontata, spesso in modo inappropriato, in quattro usuali *setting* di cura riferibili ai LEA: ospedale, ambulatorio, residenza, domicilio. Oggi le persone in *long term care*, in assenza di alternative valide, cercano risposte innanzitutto in ospedale, che così è usato troppo e male; in un'assistenza ambulatoriale, generalistica e specialistica, ancora operante con prevalenti logiche di attesa (con i noti problemi delle liste di attesa, della frammentazione, dei fenomeni consumistici), anziché di pro-attività e di programmazione dei *follow-up*, in cui dobbiamo dare più spazio alle professioni sanitarie. Raramente l'offerta delle cure intermedie (sanitarie residenziali) è quali/quantitativamente adeguata alla LTC; molto deboli sono, salvo eccezioni, le cure domiciliari, scarsamente finanziate (appena l'1% dei *budget* aziendali), anche perché poco considerate e richieste dagli stessi medici. Occorre riequilibrare globalmente il sistema, perché queste asimmetrie producono nelle organizzazioni e negli utenti perdite di efficacia, di efficienza ed equità. Senza un chiaro baricentro nel "territorio" e nel Distretto, protagonista delle cure di prossimità, del governo della domanda e dell'offerta, non si potrà raggiungere alta efficienza nella LTC e nell'ospedale, nella continuità e contiguità tra i quattro ambiti di cura, anche diffondendo le buone pratiche in team integrati in cui sia riconosci-

bile il ruolo dei team leader; dare giusto valore alle cure informali (famiglie, *care-giver*, terzo settore, volontariato), far crescere il capitale sociale, irrinunciabile per affrontare in modo sostenibile “l’epidemia della non-autosufficienza”. Ricordiamoci che sono le famiglie a reggere oggi le sorti delle persone non-autosufficienti e quindi dobbiamo riconoscere e sostenere di più il loro lavoro di cura.

Tre sigle potrebbero ricordare questi nodi: la prima, “*tre-pi*”, poi “*tre-ci*”, e la terza “*tre-erre*”. Le tre parole chiave in “*tre-pi*” sono “*Persona*”, da porre sempre al centro, “*Prossimità*”, caratteristica prima dei nostri servizi territoriali, “*Prevenzione*”, per dare vita agli anni. In “*tre-ci*” le parole *Casa*, *Cognitività*, *Cadute* indirizzano ai correlati obiettivi:

- 1) far rimanere/ritornare a *casa* le persone, primo costante scopo del nostro lavoro (stop all’istituzionalizzazione);
- 2) dare priorità assoluta alla demenza senile, dramma crescente che affligge centinaia di migliaia di famiglie ogni giorno, per molti anni, con enormi sofferenze; qui servono nuovi LEA ad hoc e finanziamenti al Piano Nazionale delle Demenze<sup>3</sup> (stop all’abbandono);
- 3) prevenire e trattare meglio le cadute, con programmi di popolazione, ad esempio come quelli adottati in Scozia<sup>4</sup> (stop alle disabilità evitabili).

Infine le “*tre-erre*”, *Relazione*, *Riattivazione*, *Risorse*, ci ricordano che le *relazioni* costituiscono il primo architrave e patrimonio dei servizi territoriali; quelle tra utenti e attori di cura, e tra gli stessi operatori, fioriscono quando alle orga-

nizzazioni diamo giusti tempi e modi di lavoro. La “*Riattivazione*” (riabilitazione) è fattore cardine nella LTC, sempre nelle cure intermedie e domiciliari, finalizzata all’inclusione sociale attraverso la ripresa di una vita il più possibile autonoma. Per quanto riguarda la terza R, “*Risorse*” certamente ne servono di più di parte pubblica, in tutti i settori dei determinanti sociali della salute (8); nel lavoro territoriale occorre poi trovare e saper porre in rete le molte risorse già presenti nelle nostre comunità. Lo studio non conformista (9, 10) ci convincerà che possiamo e dobbiamo invertire gli attuali *trend* calanti di risorse pubbliche (finanziamenti) per personale, beni, servizi del nostro SSN (e della LTC), antepoendo la salute delle persone agli equilibri di bilancio.

