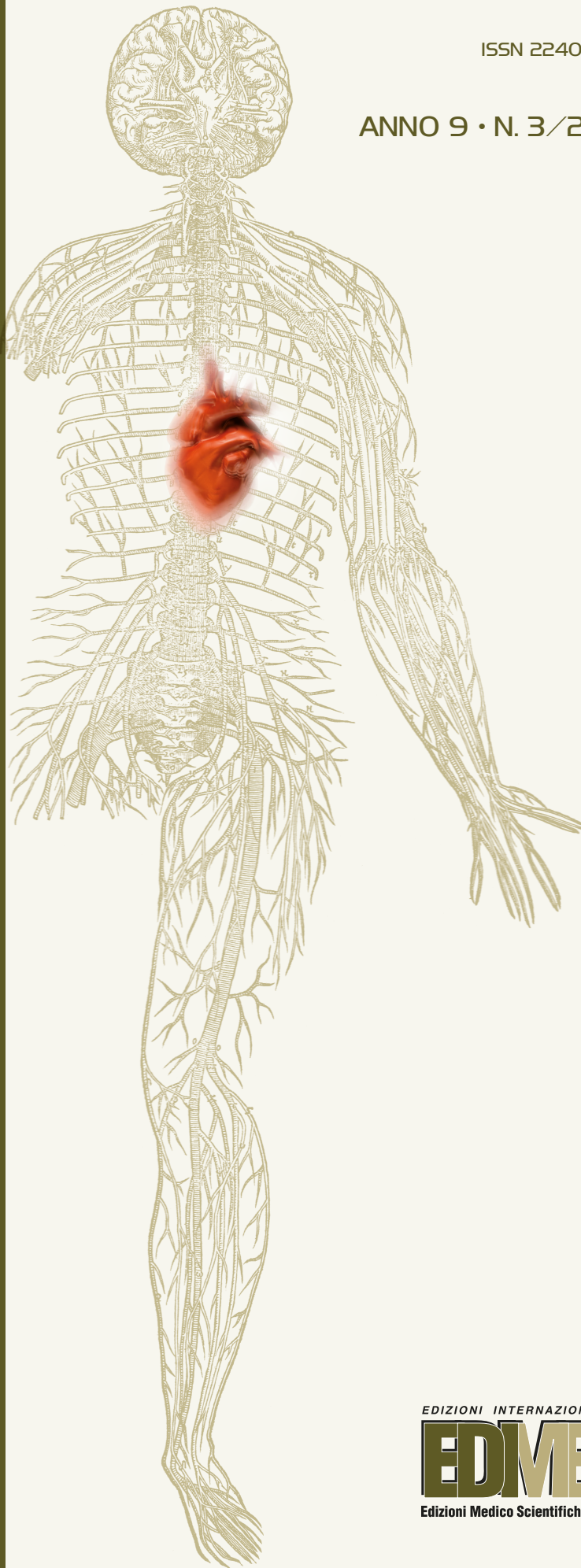


GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI

ISSN 2240-4821

ANNO 9 • N. 3/2018



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)

Anno 9 • N. 3 • 2018

SOMMARIO

■ LAVORO ORIGINALE

- La prevenzione cardiovascolare nel luogo di lavoro:
il progetto "Lavora con il cuore" 5**
**Cardiovascular prevention in the workplace:
the project "Put your heart into your work"**
*Volpe Roberto, Folco Emanuela, Peracino Andrea, Bolsi Cristina,
Magni Paolo, Martino Francesco, Vivenzio Antonio,
Mennini Francesco Saverio, Piccioni Massimo, Migliorini Raffaele*

■ RASSEGNE

- La sindrome chilomicronemica familiare 16**
Familial chylomicronaemia syndrome
D'Erasmus Laura, Di Costanzo Alessia, Marcello Arca
- Remnant del colesterolo, lipidi postprandiali e rischio
cardiovascolare 29**
**Cholesterol remnants, postprandial lipids
and cardiovascular risk**
*Francesco Angelico, Nicholas Cocomello, Francesco Baratta,
Daniele Pastori, Maria Del Ben*
- Nuove prospettive per le terapie anti-infiammatorie
nell'aterosclerosi. Quali evidenze dalla ricerca
di base e clinica? 41**
**New perspectives for anti-inflammatory therapies
in the atherosclerosis. Which evidence from basic
and clinical research?**
Andrea Baragetti, Fabrizia Bonacina

■ MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ

- Farmaci biotecnologici per le malattie cardiovascolari 57**
Biotechnological drugs for cardiovascular diseases
Mauro Giacca

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-Calabria)
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, Hubbert 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

■ Lavoro originale

Prevenzione cardiovascolare nel luogo di lavoro

Il progetto “Lavora con il Cuore” confronta la prevalenza dei principali fattori di rischio cardiovascolare nel periodo 2008-2012 con quella nel periodo 1998-2002, dopo una campagna di prevenzione cardiovascolare rivolta ai lavoratori dell'amministrazione centrale del Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali.

■ Rassegne

Sindrome chilomicronemica

Dopo aver presentato i quadri clinici delle sindromi chilomicronemiche familiari, la *review* illustra i più recenti sviluppi nella comprensione di questo disturbo metabolico complesso.

Remnants del colesterolo e rischio cardiovascolare

Numerose evidenze sperimentali attribuiscono ai *remnants* un ruolo primario nello sviluppo dell'arteriosclerosi, suggerendo un loro contributo al rischio residuo.

Terapie anti-infiammatorie nell'aterosclerosi

Lo studio CANTOS ha fornito un valido razionale per considerare i farmaci anti-infiammatori un nuovo approccio di prevenzione cardiovascolare. La *review* fornisce la comprensione dei meccanismi molecolari che accoppiano il metabolismo intracellulare dei lipidi alla risposta immunitaria e la loro rilevanza clinica.

■ Medicina, Scienza e Società

Farmaci biotecnologici per le malattie cardiovascolari

I nuovi farmaci biologici rappresentano l'ultima frontiera della terapia dell'aterosclerosi e delle sue complicanze.

LAVORO ORIGINALE

LA PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE NEL LUOGO DI LAVORO: IL PROGETTO "LAVORA CON IL CUORE"

Cardiovascular prevention in the workplace: the project "Put your heart into your work"

**ROBERTO VOLPE¹, EMANUELA FOLCO², ANDREA PERACINO², CRISTINA BOLSI²,
PAOLO MAGNI³, FRANCESCO MARTINO⁴, ANTONIO VIVENZIO⁵,
FRANCESCO SAVERIO MENNINI⁶, MASSIMO PICCIONI⁷, RAFFAELE MIGLIORINI⁷**

¹Servizio Prevenzione e Protezione, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR)
di Roma, Società Italiana per la Prevenzione Cardiovascolare (SIPREC);

²Fondazione italiana per il Cuore;

³Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano,
e Fondazione italiana per il Cuore;

⁴Dipartimento di Pediatria, "Sapienza" Università di Roma;

⁵Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi (SISA), Sezione Lazio;

⁶Centre for Economic and International Studies (CEIS) Economic Evaluation Health Technology
Assessment (EEHTA), Facoltà di Economia, Università di "Tor Vergata", Roma,
Kingston University, London;

⁷Istituto Nazionale Prevenzione Sociale (INPS), Roma

SUMMARY

Cardiovascular diseases continue to be the leading cause of death in the western world, and constitute a significant direct, but also indirect financial burden on our economies. Given that this data is also linked to the unsatisfactory management of risk factors, we must all commit to improving cardiovascular prevention strategies by looking for new paths such as, for instance, the workplace, in the context of what is known as 'workplace medicine'. This was the goal of the 'Put your heart into your work' campaign, conceived and organized by the Italian Heart Foundation in collaboration with the Prevention and Protection Service of the Italian National Research Council (CNR) of Rome and with Lazio Region section of the Italian Society for the Study of Atherosclerosis (SISA), and with the support and involvement of the Ministry of Labour and Social Policies, that has promoted a campaign to raise awareness on cardiovascular risk and to assess it in the workplace.

The study cohort consisted of 547 subjects, of which 25.8% were men (mean age 53.1 years) and 74.2% women (mean age 51.8 years). From the study, which assessed the prevalence of risk factors and used computer software to calculate cardiovascular risk, a statistically significant difference emerged between the two genders, with men, on the whole, scoring less favorably. As a result, when the percentage risk of a cardiovascular event occurring within the next 10 years was calculated, the outcome was moderate to high in 40.4% of men, compared to 9.3% of women.

Dietary and lifestyle changes were also prescribed as were nutraceutical or pharmacological interventions, when required. 98.0% of employees considered the initiative satisfactory or highly satisfactory, claiming in 81.5% of cases that the campaign had helped them improve their knowledge of cardiovascular risk factors; 97.0% said that they would take the advice they had received, while 68.5% said they would talk to their doctors.

These results confirm that prevention is also possible in the workplace. Through *ad hoc* campaigns, it is possible to identify employees who are at risk, increase their awareness and make them accountable for their own risk factors and their health. Guiding them towards a healthier lifestyle and ensuring that when undergoing treatment, they achieve greater therapeutic compliance, are fundamental aspects of improving cardiovascular prevention. At the same time, these steps contribute to reducing direct and indirect and social security costs, which translate into significant savings for the national economy. Furthermore, this can also be seen as the practical application of a modern human resources management policy, designed to create an alliance between employer and employee, by placing the employee (and her or his health) at the centre, as a human being.

Keywords: *Cardiovascular prevention, workplace medicine, screening, lifestyle, therapeutic adhesion.*

Introduzione

Le malattie cardiovascolari continuano a rappresentare la prima causa di morte in Europa (1, 2). La conoscenza crescente sui fattori di rischio e la sempre maggiore attenzione all'efficacia di una adeguata prevenzione, agendo in tempo utile, non ha raggiunto, o stenta a raggiungere, il comportamento individuale. In effetti, appare sempre più ampio il distacco tra quanto la ricerca scientifica e lo sviluppo clinico riescono ad ottenere ed il risultato a livello di individuo e, indirettamente, di popolazione, e quindi dei risultati di salute che potrebbero essere attesi. L'esito finale è che le molte necessità di intervento nell'ambito delle "Malattie Croniche Non Trasmissibili" (NCD), che occupano la parte preponderante del danno alla salute in una popolazione, non riescono sempre a portare quei risultati che gli organi inter-

nazionali si attendono. Tutto ciò ha un costo enorme: si stima che il costo delle malattie cardiovascolari nell'Unione Europea superi i € 210 miliardi l'anno (2); di questi, il 53% è associato a costi sanitari diretti, il 15% sono rappresentati da costi indiretti associati a perdita di produttività dovuta al decesso dei pazienti, l'11% a perdita di produttività dovuta a morbidità e il 21% sostenuti dalle famiglie in termini di "informal care" (2). In Italia, i costi diretti sanitari per le malattie cardiovascolari sono stati stimati pari a circa € 16 miliardi (2).

È importante considerare, comunque, che i costi indiretti non comprendono solo la perdita di produttività, ma anche le spese sostenute dal sistema previdenziale che è responsabile di fornire prestazioni assistenziali e previdenziali a tutte le persone malate e che eroga pensioni di inabilità ed assegni di invalidità. Da un'analisi condotta dal CEIS Sanità - Centre for Health Economics and Management (CHEM) - dell'Università Tor Vergata di Roma, in collaborazione con la banca dati INPS (3), le malattie del sistema cardiocircolatorio rappresentano una voce importante di costo, rispetto agli altri gruppi patologici, se consideriamo le singole prestazioni previ-

Indirizzo per la corrispondenza

Volpe Roberto
Servizio Prevenzione e Protezione,
Consiglio Nazionale delle Ricerche
CNR - Roma
E-mail: roberto.volpe@cnr.it

denziali (gli assegni ordinari di invalidità e le pensioni di inabilità) con una spesa dal 2009 al 2015 rispettivamente di € 4,7 miliardi (€ 667 milioni in media all'anno), corrispondente al 16% della spesa complessiva per invalidità previdenziale. Le malattie del sistema cardiocircolatorio sono, infatti, al secondo posto tra le cause di invalidità previdenziale, dopo le malattie oncologiche (*Figura 1*). Inoltre, al momento non sono ancora state elaborate stime sulla spesa per prestazioni assistenziali (a carico del contribuente) quali indennità di accompagnamento e pensione per invalido civile per soggetti affetti da malattie del sistema circolatorio. In questa situazione appare necessario individuare non solo dei percorsi nuovi di prevenzione, ma delle aree nuove in cui introdurre la filosofia di un "insegnamento alla prevenzione", soprattutto nell'area cardio-cerebrovascolare che rappresenta ancora oggi l'area più interessante della prevenzione in medicina. Infatti, alla luce dell'impatto di queste patologie sulla vita lavorativa e dei costi previdenziali che ne derivano, risulta sempre più evidente come aziende e istituzioni ricoprano un ruolo centrale nella promozione della salute, a partire

da quella dei propri dipendenti. In questa prospettiva, il luogo del lavoro, con la sua tradizione di successo nelle politiche di prevenzione del danno diretto del lavoro, può rappresentare una possibilità concreta e favorevole nell'ambito della cosiddetta *Workplace medicine*.

Questo è stato l'obiettivo dalla campagna "Lavora con il cuore", ideata e realizzata dalla Fondazione Italiana per il Cuore in collaborazione con il Servizio Prevenzione e Protezione del CNR di Roma e con la Società Italiana Studio Aterosclerosi (SISA), sezione Lazio, e con il patrocinio e il coinvolgimento del Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali, che ha promosso una campagna di sensibilizzazione e di valutazione del rischio cardiovascolare nel mondo del lavoro. Per rendere più significativo questo percorso è stata fatta una scelta proprio nell'area della politica di gestione del lavoro, che è appunto nel nostro paese il Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali.

"Lavora con il cuore"

Nonostante le campagne preventive volte a migliorare lo stile di vita dei no-

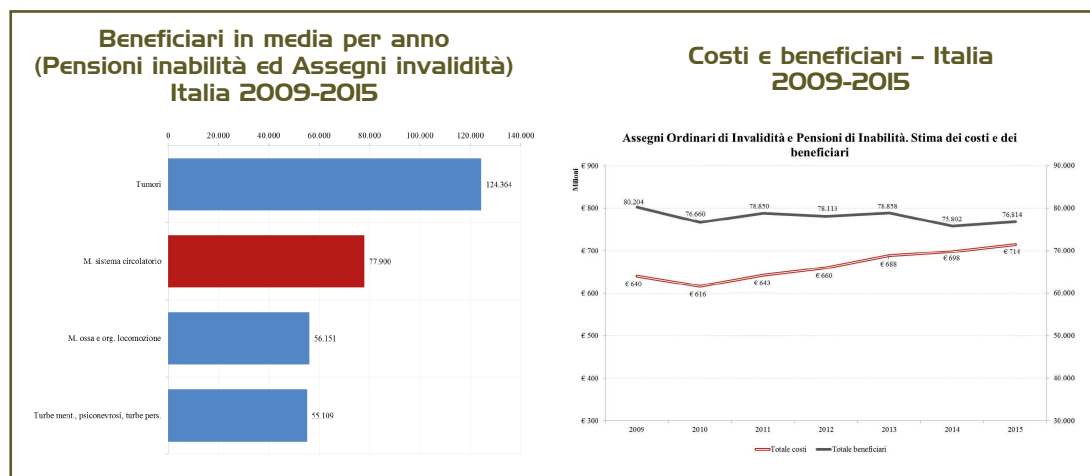


Figura 1 - La spesa pubblica previdenziale in Italia.w

stri pazienti e la disponibilità di farmaci sempre migliori, le malattie cardiovascolari continuano a rappresentare la prima causa di morte nel Mondo Occidentale (1, 2). Ciò appare in relazione anche al non soddisfacente controllo dei fattori di rischio. In effetti, i risultati del Progetto Osservatorio Epidemiologico Cardiovascolare dell'Istituto Superiore di Sanità e del Centro per il Controllo delle Malattie del Ministero della Salute, in cui si è andati a confrontare la prevalenza dei principali fattori di rischio cardiovascolare nel periodo 2008-2012 con quella nel periodo 1998-2002, ci indicano che, a fronte di un miglioramento dei dati riguardanti pressione arteriosa e fumo, si è assistito a un peggioramento dei dati riguardante colesterolemia e peso corporeo con un aumento della prevalenza dei soggetti in sovrappeso ed obesi (4).

Inoltre, anche se vi è un miglioramento della percentuale di soggetti diabetici, ipercolesterolemici e ipertesi in trattamento, la maggioranza (vale a dire, il 59% dei diabetici e degli ipertesi e il 72% degli ipercolesterolemici) (4) non è consapevole di essere portatore di questi fattori di rischio e, se ne è consapevole, non segue alcuna terapia. Infine, il fatto di essere in trattamento, non significa essere sotto controllo, in quanto spesso assistiamo a una non completa adesione alle terapie mediche da parte dei pazienti con conseguente non raggiungimento di valori considerati desiderabili secondo le Linee Guida.

Ne risulta che, mediamente, solo circa il 17% dei nostri pazienti diabetici, il 21% degli ipercolesterolemici e il 28% degli ipertesi è trattato in maniera adeguata e soddisfacente (4).

Questa sconcertante fotografia ci impone di migliorare le strategie di prevenzione cardiovascolare, anche cercando nuove vie come, ad esempio, i luoghi di lavoro

nell'ambito della cosiddetta *Workplace-medicine*, in cui si ha il grande vantaggio di poter raggiungere un elevato numero di individui, che rappresenta un campione significativo dell'intera cittadinanza, e di un'interazione costante e "vicina" tra medici e lavoratori portatori di fattori di rischio (5). Questo è stato l'obiettivo dalla campagna "Lavora con il cuore" ideata e realizzata dalla Fondazione Italiana per il Cuore in collaborazione con il Servizio Prevenzione e Protezione del CNR di Roma e con la Società Italiana Studio Aterosclerosi, sezione Lazio, e con il patrocinio e il coinvolgimento del Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali, che ha promosso una campagna di sensibilizzazione e di valutazione del rischio cardiovascolare nel mondo di lavoro.

Materiali e metodi

Il progetto "Lavora con il cuore" ha previsto un primo periodo, da settembre a ottobre 2015, in cui è stata avviata la campagna di informazione e sensibilizzazione del personale delle sedi romane dell'amministrazione centrale del Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali, consistita nell'effettuazione di seminari sul ruolo dei fattori di rischio cardiovascolare e sull'importanza e possibilità della loro prevenzione e sulla distribuzione di *depliant* e *poster* illustrativi del progetto, contenenti consigli e indicazioni utili per prevenire le malattie cardiovascolari attraverso l'adozione di stili di vita corretti, evidenziando "i numeri desiderabili" che ci consentono di ridurre il rischio cardiovascolare (*Figura 2*).

Successivamente, tra dicembre 2015 e febbraio 2016 si sono svolti, presso le sedi del Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali di Roma di via Flavia e via Fornovo, gli incontri dell'equipe medico-infermieri-



Figura 2 - Manifesto di presentazione della campagna "Lavora con il cuore".

stica con il personale ministeriale che aveva aderito all'iniziativa.

Questa fase prevedeva:

- la compilazione da parte del lavoratore di un questionario cartaceo, nel quale erano richieste informazioni su anamnesi familiare e stili di vita (alimentazione, attività fisica, fumo), fattori di rischio e malattie personali;
- la visita da parte del medico con la misurazione di alcuni parametri fisici, quali: peso, altezza, calcolo dell'indice di massa corporea, circonferenza addominale e pressione arteriosa;
- l'esecuzione, da parte degli infermieri, di un rapido test ematico tramite prelievo di una goccia di sangue capillare dal polpastrello, con la valutazione, in tempo reale mediante riflettometro, dei livelli di colesterolo totale, colesterolo HDL, colesterolo LDL, trigliceridi e glicemia. Per l'esecuzione del test, i

lavoratori erano stati invitati a presentarsi a digiuno da almeno due ore;

- l'utilizzo, da parte del personale medico, dei dati riguardanti i fattori di rischio cardiovascolare per il calcolo computerizzato del rischio percentuale di eventi cardiovascolari a 10 anni, mediante l'applicazione dello *score* del Framingham Heart Study ("Framingham 10 years risk of CVD") (6);
- la consegna da parte del personale medico dei risultati direttamente alla persona interessata (dati che, previo consenso informato, sono stati archiviati in forma anonima per fini statistici e di ricerca) e colloquio con il medico incentrato su consigli per migliorare il proprio stile di vita con l'alimentazione, l'attività fisica e/o la sospensione del fumo, e per migliorare il controllo dei fattori di rischio mediante un intervento, a seconda della gravità della situazione, nutraceutico in prevenzione primaria del rischio cardiovascolare basso-lieve o farmacologico in prevenzione primaria del rischio cardiovascolare moderato-alto e in prevenzione secondaria (7-9). In caso di valori particolarmente elevati, le persone sono state invitate a rivolgersi al proprio medico di medicina generale per un percorso di approfondimento personalizzato.

Analisi statistica

L'analisi statistica ha compreso:

- il *data cleaning* del *data base* (DB) attraverso verifica di tutte le variabili con correzione degli errori di imputazione, eliminazione delle incongruenze, recupero dei dati mancanti, ricalcolo delle variabili risultate non conformi (BMI);
- il calcolo del rischio cardiovascolare a 10 anni mediante lo *score* del Framingham Heart Study ("Framingham 10 ye-

ars risk of CVD”) (6) e inserimento dei dati nel DB;

- l’analisi statistica descrittiva di tutte le variabili (distribuzione di frequenza per le variabili categoriche, calcolo della media e della deviazione standard per le variabili quantitative, distinte per sesso);
- l’analisi statistica inferenziale (Chi square e t-test) per la valutazione di

differenze statisticamente significative tra i due sessi nelle variabili di interesse.

Risultati

Il campione esaminato è risultato composto da 547 soggetti, di cui 141 (25,8% del campione) uomini e 406 (74,2% del cam-

Tabella I - Caratteristiche dei soggetti partecipanti allo studio (n. 547).