Infine, un breve ma ineludibile cenno a un’analisi introspettiva. Nel mio lavoro cerco sempre di condividere con le persone fragili in LTC le loro paure e speranze: le prime, associate al timore della perdita dell’integrità fisica e psichica, della qualità della vita e della sua fine; le seconde, speranze speculari, di evitare e risolvere eventi avversi, sofferenze e difficoltà. Osservo che solo la certezza di servizi stabili e vicini, di operatori affidabili e di azioni ininterrotte nel tempo alleviano questi timori e alimentano la fiducia e le speranze. Con pari attenzione condivido con gli operatori le paure di non poter dare quanto serve alle persone prese in carico e le speranze di poter fare di più. Scenari in così rapida e complessa evoluzione sarebbero certamente più luminosi se riuscissimo a svelare, senza mai medicalizzarlo, il segreto

3 Piano nazionale demenze - Strategie per la promozione ed il miglioramento della qualità e dell’appropriatezza degli interventi assistenziali nel settore delle demenze. (Rep. atti n. 135/CU). (15A00130) (GU Serie Generale n.9 del 13-01-2015)

4 <http://www.gov.scot/Publications/2014/04/2038/3>.

di come vincere la più sofferta condizione della fragilità e longevità: la solitudine<sup>5</sup>. Amoz Oz scrive *“la solitudine... è come il rintocco di un pesante martello: riduce in frantumi il vetro, ma non temprava l'acciaio”* (da: Una storia di amore e di tenebra, ed. Feltrinelli 2003, pag. 38).

### Bibliografia

1. Harrison JK, Clegg A, Conroy SP, Young J. Managing Frailty As A Long-Term Condition. *Age and Ageing*. 2015; 44: 732-735.
2. Clegg A, Young J, Illiffe S, Rikkert MO, Rockwood K. Frailty in elderly people. *Lancet*. 2013; 381: 752-762.
3. European Commission Directorate-General for Economic and Financial Affairs Economic Policy Committee. Ageing Working Group Joint Report on Health Care and Long-Term Care Systems and Fiscal Sustainability. European Union, 2016.
4. Da Col P. Idee per una Carta della cronicità e delle cure a lungo termine - Parte I: Principi e riferimenti. Parte II: L'organizzazione dei servizi. *Studi Zancan*. 2005; n. 6, 200: 78-108.
5. Da Col P, d'Angelantonio M. L'Information Communication Technology (ICT) al servizio dell'empowerment e della qualità dei servizi integrati domiciliari. Quale possibile impatto per i distretti? *Sistema Salute*. 2014; 58, 2,: 212-229.
6. Da Col P. Cinque cose da fare per un distretto “forte”. *Welfare Oggi*. 2/2014; 87-93.
7. WHO. The world health report 2008: primary health care now more than ever. 2008.
8. Marmot M. Social determinants of health inequalities. *Lancet* 2005; 365: 1099-1104.
9. Bagnai A. L'Italia può farcela. 2014. Il Saggiatore.
10. Geddes da Filicaia M. La salute sostenibile. Perché possiamo permetterci un Servizio sanitario equo ed efficace. 2018. Il Pensiero Scientifico Editore.

<sup>5</sup> Secondo il rapporto annuale ISTAT del maggio 2018, il 17,2% delle persone si sente privo o quasi di sostegno sociale (15,5% media UE). La misurazione della percezione del sostegno sociale si basa su un indicatore condiviso a livello europeo, Overall perceived social support, che sintetizza tre dimensioni: l'estensione della rete di sostegno sociale, il grado di solitudine e di isolamento e la presenza di sostegno pratico del vicinato.