	Uomini (n. 141)	Donne (n. 406)	Totale (n. 547)	P
Età media (DS)	53,1 (7,6)	51,8 (7,1)	52,1 (7,2)	$p=0,07^*$
Menopausa (%)			77 (81,9%)	
<i>sì</i>	–	252 (62,1%)	252 (62,1%)	
<i>no</i>	–	140 (34,5%)	140 (34,5%)	
<i>non so</i>	–	14 (3,4%)	14 (3,4%)	
Abitudine al fumo (%)				$p=0,38^{**}$
<i>sì</i>	27 (19,1%)	97 (23,9%)	124 (22,7%)	
<i>no</i>	94 (66,7%)	264 (65,0%)	358 (65,4%)	
<i>ex fumatore</i>	20 (14,2%)	45 (11,1%)	65 (11,9%)	
Attività fisica (%)				$p<0,05^{**}$
<i>intensa</i>	7 (5,0%)	6 (1,5%)	13 (2,4%)	
<i>moderata</i>	45 (31,9%)	104 (25,6%)	149 (27,2%)	
<i>lieve</i>	59 (41,8%)	216 (53,2%)	275 (50,3%)	
<i>nessuna</i>	30 (21,3%)	80 (19,7%)	110 (20,1%)	
Parametri medi (DS):				
Rischio cardiovascolare	9,8 (6,1)	4,1 (4,3)	5,5 (5,4)	$p<0,05^*$
Body mass index(kg/m ²)	26,6 (3,7)	24,2 (4,5)	24,8 (4,5)	$p<0,05^*$
Circonferenza addominale (cm)	96,8 (11,8)	84,8 (12,2)	87,9 (13,2)	$p<0,05^*$
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)	127,5 (14,4)	120,8 (16,2)	122,5 (16,0)	$p<0,05^*$
Pressione arteriosa diastolica (mmHg)	81,1 (10,0)	74,5 (9,6)	76,2 (10,2)	$p<0,05^*$
Colesterolo totale (mg/dL)	195,0 (38,7)	215,0 (39,3)	209,8 (40,1)	$p<0,05^*$
Colesterolo LDL (mg/dL)	117,7 (35,2)	119,7 (33,5)	119,2 (33,9)	$p=0,54^*$
Colesterolo HDL (mg/dL)	50,3 (14,9)	70,7 (17,5)	65,5 (19,0)	$p<0,05^*$
Trigliceridi (mg/dL)	138,6 (80,9)	121,7 (67,3)	126,0 (71,4)	$p<0,05^*$
Glicemia (mg/dL)	101,9 (17,4)	96,5 (13,4)	97,9 (14,7)	$p<0,05^*$

* t-test.

**Chi square.

Nota: per 9 soggetti non sono disponibili i valori di colesterolo LDL.

pione) donne, di cui il 62,1% in menopausa (*Tabella 1*), con un tasso di partecipazione che è stato del 46,1% per gli uomini e del 59,6% per le donne.

L'età media è risultata di 53,1 anni per gli uomini e 51,8 per le donne (differenza non statisticamente significativa); il 19,1% degli uomini e il 23,9% delle donne sono risultati fumatori, mentre ex-fumatori sono risultati il 14,2% degli uomini e l'11,1% delle donne (differenza non statisticamente significativa); un'attività fisica intensa o moderata è prevalente negli uomini (36,9%) rispetto alle donne (27,1%) (differenza statisticamente significativa), mentre il 21,3% degli uomini e il 20,1% delle donne non svolgono alcuna attività fisica.

Per quanto riguarda i parametri cardiometabolici, il confronto dei dati tra i due generi ha evidenziato differenze statisticamente significative a sfavore degli uomini per quanto riguarda i valori medi di BMI (26,6 kg/m² negli uomini e 24,2 kg/m² nelle donne), circonferenza addominale (96,8 cm *vs* 84,8 cm), pressione arteriosa sistolica (127,5 mmHg *versus* 120,8 mmHg), pressione arteriosa diastolica (81,1 mmHg *versus* 74,5 mmHg), colesterolo HDL (50,3 mg/dL negli uomini *versus* 70,7 mg/dL nelle donne), trigliceridi (138,6 mg/dL negli uomini *versus* 121,7 mg/dL nelle donne), glicemia (101,9 mg/dL negli uomini *versus* 96,5 mg/dL nelle

donne) e il rischio cardiovascolare a 10 anni (9,8% negli uomini *versus* 4,1% nelle donne); a sfavore delle donne per quanto riguarda i valori medi del colesterolo totale (195,0 mg/dL *versus* 215,0 mg/dL), mentre non è risultata statisticamente significativa la differenza nei valori medi di colesterolo LDL.

La valutazione della percentuale di soggetti con fattori di rischio cardiovascolare ha messo in evidenza una differenza statisticamente significativa tra i due generi a sfavore degli uomini (*Tabella 2*): infatti, se un colesterolo elevato è risultato più frequente nelle donne (64,3%) rispetto agli uomini (40,4%), obesi sono risultati il 15,6% degli uomini *versus* l'8,9% delle donne, con pressione arteriosa elevata il 33,3% degli uomini *versus* il 16,0% delle donne, con glicemia elevata il 7,1% degli uomini e il 3,0% delle donne. Anche il riscontro di trigliceridi elevati è risultato più frequente negli uomini rispetto alle donne (14,9% *vs* 9,9%), ma questa differenza non ha raggiunto la significatività statistica. Di conseguenza, quando si è andati a calcolare il rischio percentuale di avere un evento cardiovascolare a 10 anni (6), questo è risultato moderato nel 31,9% degli uomini *vs* l'8,1% delle donne ed elevato nell'8,5% negli uomini *versus* solo l'1,2% delle donne (*Figura 3*). Tali differenze sono risultate tutte statisticamente significative. In ta-

Tabella 2 - Prevalenza (%) dei soggetti partecipanti allo studio portatori dei principali fattori di rischio cardiovascolare.

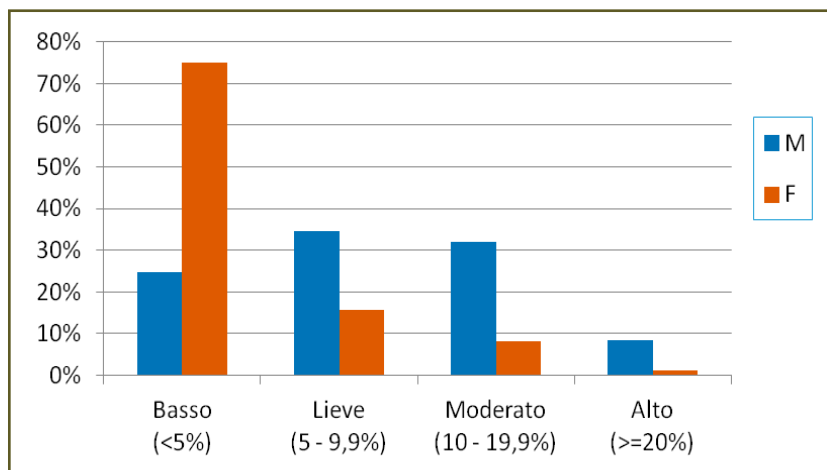
	Uomini (n. 141)	Donne (n. 406)	Totale (n. 547)	P
Obesi (BMI ≥30)	15,6%	8,9%	10,6%	<i>p</i> <0,05*
Ipertesi (PAS ≥140 mmHg e/o PAD ≥90 mmHg)	33,3%	16,0%	20,5%	<i>p</i> <0,05*
Ipercolesterolemici (colesterolo totale ≥200 mg/dL)	40,4%	64,3%	58,1%	<i>p</i> <0,05*
Ipertrigliceridemia (≥200 mg/dL)	14,9%	49,9%	11,2%	<i>p</i> =0,10*
Diabete (glicemia ≥126 mg/dL)	7,1%	3,0%	4,0%	<i>p</i> <0,05*
Rischio CV alto (≥20%)	8,5%	1,2%	3,1%	<i>p</i> <0,05*

Figura 3 - Rischio CV (%) a 10 anni dei soggetti partecipanti allo studio (n. 547) calcolato secondo il Framingham Heart Study score.

M 24,8%, M 34,7%,
M 31,9%, M 8,5%

F 74,9%, F 15,8%,
F 8,1%, F 1,2%

Tot. 62,0%, Tot. 20,7%,
Tot. 14,3%, Tot. 3,1%



bella 3 sono riportati i parametri medi dei soggetti arruolati stratificati in base al valore di BMI, con una chiara relazione tra incremento del BMI e prevalenza di fattori di rischio cardiovascolare, ad eccezione del colesterolo totale e LDL.

La percentuale di diete assegnate ai soggetti visitati ha mostrato una netta prevalenza di diete ipolipidiche (29%) negli ipercolesterolemici, ipolipidica-ipoglicidica (28%) negli ipertrigliceridemicici o con iperlipemia combinata e/o sovrappeso, mentre il 9% ha ricevuto una dieta per l'ipertensione, il 7% per l'obesità e il 3% per il diabete. Il 24% non ha avuto bisogno di alcuna indicazione nutrizionale.

Infine, del questionario compilato dai partecipanti alla conclusione della campagna è emerso che: il 10,5% delle persone coinvolte non aveva alcuna conoscenza dei fattori di rischio delle malattie cardiovascolari, nonostante il 34,6% dei partecipanti fossero fumatori o ex-fumatori e il 20,1% avessero uno stile di vita assolutamente sedentario; il 21,0% ha dichiarato di aver scoperto, proprio grazie alla campagna, di essere portatore di fattori di rischio cardiovascolare; il 98% dei lavoratori ha giudicato soddisfacente/molto soddisfacente l'iniziativa affermando, nell'81,5% dei casi, che la campagna ha permesso di migliorare le proprie conoscenze sui fattori di rischio cardiovascolare; il 97,0% ha dichia-

Tabella 3 - Valori medi (DS) dei parametri cardiometabolici dei soggetti partecipanti allo studio in relazione al valore del Body Mass Index.

	Obesi (n. 58, 10,6%)	Sovrappeso (n. 180, 32,9%)	Normopeso (n. 294, 53,7%)	Sottopeso (n. 15, 2,7%)
Pressione arteriosa sistolica	132,6 (17,8)	125,6 (13,3)	119,1 (15,9)	113,6 (17,3)
Pressione arteriosa diastolica	82,7 (10,6)	78,9 (9,5)	73,6 (9,4)	68,8 (9,5)
Colesterolo totale	208,7 (43,7)	209,1 (42,0)	210,8 (38,4)	203,4 (37,9)
Colesterolo LDL	120,6 (37,2)	122,7 (32,2)	117,6 (34,4)	103,9 (28,0)
Colesterolo HDL	54,0 (17,5)	58,3 (17,3)	71,3 (17,9)	79,7 (15,6)
Trigliceridi	178,6 (108,5)	137,4 (77,5)	109,7 (50,0)	105,5 (51,0)
Glicemia	102,3 (22,4)	101,25 (16,3)	94,9 (10,8)	98,6 (10,6)

Nota: per 9 soggetti non sono disponibili i valori di colesterolo LDL.

rato che avrebbe tenuto conto dei consigli ricevuti e il 68,5% ne avrebbe parlato con il proprio medico curante.

Discussione

In considerazione del fatto che le malattie cardiovascolari rappresentano la parte prominente della mortalità in Europa (1, 2), appare fondamentale promuovere salute e prevenzione cardiovascolare anche nei luoghi di lavoro, posti dove la persona trascorre un numero di ore importante sia dal punto di vista quantitativo che qualitativo, sensibilizzando non solo il datore di lavoro, ma anche il lavoratore stesso alla prevenzione (5). A tal riguardo, i datori di lavoro, sia pubblici che privati, di concerto con i medici impiegati nella prevenzione cardiovascolare, possono: svolgere un ruolo attivo nella promozione della salute sui luoghi di lavoro contribuendo a favorire incontri di *counseling* per informare sull'importanza della prevenzione delle malattie non trasmissibili con, in primis, le patologie cardiovascolari; effettuare campagne di controllo e valutazione dei fattori di rischio cardiovascolare nei luoghi di lavoro; proporre un'alimentazione corretta e bilanciata nelle mense aziendali (10-13); promuovere azioni di *team building* incentrate su movimento e attività fisica, mettendo a disposizione adeguati spazi o favorendo, l'accesso alle palestre anche esterne alle aziende stesse (13); rinforzare i programmi di protezione contro il fumo (14).

In sintonia con queste premesse, nel nostro studio, dopo aver valutato la prevalenza dei fattori di rischio e calcolato il rischio cardiovascolare utilizzando programmi computerizzati, si è attuato un intervento dietetico e sullo stile di vita e all'occorrenza, a seconda della gravità del rischio, anche nutraceutico o farmacolo-

gico (7-9). L'Intervento è stato accolto favorevolmente dai lavoratori partecipanti allo studio, come dimostrato dal questionario di valutazione compilato al termine. Alla luce di questi risultati, anche nei luoghi di lavoro è possibile, con campagne ad hoc, individuare i lavoratori a rischio, sensibilizzarli nei confronti dei propri fattori di rischio e della propria salute e orientarli a un miglior stile di vita e, se in terapia, sensibilizzarli a migliorare l'adesione terapeutica, in attesa di un eventuale intervento programmato (15, 16). Inoltre, prevenzione, corretta gestione e adeguata somministrazione delle terapie (e delle tecnologie), oltre a incidere positivamente sull'efficacia dell'intervento e della qualità di vita, possono determinare nel periodo medio-lungo un contenimento importante dei costi sanitari diretti (ospedalizzazioni evitate, peggioramenti di malattia, controllo delle comorbidità), indiretti, previdenziali (pensioni di inabilità ed assegni ordinari di invalidità) e assistenziali (indennità di accompagnamento e pensioni per invalidi civili), insieme alla riduzione dei costi sostenuti direttamente dalle famiglie, con un importante risparmio economico per il sistema Paese (3). Agire sui fattori di rischio e sulla loro prevenzione può tradursi in un vantaggio per il mondo del lavoro e per lo stesso lavoratore: mantenere i propri collaboratori in salute significa ridurre i giorni di assenza per malattie e cure, migliorare l'ambiente di lavoro, i livelli di efficienza e di produttività, ma salvaguardare anche il lavoro della persona e le prospettive di carriera (17). Questa importante azione di *welfare* rappresenta, altresì, un esempio moderno di politiche di gestione del lavoro e dei lavoratori in un'ottica di alleanza tra datore di lavoro e dipendenti, mettendo al centro il lavoratore e il suo stato di salute. Il mondo del lavoro che da

anni difende il lavoratore dai danni e dalle malattie che il lavoro stesso può causare, oggi può aiutare il lavoratore a costruire il proprio concetto di salute e a salvaguardarla anche nei confronti di quelle malattie che non sono direttamente correlate al lavoro. Si tratta in definitiva di costruire una cultura della salute.

Quella sperimentata con successo al Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali, grazie all'alleanza tra mondo scientifico e associativo, e la politica attenta ai bisogni dei lavoratori può costituire un valido esempio da seguire nei vari ambiti lavorativi.

Ringraziamenti

Gli Autori ringraziano: il Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali e, in particolare, il Sottosegretario On. Luigi Bobba, la dottoressa Cinzia Alitto e lo staff

della Segreteria del Sottosegretario, la dottoressa Stefania Cresti, il dottor Edoardo Gambacciani, la dottoressa Silvana Pantalone, la dottoressa Barbara Siclari per l'organizzazione e il completo supporto alla campagna "Lavora con il cuore" e tutto il personale delle Sedi romane di via Flavia, via Fornovo e via Veneto che ha partecipato allo screening; la dottoressa Sabrina Valle dell'ospedale Spallanzani di Roma per la valutazione statistica; le infermiere Lucia Cafarotti, Sara Ricco e Maria Luisa Sorce per l'effettuazione dei test ematici; la EXXE Italia srl, distributrice per l'Italia dello strumento Cardiocheck della PTS Diagnostics di Indianapolis (USA) utilizzato per l'effettuazione dei test ematici e il dottor Nicola Marcucci della EXXE Italia per l'assistenza tecnica; l'azienda farmaceutica Sanofi per il supporto incondizionato alla campagna "Lavora con il cuore".

RIASSUNTO

Le malattie cardiovascolari continuano a rappresentare la prima causa di morte nel mondo occidentale. Considerando che tale dato appare in relazione anche al non soddisfacente controllo dei fattori di rischio, tutti noi dobbiamo migliorare le strategie di prevenzione cardiovascolare cercando nuove vie come, ad esempio, i luoghi di lavoro nell'ambito della cosiddetta *Workplace medicine*. Questo è stato l'obiettivo dalla campagna "Lavora con il cuore", ideata e realizzata dalla Fondazione Italiana per il Cuore in collaborazione con il Servizio Prevenzione e Protezione del CNR di Roma, e con la Società Italiana Studio Aterosclerosi, sezione Lazio, e con il patrocinio e il coinvolgimento del Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali, volta alla valutazione del rischio cardiovascolare nel mondo di lavoro. Il campione esaminato è composto da 547 soggetti, di cui il 25,8% uomini (età media 53,1 anni) e il 74,2% donne (età media 51,8 anni). Dallo studio, che ha valutato la prevalenza dei fattori di rischio e calcolato il rischio cardiovascolare utilizzando programmi computerizzati, è emersa una differenza statisticamente significativa tra i due generi, per lo più a sfavore degli uomini. Il rischio percentuale di avere un evento cardiovascolare a 10 anni è risultato moderato-alto nel 40,4% degli uomini rispetto al 9,3% delle donne. Si è attuato anche un intervento dietetico e sullo stile di vita e, all'occorrenza, nutraceutico o farmacologico. Il 98,0% dei lavoratori ha giudicato soddisfacente/molto soddisfacente l'iniziativa affermando, nell'81,5% dei casi, che la campagna ha permesso di migliorare le proprie conoscenze sui fattori di rischio cardiovascolare. Questi risultati ci confermano che anche nei luoghi di lavoro è possibile che, con campagne ad hoc, i lavoratori a rischio vengano individuati, sensibilizzati e responsabilizzati nei confronti dei propri fattori di rischio e della propria salute e orientati a uno stile di vita migliore e, quando in terapia, abbiano una migliore adesione terapeutica.

Parole chiave: *Prevenzione cardiovascolare, Workplace medicine, screening, stile di vita, adesione terapeutica.*

Bibliografia

1. Mendis S, Puska P, Norrving B, eds. *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011.
2. Wilkins E, Wilson L, Wickramasinghe K, et al. *European Cardiovascular Disease Statistics 2017*. European Heart Network, Brussels.
3. <http://www.fondazionecuore.it/GMC2017/RassegnaStampa.pdf>
4. Giampaoli S, Vannuzzo D, on behalf the Research Groups of the Italian Cardiovascular Epidemiological Observatory/Health Examination Survey. (2014). The Italian cardiovascular health. The Italian atlas of cardiovascular diseases, 3rd edition. *G Ital Cardiol*. 2014; 15 (Suppl. 1): 1S-31S.
5. Volpe R, Marchant S. A golden opportunity: prevention in the workplace. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2016; 23: 1-2.
6. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care. The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008; 117: 743-753.
7. Volpe R, Predieri S, Magli M, et al. Healthy fats for a healthy nutrition. An educational approach on working places to regulate food choices and improve prevention of non-communicable diseases. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2015; 22: 395-401.
8. Volpe R, Cicero AFG. Non-Pharmacological treatment of hypercholesterolemia. In: "Recent Advance in Cardiology", Milei J, Ambrosio G, eds. New York, Nova Science Publishers Inc. 2014; 25-54.
9. Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the task force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2013; 34: 2949-3003.
10. Korre M, Tsoukas MA, Frantzeskou E, et al. Mediterranean diet and workplace health promotion. *Curre Cardiovasc Risk Rep*. 2014; 8: 416.
11. Leighton F, Polic G, Strobel P, et al. Health impact of Mediterranean diets in food at work. *Public health Nutr*. 2009; 12: 1635-1643.
12. Occupational Medicine Forum. What is the Mediterranean Diet and how can it be used to promote workplace health? *J Occup Environ Med*. 2016; 58: 111-113.
13. Anderson LM, Quinn TA, Glanz K, et al. The effectiveness of worksite nutrition and physical activity interventions for controlling employee overweight and obesity: a systematic review. *Am J Prev Med*. 2009; 37: 340-357.
14. Samaha HL, Correa-Fernandez V, Lam C. Addressing Tobacco Use Among Consumers and Staff at Behavioral Health Treatment Facilities Through Comprehensive Workplace Programming. *Health Promot Prac*. 2017; 18: 561-570.
15. Simpson RJ Jr, MD, Mendys P. The effects of adherence and persistence on clinical outcomes in patients treated with statins: A systematic review. *Journal of Clinical Lipidology* 2010; 4: 462-471.
16. Corrao G, Parodi A, Nicotra F, et al. Better compliance to antihypertensive medications reduces cardiovascular risk. *J Hypertens*. 2011; 29: 610-618.
17. Serxner SA, Gold DB, Bultman KK. The impact of behavioral health risks on worker absenteeism. *J Occup Environ Med*. 2001; 43: 347-354.

RASSEGNA

LA SINDROME CHILOMICRONEMICA FAMILIARE

Familial chylomicronaemia syndrome

LAURA D'ERASMO¹, ALESSIA DI COSTANZO¹, MARCELLO ARCA¹

¹Dipartimento di Scienze Cliniche e Specialità Mediche, "Sapienza",
Università degli Studi di Roma

SUMMARY

Chylomicronaemia presents in two distinct primary forms. The first form is a very rare monogenic severe chylomicronaemia (FCS), characterized by the pathological persistence of chylomicrons in plasma, a very severe hypertriglyceridemia (HTG) with triglycerides levels (TG) >10 mmol/L (886 mg/dl), with or without episodes of abdominal pain and acute pancreatitis. It is due to the lack of lipoprotein lipase (LPL) function resulting from homozygous or compound heterozygous mutations in *LPL* gene and/or in its modulators: *APOC2*, *APOA5*, *LMF1* and *GPIHBP1*. The second form, the polygenic multifactorial chylomicronaemia syndrome (MCS), is equally characterized by a very severe hypertriglyceridemia (HTG) as FCS, but it is typically multigenic; it is caused by the cumulative burden of common and rare variants and can be exacerbated by secondary factors. The recognition and correct diagnosis of monogenic FCS is challenging and often difficult due to its rarity, the lack of specificity of signs and symptoms and the large overlap in phenotypic characteristics with MCS. However, the onset of HTG often appear earlier in life and the incidence of acute pancreatitis is more frequent in patients with FCS as compared with patient with MCS. Noteworthy, FCS subjects are those who need an early and correct diagnosis. Based on recent data, we discuss new developments in understanding the basis of chylomicronaemia, a challenging metabolic disorder for which there is an unmet clinical need.

Keywords: Chylomicronaemia, hypertriglyceridemia, genetics, pancreatitis, therapy.