# 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](mailto:info@sisa.it) • Web [www.sisa.it](http://www.sisa.it)

### **SEGRETARIA ORGANIZZATIVA**



**aristeia**

V.le Maresciallo Pilsudski, 118  
00197 Roma

Tel 06 845431 • Fax 06 84543700  
E-mail [roma@aristeia.com](mailto:roma@aristeia.com)  
Web [www.aristeia.com](http://www.aristeia.com)



[www.sisa.it](http://www.sisa.it)



SOCIETÀ ITALIANA  
PER LO STUDIO  
DELL'ATEROSCLEROSI

# Edizioni Internazionali srl

EDINT

EDIZIONI INTERNAZIONALI srl  
**EDIMES**  
Edizioni Medico Scientifiche - Pavia



EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

**EDIMES**

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

La divisione **EDIMES** pubblica 18 riviste (7 ufficiali di Società Scientifiche) e tiene in catalogo circa 100 titoli di volumi riguardanti la Medicina e la Comunicazione Medico Scientifica

## ■ Alcune riviste:

### **NEW MICROBIOLOGICA**

Rivista con Impact Factor - Pub Med Indexed

**A. Lazzarin** editor

### **REUMATISMO**

Rivista Ufficiale S.I.R. - Società Italiana Reumatologia

**M.A. Cimmino** editor

### **LE INFEZIONI IN MEDICINA** • S. Esposito e Coll. editors

Rivista Ufficiale SIMIT - Società Italiana Malattie Infettive Tropicali

### **GIORNALE ITALIANO DELL'ARTERIOSCLEROSI**

Rivista Ufficiale S.I.S.A. - Società Italiana per lo Studio dell'Arteriosclerosi

### **SEMINARI DI EMATOLOGIA CLINICA** • A. Bosi editor

### **ARS PNEUMOLOGICA** • A.G. Corsico editor

### **ARS REUMATOLOGICA** • R. Caporali editor

### **IPC "Infezioni nel Paziente Critico"** • F.G. De Rosa editor

### **CARDIOMED** • M. Volpe editor

### **TPC "Total Patient Care in HIV & HCV"**

G. Rizzardini editor

### **UROLOGIA PRATICA** • P.F. Bassi editor

### **HEPATITIS WORLD** • A. Craxì editor

## ■ Alcuni titoli di volumi pubblicati:

### **SENOLOGIA**

a cura di U. Veronesi e G. Coopmans

### **LO SCOMPENSO CARDIACO**

a cura di P.L. Malini, E. Perugini, C. Rapezzi, B. Magnani

### **PSA - ANTIGENE PROSTATICO SPECIFICO**

a cura di P. Rigatti, V. Scattoni

### **PROLEGOMENI - STUDIO DELLA FISICA DEL FEGATO**

a cura di N. Dioguardi

### **LE ARITMIE CARDIACHE**

a cura di L. dei Cas

### **LA TERAPIA DELL'INSUFFICIENZA CARDIACA**

a cura di M. Volpe

EDINT

La divisione EDINT pubblica in preferenza libri per ragazzi

## ■ Alcuni titoli:

### **ORBITAL HOTEL**

Volume scritto da **Claudio Apone**

presentato da **Max Pezzali**

disegnato da **Marco Lodola**

Ambientato e "vissuto" nello spazio

### **DOTTORE! DOTTORE!**

Volume scritto da **Paolo Zanocco** (medico)

Racconta con sonetti e dialoghi ironici

la professione di un Medico Pediatra di provincia



**VISCONTEA**  
**TIPOGRAFIA**  
**EDITORIALE**

Pubblica prevalentemente libri di "storia regionale e locale"

## ■ Alcuni titoli:

### **"FIGURE E FIGURI" DEL RISORGIMENTO IN LOMBARDIA**

a cura di **I. Montanelli** e Coll.

Si racconta di vita, fatti e misfatti di personaggi del risorgimento Lombardo

### **PAVIA CISALPINA E NAPOLEONICA**

a cura di **G.E. de Paoli**

Descrive con precisione il periodo napoleonico a Pavia