Con un'incidenza stimata in tutto il mondo di uno o due individui per milione, la sindrome chilomicronemica familiare (*familial chylomicronaemia syndrome* o FCS) è una rara malattia ereditaria delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TRLs)

(1). L'FCS si manifesta generalmente durante l'età infantile e la sua presenza è stata descritta in tutte le etnie, anche se una maggiore prevalenza è stata osservata in particolari aree geografiche quali il Quebec, a causa di un effetto fondatore. Con il termine chilomicronemia si intende un accumulo nel flusso sanguigno di chilomicroni i quali sono delle grandi particelle lipoproteiche ricche in trigliceridi (TGs) prodotte dagli enterociti dopo un pasto (1, 2). In condizioni fisiologiche, i chilomicroni vengono rapidamente eliminati

Indirizzo per la corrispondenza

Marcello Arca
Dipartimento di Scienze Cliniche
e Specialità Mediche, "Sapienza",
Università degli Studi di Roma
E-mail: marcello.arca@uniroma1.it

dal plasma grazie all'azione della lipoproteina lipasi (LPL), un enzima situato sulla superficie endoteliale del tessuto adiposo e muscolare, che idrolizza i TGs in acidi grassi e glicerolo. I chilomicroni vengono poi convertiti in chilomicroni *remnant*, che vengono a loro volta captati da specifici recettori cellulari (3). Nella FCS, una mancanza di funzionalità della LPL, principalmente causata da mutazioni nei geni coinvolti nella funzione LPL, altera marcatamente la *clearance* dei chilomicroni dal plasma. I primi casi descritti di FCS riguardavano soggetti omozigoti o eterozigoti composti per mutazioni nei geni *LPL* e apolipoproteina C2 (*APOC2*). Successivamente, mutazioni nei geni che codificano per apolipoproteina A5 (*APOA5*), fattore di maturazione della lipasi 1 (*LMF1*), glicosilfosfatidilinositolo ancorato alla proteina ad alta densità legante le lipoproteine 1 (*GPIHBP1*) sono stati identificati come causali di FCS (4-10). La genetica della chilomicronemia include primariamente forme monogeniche a trasmissione autosomica recessiva (FCS primaria o monogenica) associate tipicamente a mutazioni bialleliche in geni che codificano per gli enzimi di *check-point* chiave implicati nella lipolisi (nel gene *LPL* o nei geni che codificano fattori interagenti, tra cui *APOA5*, *APOC2*, *LMF1* e *GPIHBP1* (2, 11)). La chilomicronemia monogenica colpisce da una persona su 100.000 a 1.000.000 (2). Molto più comunemente, al contrario delle forme monogeniche, è possibile osservare una predisposizione genetica alla chilomicronemia che è la conseguenza dell'accumulo di fattori poligenici (chilomicronemia poligenica); questi sono rappresentati da molteplici varianti genetiche, sia comuni che rare, con piccoli effetti individuali sui livelli di trigliceridi che, accumulandosi, aumentano il rischio di sviluppare chilomicronemia

(2). Tuttavia, non tutti i soggetti con una predisposizione poligenica sviluppano la sindrome; infatti, nel caso della sindrome chilomicronemica multifattoriale (multifactorial chylomicronaemia syndrome o MCS), sono solitamente richiesti fattori secondari non genetici in grado di scatenare la comparsa di chilomicronemia (sindrome chilomicronemica multifattoriale o MCS). Questi includono diabete di tipo 1 o 2 scarsamente controllato (12-14), eccessiva assunzione di alcol (15-17), cattiva alimentazione, obesità, proteinuria, lupus eritematoso sistemico (LES), gravidanza (15-17) e alcuni farmaci quali estrogeni, tamoxifene, glucocorticoidi, beta-bloccanti e inibitori della proteasi (15-17). I meccanismi reali con cui questi fattori possono aumentare il rischio di chilomicronemia sono complessi; tra questi potrebbe essere implicato l'aumento della produzione di TRLs, in seguito a saturazione della piattaforma lipolitica, il cui funzionamento potrebbe essere compromesso in seguito ad una causa di natura genetica (15, 18). In alternativa, alcuni fattori possono direttamente down-regolare la lipolisi, amplificando così un danno parziale dovuto a fattori ereditari. Rispetto alla FCS monogenica, l'MCS sembrerebbe essere associata ad un quadro di minore gravità (2).

C'è comunque da sottolineare che, in una grande percentuale di pazienti con fenotipo simile ad FCS, non viene rilevata alcuna mutazione nei geni candidati, motivo per cui è possibile che in futuro vengano identificati ulteriori geni coinvolti nella patogenesi di questa malattia (19, 20). La complicanza più temibile associata alla sindrome chilomicronemica familiare è la pancreatite acuta (PA) (21). Tuttavia, rimane difficile identificare i pazienti con FCS che svilupperanno PA rispetto quelli che non lo faranno. La PA è comunque un evento molto pericoloso per la vita del

paziente, che determina la necessità di ospedalizzazione e, nei casi più gravi, si associa a morte. Le terapie ipolipemizzanti attualmente disponibili hanno un'efficacia limitata nei pazienti affetti da FCS in cui i livelli di trigliceridi circolanti si mantengono elevati nonostante i farmaci. Per tale motivo in questi pazienti sono necessarie misure preventive (alimentazione a basso contenuto in grassi) al fine di limitare l'elevazione della chilomicronemia postprandiale ed evitare eventi potenzialmente catastrofici. Ad oggi, una preoccupazione degli specialisti del settore, è che possano mancare gli strumenti necessari per una diagnosi clinica chiara di FCS primaria monogenica. Come discusso precedentemente, l'FCS è molto rara e gli alti livelli di TG, che comunemente contraddistinguono i pazienti che giungono ai nostri ambulatori, sono più spesso dovuti a fattori multifattoriali e poligenici (sindrome chilomicronemica multifattoriale o MCS) (7, 22). Ciò determina che il raro fenotipo FCS possa essere facilmente confuso con un fenotipo MCS con conseguente ritardo nella diagnosi della forma più grave e soprattutto quando già si siano verificati eventi acuti quali l'AP. Considerata la gravità del quadro clinico, al momento attuale, esiste un notevole interesse scientifico nello sviluppo di nuove terapie per gestire la più severa FCS monogenica, quella associata a più elevata mortalità e morbilità (quali, in particolare, pancreatiti acute recidivanti). Studi clinici dimostrano come alcuni di questi farmaci abbiano mostrato risultati promettenti in grado di facilitare notevolmente la gestione clinica di questi pazienti migliorandone anche l'impatto sulla qualità della vita.

Obiettivo di questa rassegna, è quello di fornire un quadro completo in modo da aiutare il clinico nella diagnosi differenziale della chilomicronemia monogenica

e poligenica. Questo potrebbe aiutare a identificare i soggetti potenzialmente a rischio di complicanze da indirizzare presso i centri di secondo livello.

La sindrome chilomicronemica primaria

1. Definizione

La sindrome chilomicronemica familiare (FCS - chilomicronemia primaria o monogenica) è una rara malattia monogenica caratterizzata da una grave ipertrigliceridemia (HTG), con presenza di chilomicroni a digiuno e livelli di trigliceridemia (TG) >10 mmol/L (886 mg/dl) ed elevata incidenza di pancreatiti acute e mortalità. Presenta la classica ereditarietà autosomica recessiva, con stime pubblicate di prevalenza di ~1: 1.000.000 (cifra approssimativamente uguale alla prevalenza stimata per l'ipercolesterolemia familiare omozigote) (2, 15).

Il deficit di LPL (codifica dell'enzima lipoproteina lipasi (LPL); OMIM # 238600) e di ApoC2 (codifica dell'apolipoproteina C-II, l'attivatore di LPL, OMIM # 207750), sono le condizioni patologiche storicamente responsabili della sindrome, ma di recente sono state individuate mutazioni a carico di altri geni che regolano il catabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TRLs), tra cui *APOA5* (codifica dell'apolipoproteina AV, un attivatore di LPL; OMIM # 144650), *LMF1* (codifica del fattore di maturazione della lipasi 1; OMIM # 611761) e *GPIHBP1* (codifica della glicosil-fosfatidilinositolo-ancorata ad alta densità-lipoproteina-binding protein 1; OMIM # 612757), i quali sembrano ricoprire un ruolo importante nella genesi della sindrome. Gli individui omozigoti o eterozigoti composti per mutazioni con perdita di funzione ad ampio effetto a carico dei 5 geni sopra descritti, hanno un'atti-

vità della lipoproteina lipasi ridotta e/o assente, causa principale del tipico fenotipo clinico che si osserva in questi pazienti.

La *conditio sine qua non* per la definizione di FCS primaria, indipendentemente dalla sua eziologia e dalle sue conseguenze cliniche, è la persistenza patologica dei chilomicroni nel plasma dopo un periodo di digiuno di 12-14 ore (23). Negli individui con metabolismo normale, i chilomicroni vengono eliminati dal plasma entro 3-4 ore dal consumo di un pasto contenente grassi. La presenza di chilomicroni a digiuno è associata tipicamente a livelli di TG a digiuno >10 mmol/L; tuttavia, in questi soggetti, i trigliceridi possono raggiungere valori anche di 7000-8000 mg/dl. Gli individui con FCS presentano solitamente livelli di colesterolo totale (CT) aumentati, ma questo dato non indica la presenza di una dislipidemia a carattere misto in quanto l'aumento del CT, in questo caso, è legato alla quota di colesterolo contenuta nelle TRLs (quota che è marginale nelle situazioni di normo-lipidemia ma che in questi casi diventa significativa). Al contrario, i livelli di colesterolo HDL e colesterolo LDL sono tipicamente particolarmente bassi (2).

La manifestazione più grave della chilomicronemia primaria è la pancreatite acuta, associata a mortalità nel 5-6% dei casi che può avvicinarsi al 30% in sottogruppi selezionati con sintomi clinici particolarmente gravi. L'FCS primaria viene solitamente diagnosticata in età pediatrica (anche se è possibile l'evoluzione asintomatica fino all'età giovane adulta) proprio per la comparsa di dolori addominali ricorrenti e/o episodi di pancreatite acuta. Studi retrospettivi mostrano come almeno il 15% dei pazienti con HTG severa presenti storia di pancreatite acuta, con tassi di pancreatite a 5 anni in più del 3,5% dei casi (24). Purtroppo, al momento non è

chiaro quali siano i meccanismi con i quali l'HTG severa conduca alla pancreatite. Esiste probabilmente una correlazione tra il rilascio di acidi grassi liberi (FFA) dai TGs per opera della lipasi pancreatica e la pancreatite acuta; infatti, gli FFA, in quanto tossici, potrebbero condurre a necrosi dei capillari e delle cellule acinari del pancreas (25). Un'altra possibile ipotesi è che l'aumento della viscosità plasmatica, dovuta alla presenza di un maggior numero di chilomicroni nella microcircolazione pancreatica, contribuisca allo sviluppo della pancreatite: l'interruzione del flusso di sangue a livello dei capillari condurrebbe ad ischemia e conseguentemente ad acidosi. Quest'ultima, favorirebbe l'attivazione del tripsinogeno in tripsina e l'insorgenza della pancreatite acuta (25). I rischi assoluti e relativi di sviluppare pancreatite aumentano quando i livelli di TG sono >10 mmol/L, e aumentano bruscamente quando i livelli di TGs sono >20 mmol/L (26-29). Molti dati dimostrano come il rischio di pancreatite in pazienti con FCS risulti marcatamente diminuito dopo riduzione dei livelli di trigliceridi a sottolineare quanto sia cruciale implementare i sistemi per l'identificazione dei soggetti affetti da FCS primaria e trovare una cura per HTG severa tipica di questi pazienti (30).

La relazione tra chilomicronemia primaria ed *end-point* cardiovascolare aterosclerotico è al contrario poco esplorata ma, nella chilomicronemia monogenica, la segnalazione di aterosclerosi prematura sembra essere una eccezione confermando il ruolo non aterogeno dei chilomicroni (31). Altri sintomi tipici dell'FCS sono la presenza di xantomi eruttivi, *lipemia retinalis*, epatosplenomegalia e, non di rado, coesistono alterazioni dell'attenzione e cefalea probabilmente da attribuire all'iperviscosità ematica causata dall'eccesso di chilomicroni (33, 34). Gli xantomi eruttivi, descritti

in circa un terzo dei pazienti con diagnosi di FCS, sono generalmente presenti sui glutei, sulle spalle e sulla superficie estensoria di mani e piedi e rappresentano verosimilmente la risposta infiammatoria all'accumulo di lipidi nei tessuti (33). La *lipemia retinalis* è una rara manifestazione oculare caratterizzata da alterazione dei vasi retinici che appaiono sbiancati all'esame del fondo dell'occhio sebbene la visione non sia compromessa (34). L'epatosplenomegalia è dovuta alla infiltrazione di macrofagi in risposta alla deposizione dei chilomicroni e si associa dunque alla presenza di steatosi epatica (34).

2. Enzimi chiave del Metabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TRLs)

La Lipoproteina Lipasi (LPL) è l'enzima chiave nell'idrolisi intravascolare dei TG contenuti nelle TRLs (in particolare chilomicroni e lipoproteine a bassissima densità, VLDL). L'LPL viene sintetizzata da diversi tessuti (sistema nervoso, fegato, reni, polmoni e dai macrofagi), ma la forma matura è espressa in modo particolare sulla superficie dell'endotelio capillare del tessuto adiposo e muscolare. Per diventare completamente funzionale, l'LPL necessita della presenza di cofattori aggiuntivi, tra cui ApoC2, ApoA5 e fattori recentemente identificati quali LMF1 e GPIHBP1 (35-36). Chilomicroni e VLDL forniscono ApoC2, attivatore di LPL, e ApoA5, modulatore della funzione di LPL al complesso LPL-lipoproteina. In particolare, si ritiene che l'ApoA5 stabilizzi il complesso lipoproteina-enzima e aumenti la lipolisi; quindi, quando l'ApoA5 è difettoso o assente, l'efficienza della lipolisi LPL mediata risulta ridotta (37, 38). Una volta attivata, LPL lega a sua volta GPIHBP1, nota come 'proteina glicosil-fosfatidilinositol - ancorata alla lipoproteina ad alta

densità (HDL) - legante 1'. Il GPIHBP1 è stata identificata come la proteasi endoteliale che facilita il traffico di LPL verso la superficie delle cellule endoteliali e il legame LPL, ApoC2 e ApoA5 creando una piattaforma funzionale che mette l'LPL in contatto con il suo substrato per avviare la lipolisi dei TGs (2, 20). Il sito di legame di GPIHBP1 putativo di LPL è stato identificato a valle del sito di legame dell'eparina tra gli amminoacidi 443 e 462. GPIHBP1 è una proteina endoteliale di 184 amminoacidi, che agisce come un trasportatore per LPL attraverso le cellule endoteliali al lume capillare e sembra essere il principale sito di legame per LPL sulla superficie endoteliale. GPIHBP1 appartiene alla famiglia delle proteine Ly6, così chiamato a causa di un dominio dell'antigene 6 dei linfociti che contiene 10 residui di cisteina, formando legami disolfuro e creando un caratteristico motivo strutturale a 3 dita. Il dominio Ly6 è cruciale perché è coinvolto nel legame con LPL e consente le interazioni di LPL con ApoC2, ApoA5 e lipoproteine ricche di TG sulla superficie endoteliale. Questi dati forniscono una spiegazione per il fenotipo HTG grave in pazienti con mutazioni in questa regione di LPL, le quali abolendo questo legame compromettono la lipolisi del TG (39). Recentemente, è stato identificato il ruolo del fattore di maturità della lipasi 1 (LMF1), emerso come fattore essenziale per la maturazione di LPL e della lipasi epatica (HL) nelle loro forme pienamente funzionali. Si tratta infatti di una molecola *chaperone* richiesta per il corretto *folding* ed espressione di LPL sulla superficie delle cellule endoteliali nonché della maturazione di LPL nel reticolo endoplasmico (40, 41).

3. La genetica: FCS vs MCS

La chilomicronemia monogenica può dunque derivare da mutazioni in uno o

più geni che compromettono la lipolisi e la clearance dei chilomicroni. Il gene più comunemente interessato è *LPL*, in cui le mutazioni con perdita di funzione rappresentano più del 90% dei casi (*Tabella 1*). Sono state descritte oltre 114 mutazioni sul gene *LPL* che portano alla chilomicronemia, comprese *mutazioni frameshift*, missenso e nonsenso; tuttavia, nessuna singola mutazione in *LPL* predomina. Sebbene la letteratura generale enfatizzi ancora *LPL* e *APOC2* (riconosciuto come secondo gene maggiormente implicato) come principali cause di chilomicronemia monogenica (2, 42), geni aggiuntivi sono stati implicati nella patogenesi di FCS monogenica (o primaria) (*Tabella 1*). Le mutazioni in altri geni che causano la chilomicronemia monogenica sono ancora più rare, con pochi probandi e familiari descritti in letteratura per ciascuna di esse. Queste altre mutazioni includono quelle in *APOA5*, *LMF1* e *GPIHBP1* (37). Le mutazioni in *APOA5* sono state descritte in tre famiglie (11, 37, 43-46). Mutazio-

ni in *GPIHBP1* sono state riportate in 10 famiglie (47-48). Le mutazioni in *LMF1* causano ridotta espressione di *LPL* e sono state descritte in due famiglie (11, 40, 46). *LMF1* e *GPIHBP1* sono esaltatori o enzimi chiave coinvolti nel corretto funzionamento della *LPL* e dunque, nell'idrolisi dei chilomicroni; i soggetti portatori di mutazioni recessive nei geni che codificano queste proteine tendono a presentare il tipico fenotipo clinico dell'FCS monogenica sebbene in questi pazienti l'esordio sia più tardivo e con tratti meno gravi rispetto agli individui con deficit di *LPL* e *ApoC2* (*Tabella 1*) (11, 46).

La chilomicronemia poligenica può essere anch'essa definitiva come "familiare"; sono state identificate varianti genetiche su geni multipli all'interno delle famiglie in grado di predisporre allo sviluppo di chilomicronemia. In questi casi, tuttavia, il tratto della malattia non mostra una forte trasmissione verticale attraverso le generazioni. In questi soggetti la suscettibilità al fenotipo risulta dall'accumulo di

Tabella 1 - Cause genetiche dell'iperchilomicronemia primaria monogenica (2).

Gene	Prevalenza omozigosi	Funzione della proteina	Caratteristiche cliniche	Caratteristiche molecolari	% di mutazioni monogeniche
<i>LPL</i>	Circa 1 su 1 milione di individui	Idrolisi dei trigliceridi ed uptake degli FFA	Chilomicronemia severa nell'infanzia/adolescenza	Severamente ridotta o assente attività della <i>LPL</i>	95.0
<i>APOC2</i>	Riportate 10 famiglie	Cofattore <i>LPL</i>	Chilomicronemia severa nell'infanzia/adolescenza	Assente o non funzionale <i>ApoC II</i>	2.0
<i>GPIHBP1</i>	Riportate 10 famiglie	- Stabilizza il legame dei chilomicroni alla <i>LPL</i> ; - Piattaforma per la lipolisi	Chilomicronemia in età adulta	Assente o difettivo <i>GPIHBP1</i>	2.0
<i>APOA5</i>	Riportate 3 famiglie	Promotore dell'attività dell' <i>LPL</i>	Chilomicronemia in età adulta	Assente o difettivo <i>ApoA5</i>	0.6
<i>LMF1</i>	Riportate 2 famiglie	<i>Chaperone</i> molecolare necessario per il <i>folding</i> e l'espressione di <i>LPL</i>	Chilomicronemia in età adulta	Assente o difettivo <i>LMF1</i>	0.4

più varianti genetiche, che includono, sia varianti rare con grandi effetti metabolici in eterozigosi, sia varianti comuni con effetti piccoli (cioè polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs)) (20, 46, 49, 50). Queste varianti individuali non sono sufficienti a causare la comparsa del fenotipo clinico; tuttavia, in questi casi, la presenza di

ciascuna variante aumenta in modo incrementale il rischio di sviluppare la chilomicronemia, nella quale, in alcuni casi, i livelli di TGs possono raggiungere anche valori simili riscontrabili nell'FCS monogenica. Gli stessi *single nucleotide polymorphism* (SNPs) identificati negli studi di associazione genomica (GWAS) associati a sotti-

Tabella 2 - Forme primarie di chilomicronemia: FCS vs MCS (2).

Caratteristiche	Chilomicronemia monogenica	Chilomicronemia poligenica
Nomenclatura precedente	Chilomicronemia familiare Iperlipemia tipo 1 (WHO)	Dislipidemia mista Iperlipemia tipo 5 (WHO)
Disturbo lipidico predominante	Aumento dei chilomicroni	Aumento delle TRLs Aumento dei chilomicroni Aumento delle VLDL Aumento dei chilomicroni remnants Aumento delle VLDL remnants
Disturbi lipidici associati	Ridotti livelli di VLDL, LDL, HDL	Solitamente ridotti livelli di HDL ed alcune volte LDL
Esordio tipico	Età pediatrica o adolescenza	Età adulta
Caratteristiche cliniche	Difficoltà nel procreare Dolori addominali Nausea Vomito Xantomi eruttivi Lipaemia retinalis Pancreatiti Epatosplenomegalia	Dolori addominali Nausea Vomito Xantomi eruttivi (rari) Lipaemia retinalis (rara) Pancreatiti (circa 1% di rischio/anno)
Associazione con CVD	Minima	Alcune evidenze di associazione
Prevalenza	Circa da 1:100000 a 1:1000000	Circa 1:600
Contributo dei fattori secondari	Minimo	Rilevante
Meccanismo di trasmissione	Autosomica recessiva	Trasmissione familiare
Cause genetiche	Mutazioni a carico di <i>LPL</i> , <i>APOC2</i> , <i>APOA5</i> , <i>GPIHBP1</i> , <i>LMF1</i>	Aumentata prevalenza di: - Varianti rare in eterozigosi ad ampio effetto nei geni <i>LPL</i> , <i>APOC2</i> , <i>APOA5</i> , <i>GPIHBP1</i> , <i>LMF1</i> , <i>GCKR</i> e <i>CREBH</i> ; - Varianti comuni (SNPs) a basso effetto in circa 40 geni identificati negli studi di associazione caso-controllo sull'intero genoma (GWAS);
Terapia	- Dieta a basso contenuto di grassi ± integrazione con Olio a media catena; - Scarso controllo con terapia convenzionale con fibrati, niacina, acidi grassi omega 3 o statine.	- Dieta a basso contenuto di calorie, grassi, zuccheri semplici ed alcool; - Controllo dei fattori di rischio secondari; - Terapia convenzionale con fibrati, niacina e acidi grassi omega 3 (variabile efficacia).

li variazioni nei livelli di trigliceridi nella popolazione generale sana, sono anche associati ad un aumentato rischio di grave ipertrigliceridemia e chilomicronemia (49, 50). Inoltre, varianti rare eterozigoti che, nello stato omozigote, causano chilomicronemia autosomica recessiva risultano notevolmente rappresentate in pazienti con MCS, dato che dimostra come tali varianti abbiano un ruolo cruciale nella patogenesi della malattia. Un dato che merita particolare menzione, è che nei pazienti con chilomicronemia poligenica, il numero di varianti rare eterozigoti localizzate nei geni associati a ipertrigliceridemia, risulta fortemente aumentato (50, 51).

Nonostante i progressi nella comprensione delle cause genetiche alla base sia della chilomicronemia monogenica che poligenica, circa il 30% dei pazienti con chilomicronemia non ha né varianti rare recessive né un numero maggiore di varianti rare eterozigoti o SNPs comuni in geni associati a ipertrigliceridemia noti. Queste informazioni suggeriscono l'esistenza di ulteriori, non ancora identificati, geni coinvolti nello sviluppo della chilomicronemia sottolineando l'importanza di continuare ad investigare. Quello che sappiamo al momento, è che quando un numero sufficiente di queste varianti genetiche viene ereditato simultaneamente, si crea cumulativamente uno stato di predisposizione alla chilomicronemia. Questa predisposizione viene ulteriormente modulata da fattori secondari quali cattiva alimentazione, obesità, consumo di alcol e diabete mellito di tipo 1 o tipo 2 non controllato con comparsa di un quadro sindromico che possiamo chiamare sindrome chilomicronemica multifattoriale o MCS.

Sebbene in alcuni casi, la distinzione tra FCS monogenica e MCS poligenica possa essere complicata, il fenotipo metabolico dei pazienti con chilomicronemia poligeni-

ca tende solitamente ad essere meno severo rispetto a quelli con chilomicronemia monogenica. Gli individui con chilomicronemia poligenica sembrano manifestare il fenotipo in età adulta (spesso durante la mezza età) e livelli più bassi di trigliceridi, meno gravi manifestazioni fisiche e minore frequenza di complicanze (*Tabella 2*).

4. La diagnosi

Ad oggi, il riconoscimento e la corretta diagnosi della FCS monogenica è ancora una sfida per la comunità scientifica poiché è una patologia rara, mancante di segni e sintomi specifici e in cui la diagnosi differenziale con altre forme di chilomicronemia poligenica può essere complicata. Esperti di lipidi, endocrinologi, gastroenterologi e medici di medicina generale possono incontrare pazienti potenzialmente affetti da FCS (2, 34). Tuttavia, ad oggi, non esistono dei criteri diagnostici prestabiliti che permettano di identificare l'iperchilomicronemia primaria monogenica e di differenziarla rispetto alle forme poligeniche, e l'approccio eseguito si basa prevalentemente su una diagnosi per "esclusione". Mancano, quindi, un consenso o delle linee guida che permettano di identificare con elevata certezza i soggetti portatori di mutazioni in omozigosi e quindi affetti da FCS monogenica, al contrario di quanto invece accade, per esempio, per la diagnosi clinica di Ipercolesterolemia Familiare Eterozigote (FH). Basti infatti pensare che gruppi di esperti hanno formulato criteri diagnostici, più o meno stringenti, in grado di predire la diagnosi di FH con alto grado di probabilità. I criteri diagnostici più noti a livello internazionale sono stati sviluppati dall'US MedPed Program (Make early diagnosis, Prevent early death), dal Simon Broome Register Group nel Regno Unito e dal Dutch Lipid Clinic Network in Olanda (52-54), ampiamente

utilizzati nella pratica clinica per identificare i soggetti con FH.

Nell'idea di definire criteri diagnostici univoci per l'identificazione dell'FCS, i pazienti con livelli di trigliceridi a digiuno >10 mmol/L hanno probabilmente una componente chilomicronemica e devono essere studiati seguendo un approccio graduale. In primo luogo, devono essere ricercate le caratteristiche cliniche della sindrome e devono essere escluse cause secondarie come diabete mellito di tipo 1 o 2 non controllato, ipotiroidismo, dieta povera, abuso di alcool, sindrome nefrosica o uso di farmaci associati. In seguito, il sospetto clinico, posto sulla base dell'esame obiettivo completo e dei dati ematochimici di routine, deve ricevere una prima conferma attraverso la valutazione dell'aspetto del plasma incubato per 24 ore a 4°C , che si mostra con il tipico aspetto dell'orletto cremoso su un infra-natante limpido monogenica (*Figura 1*).

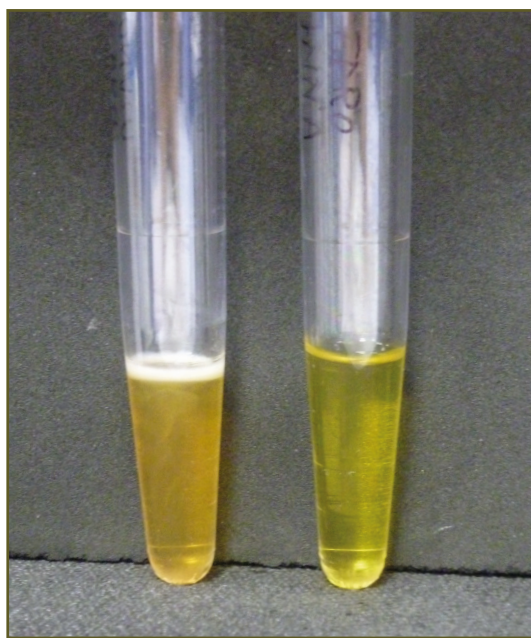


Figura 1 - Orletto cremoso su sovra-natante limpido di un soggetto con FCS monogenica.

Nei soggetti in età pediatrica o adolescenziale con pochi o nessun fattore secondario, si può cercare con maggiore sicurezza una causa monogenica, la cui causa più probabile sarà il deficit di LPL. In passato, sono stati utilizzati studi biochimici per determinare se le attività LPL o ApoC2 fossero ridotte o carenti, ma oggi il sequenziamento dei geni candidati risulta essere il metodo diagnostico di prima scelta. I pazienti affetti da iperchilomicronemia monogenica sono omozigoti o eterozigoti composti per mutazioni rare con perdita di funzione nei geni causativi: *LPL*, *APOC2*, *APOA5*, *LMF1* e *GPIHBP1* (2). Questi geni possono essere inclusi in un pannello come parte di un sequenziamento mirato di nuova generazione (NGS) al fine di confermare il sospetto clinico di FCS monogenica. La diagnosi molecolare risulta, infatti, ad oggi l'unica via per:

- a) confermare con certezza la diagnosi di FCS monogenica;
- b) consentire l'identificazione di membri della famiglia esposti a rischio precoce di sviluppare la sindrome;
- c) stabilire i soggetti candidabili alle nuove terapie emergenti per la cura di HTG severa.

Con l'obiettivo di consentire una diagnosi certa di FCS, un comitato di esperti europei, ha pensato di definire un algoritmo diagnostico per guidare i professionisti nella diagnosi e ottimizzare le strategie terapeutiche. Questo algoritmo diagnostico rappresenta uno strumento potenzialmente utile per supportare i professionisti dell'assistenza primaria e secondaria nel riconoscimento di segni e manifestazioni cliniche in individui potenzialmente affetti da FCS (55). Traendo lezione dagli score clinici comunemente utilizzati per predire la probabilità di riscontrare una mutazione patogenetica

Tabella 3 - Terapie emergenti per il trattamento della sindrome chilomicronemica familiare (2).

Classe di farmaco	Meccanismo d'azione	Vantaggi	Svantaggi
MTTP inibizione (lomitapide)	Previene il trasferimento di trigliceridi alle particelle contenenti ApoB	- Piccola molecola che può essere somministrata per via orale - Riduce i trigliceridi dal 30-40%	- Effetti collaterali comuni GI (nausea e diarrea) - Aumento degli enzimi epatici - Steatosi epatica - Costo elevato
Terapia genica con LPL (alipogene tiparvovec)	Introduce il gene LPL normale nei tessuti dei pazienti con deficit di LPL	- Unica iniezione intramuscolo - Possibile miglioramento della cinetica dei chilomicroni	- Effetto limitato dopo 12 settimane - Indicato solo in soggetti con deficit di LPL (massa residua)
DGAT1 inibizione	Previene la sintesi e risintesi dei trigliceridi	- Piccola molecola che può essere somministrata per via orale - Riduce i trigliceridi fino all'80%	- Effetti collaterali comuni GI - Dati sull'efficacia e sicurezza a lungo termine scarsi - Possibile cross-reattività con DGAT2
Interferenza con ApoB mRNA (mipomersen)	Previene la sintesi e secrezione delle particelle contenenti ApoB	- Somministrazione per via sottocutanea di RNA antisense - Efficacia teorica nel ridurre la produzione sia Apo-B48 che ApoC2	- Limitati dati di efficacia nella chilomicronemia - Comuni reazioni avverse locali e sintomi simil-influenzali
Interferenza con ApoC3 mRNA (volanesorsen)	Aumento l'attività della LPL e riduce la produzione di lipoproteine ricche in trigliceridi (TRLs)	- Target genetico validato - Somministrazione sottocutanea - Riduce i livelli fino al 70%	- Limitati dati a lungo termine relativi a sicurezza ed efficacia
Interferenza con ANGPTL3 mRNA (ISIS-ANGPTL3)	Promuove l'attività della LPL riducendo l'inibizione mediata da ANGPTL3	- Target genetico validato - Somministrazione sottocutanea - Efficace nel ridurre i livelli sia di trigliceridi che colesterolo	- Limitati dati a lungo termine relativi a sicurezza ed efficacia

per FH, attualmente sono in corso di validazione alcuni score clinici che possano aiutare ad identificare i pazienti che con elevata probabilità sono affetti da FCS monogenica. In questa prospettiva sarà possibile, mediante l'applicazione di un semplice calcolo, identificare i soggetti

che dovranno essere avviati ai centri di secondo livello in cui, mediante indagini del DNA, potrà essere effettuata diagnosi molecolare. I soggetti così identificati come affetti da FCS certa, potranno essere candidati alle nuove terapie emergenti per la cura dell'FCS (Tabella 3).

RIASSUNTO

La chilomicronemia si presenta in due distinte forme primarie. La prima forma, rara, è la chilomicronemia monogenica grave (FCS), caratterizzata dalla persistenza patologica dei chilomicroni nel plasma e da ipertrigliceridemia molto severa (HTG) con livelli di trigliceridi (TG) >10 mmol/L (886 mg/dl), con o senza episodi di dolore addominale e pancreatite acuta. È dovuta alla mancanza di funzione della lipoproteina lipasi (LPL), derivante da mutazioni omozigoti o eterozigoti composte nel gene LPL e/o nei suoi modulatori: APOC2, APOA5, LMF1 e GPIHBP1.

La seconda forma, la sindrome poligenica da chilomicronemia multifattoriale (MCS), è ugualmente caratterizzata da ipertrigliceridemia (HTG) grave come nella FCS, ma è tipicamente multigenica; è causata dal carico cumulativo di varianti geniche comuni e rare e può essere esacerbata da fattori secondari. Il riconoscimento e la corretta diagnosi della FCS monogenica è spesso difficile a causa della sua rarità, della mancanza di specificità di segni e sintomi e della grande sovrapposizione delle caratteristiche fenotipiche con la MCS.

Tuttavia, l'insorgenza di HTG compare spesso prima nella vita e l'incidenza di pancreatite acuta è più frequente nei pazienti con FCS rispetto a quelli con MCS. Da sottolineare che i soggetti FCS sono quelli che hanno maggior bisogno di una diagnosi precoce e corretta. Ci proponiamo di discutere, sulla base di dati recenti, i nuovi sviluppi nella comprensione della chilomicronemia, un disturbo metabolico complesso per il quale esiste un bisogno clinico insoddisfatto.

Parole chiave: *Chilomicronemia, ipertrigliceridemia, genetica, pancreatite, terapia.*

Bibliografia

1. Burnett JR, Hooper AJ, Hegele R. Familial Lipoprotein Lipase Deficiency. 2017. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1308/> (accessed 15/02/2018).
2. Brahm AJ, Hegele RA. Chylomicronaemia-current diagnosis and future therapies. *Nat Rev Endocrinol*. 2015; 11: 352-362.
3. Linton MF, Hasty AH, Babaev VR, Fazio S. Hepatic apo E expression is required for remnant lipoprotein clearance in the absence of the low density lipoprotein receptor. *J Clin Invest*. 1998; 101: 1726-1736.
4. Beigneux AP, Miyashita K, Ploug M, et al. Autoantibodies against GPIHBP1 as a cause of hypertriglyceridemia. *N Engl J Med*. 2017; 376: 1647-1658.
5. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Atherosclerosis*. 2016; 253: 281-344.
6. Dionisi-Vici C, Shteyer E, Niceta M, et al. Expanding the molecular diversity and phenotypic spectrum of glycerol 3-phosphate dehydrogenase 1 deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 2016; 39: 689-695.
7. Hegele RA, Ginsberg HN, Chapman MJ, et al. The polygenic nature of hypertriglyceridaemia: implications for definition, diagnosis, and management. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014; 2: 655-666.
8. Johansen CT, Hegele RA. Genetic bases of hypertriglyceridemic phenotypes. *Curr Opin Lipidol*. 2011; 22: 247-253.
9. Joshi M, Eagan J, Desai NK, et al. A compound heterozygous mutation in GPD1 causes hepatomegaly, steatohepatitis, and hypertriglyceridemia. *Eur J Hum Genet*. 2014; 22: 1229-1232.
10. Rios JJ, Shastry S, Jasso J, et al. Deletion of GPIHBP1 causing severe chylomicronemia. *J Inherit Metab Dis*. 2012; 35: 531-540.
11. Brahm A, Hegele RA. Hypertriglyceridemia. *Nutrients*. 2013; 5: 981-1001.
12. Abbate SL, Brunzell JD. Pathophysiology of hyperlipidemia in diabetes mellitus. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1990; 16 (Suppl. 9): S1-7.
13. Chait A, Robertson HT, Brunzell JD. Chylomicronemia syndrome in diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1981; 4: 343-348.
14. Jialal I, Amess W, Kaur M. Management of hypertriglyceridemia in the diabetic patient. *Curr Diab Rep*. 2010; 10: 316-320.
15. Brunzell JD, Bierman EL. Chylomicronemia syndrome. Interaction of genetic and acquired hypertriglyceridemia. *Med Clin North Am*. 1982; 66: 455-468.
16. Chait A, Brunzell JD. Acquired hyperlipidemia (secondary dyslipoproteinemias). *Endocrinol*

- Metab Clin North Am. 1990; 19: 259-278.
17. Stone NJ. Secondary causes of hyperlipidemia. *Med Clin North Am.* 1994; 78: 117-141.
 18. Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, et al. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clin Chim Acta.* 2011; 412: 1306-1318.
 19. Rabacchi C, Pisciotta L, Cefalù AB, et al. Spectrum of mutations of the LPL gene identified in Italy in patients with severe hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis.* 2015; 241: 79-86.
 20. Surendran RP, Visser ME, Heemelaar S, et al. Mutations in LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1 and LMF1 in patients with severe hypertriglyceridaemia. *J Intern Med.* 2012; 272: 185-196.
 21. Carr RA, Rejowski BJ, Cote GA, Pitt HA, Zyromski NJ. Systematic review of hypertriglyceridemia-induced acute pancreatitis: a more virulent etiology? *Pancreatology.* 2016; 16: 469-476.
 22. Brown WV, Gaudet D, Goldberg I, Hegele R. Roundtable on etiology of familial chylomicronemia syndrome. *J Clin Lipidol.* 2018; 12: 5-11.
 23. Chait A, Subramanian S, Brunzell JD. Genetic Disorders of Triglyceride Metabolism. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, Koch C, Korbonits M, McLachlan R, New M, Purnell J, Rebar R, Singer F, Vinik A, editors. *Endotext* (Internet). South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc. 2000-2015 Jun 12.
 24. Valdivielso P, Ramírez-Bueno A, Ewald N. Current knowledge of hypertriglyceridemic pancreatitis. *Eur J Intern Med.* 2014; 25: 689e694.
 25. Yadav D, Pitchumoni CS. Issue in hyperlipidemic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol.* 2003; 36: 54-62.
 26. Ranson JH. Etiological and prognostic factors in human acute pancreatitis: a review. *Am J Gastroenterol.* 1982; 77: 633-638.
 27. Balthazar EJ, Robinson DL, Megibow AJ, Ranson JH. Acute pancreatitis: value of CT in establishing prognosis. *Radiology.* 1990; 174: 331-336.
 28. Fortson MR, Freedman SN, Webster PD 3rd. Clinical assessment of hyperlipidemic pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* 1995; 90: 2134-2139.
 29. Sandhu S, Al-Sarraf A, Taraboanta C, Frohlich J, Francis GA. Incidence of pancreatitis, secondary causes, and treatment of patients referred to a specialty lipid clinic with severe hypertriglyceridemia: a retrospective cohort study. *Lipids Health Dis.* 2011; 10: 157.
 30. Gaudet D, et al. Medical resource use and costs associated with chylomicronemia. *J. Med. Econ.* 2013; 16: 657-666.
 31. Pascale Benlian, Jean Luc De Gennes, Luc Foubert, Hanfang Zhang, S. Eric Gagné, Michael Hayden. Premature atherosclerosis in patients with familial chylomicronemia caused by mutations in the lipoprotein lipase gene. *N Engl J Med.* 1996; 335: 848-854.
 32. <https://ommbid.mhmedical.com/book.aspx?bookID=971> (last access April 19th 2018)
 33. Hall LD, Ferringer T. The best diagnosis is: eruptive xanthoma. *Cutis.* 2012; 90: 15-16.
 34. Gotoda T, Shirai K, Ohta T, Kobayashi J, Yokoyama S, Oikawa S, et al. Research Committee for Primary Hyperlipidemia, Research on Measures against Intractable Diseases by the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan. Diagnosis and management of type I and type V hyperlipoproteinemia. *J Atheroscler Thromb.* 2012; 19: 1-12.
 35. Li Y, He PP, Zhang DW, Zheng XL, Cayabyab FS, Yin WD, Tang CK. Lipoprotein lipase: From gene to atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2014; 237: 597-608.
 36. Young SG, Zechner R. Biochemistry and pathophysiology of intravascular and intracellular lipolysis. *Genes Dev.* 2013; 27: 459-484.
 37. Calandra S, Priore Oliva C, Tarugi P, Bertolini S. APOA5 and triglyceride metabolism, lesson from human APOA5 deficiency. *Curr Opin Lipidol.* 2006; 17: 122-127.
 38. Nilsson SK, Heeren J, Olivecrona G, Merkel M. Apolipoprotein A-V; a potent triglyceride reducer. *Atherosclerosis.* 2011; 219: 15-21.
 39. Voss CV, Davies BS, Tat S, Gin P, Fong LG, Pelletier C, Mottler CD, et al. Mutations in lipoprotein lipase that block binding to the endothelial cell transporter GPIHBP1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108: 7980-7984.
 40. Péterfy M. Lipase maturation factor 1: a lipase chaperone involved in lipid metabolism. *Biochim. Biochim Biophys Acta.* 2012; 1821: 790-794.
 41. Doolittle MH, Ehrhardt N, Péterfy M. Lipase maturation factor1 (LMF1): structure and role in lipase folding and assembly. *Curr Opin Lipidol.* 2010; 21: 198-203.
 42. Fojo SS, Stalenhoef AF, Marr K, Gregg RE, Ross RS, Brewer HB Jr. A deletion mutation in the ApoC2 gene (ApoC2 Nijmegen) of a patient with a deficiency of apolipoprotein C-II. *J Biol Chem.* 1988; 263: 17913-6.
 43. Nilsson SK, Heeren J, Olivecrona G, Merkel M. Apolipoprotein A-V; a potent triglyceride reducer. *Atherosclerosis.* 2011; 219: 15-21.
 44. Albers K, Schlein C, Wenner K, Lohse P, Bartelt A, Heeren J, et al. Homozygosity for a partial deletion of apoprotein A-V signal peptide results in intracellular missorting of the protein and chylomicronemia in a breast-fed infant. *Atherosclerosis.* 2014; 233: 97-103.
 45. Minoru Okubo, Mitsuki Ishihara, Tadao Iwasaki, Tetsu Ebara, Yoshiko Aoyama, Toshio

- Murase, Hiroaki Hattori. A novel APOA5 splicing mutation IVS2+1 g>a in a Japanese chylomicronemia patient. *Atherosclerosis*. 2009; 207: 24-25.
46. Johansen CT, Kathiresan S, Hegele RA. Genetic determinants of plasma triglycerides. *J Lipid Res*. 2011; 52: 189-206.
 47. Anne P. Beigneux, Remco Fransen, André Bensadoun, Peter Gin, Kristan Melford, Jorge Peter, et al. Chylomicronemia with a mutant GPIHBP1 (Q115P) that cannot bind lipoprotein lipase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009; 29: 956-962.
 48. Remco Fransen, Stephen G. Young, Frank Peelman, Jozef Hertecant, Jeroen A. et al. Chylomicronemia with Low Postheparin Lipoprotein Lipase Levels in the Setting of GPIHBP1 Defects. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010; 3: 169-178.
 49. Johansen CT, Wang J, Lanktree MB, McIntyre AD, Ban MR, Martins RA, et al. An increased burden of common and rare lipid-associated risk alleles contributes to the phenotypic spectrum of hypertriglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31: 1916-1926.
 50. Johansen CT, Wang J, McIntyre AD, Martins RA, Ban MR, Lanktree MB, et al. Excess of rare variants in non-genome-wide association study candidate genes in patients with hypertriglyceridemia. *Circ Cardiovasc Genet*. 2012; 5: 66-72.
 51. Teslovich TM, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*. 2010; 466: 707-713.
 52. Williams RR, Hunt SC, Schumacher MC, et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol*. 1993; 72: 171-176.
 53. Scientific Steering Committee on Behalf of The Simon Broome Register Group. Mortality in treated heterozygous familial hypercholesterolemia: implications for clinical management. *Atherosclerosis*. 1999; 142: 105-112.
 54. World Health Organization. Familial hypercholesterolemia - report on a second WHO Consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organization 1999 (WHO publication no. WHO/HGN/FH/CONS/ 99.2).
 55. Stroes E, Moulin P, Parhofer KG, Rebours V, Löhr JM, Averna M. Diagnostic algorithm for familial chylomicronemia syndrome. *Atheroscler*. 2017; 23: (Suppl.) 1-7.

RASSEGNA

REMNANT DEL COLESTEROLO, LIPIDI POSTPRANDIALI E RISCHIO CARDIOVASCOLARE

Cholesterol remnants, postprandial lipids and cardiovascular risk

FRANCESCO ANGELICO¹, NICHOLAS COCOMELLO², FRANCESCO BARATTA³,
DANIELE PASTORI², MARIA DEL BEN²

¹Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive;

²Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche;

³Dipartimento di Scienze Anatomiche, Istologiche, Medico-legali e dell'Apparato Locomotore

SUMMARY

Clinical trials with statins have shown the presence of a “residual cardiovascular risk” in those treated to “target” for LDL-cholesterol. This risk is partly associated to the control of other risk factors, but above all to lipid components other than LDL and in particular to remnant cholesterol (RC) and to lipoproteins rich in triglycerides in fasting and non-fasting conditions. This is of particular importance in subjects with hypertriglyceridemia, and in those with obesity, diabetes and the metabolic syndrome, i.e. in a large part of the general population. During fasting, RCs correspond to the cholesterol content of the VLDL and their partially depleted triglyceride remnant containing apoB-100. Conversely, in non-fasting conditions, the RCs include also the cholesterol present in the chylomicrons deriving from the intestinal absorption of dietary fats containing apoB-48. In summary, we can consider RCs the total plasma cholesterol minus the HDL-cholesterol and the LDL-cholesterol, that is, all the cholesterol present in the VLDL, in the chylomicrons and in their remnants. Numerous evidence suggests a role of RCs in the development of atherosclerosis. RCs easily pass the arterial wall and bind to the connective matrix stimulating the progression of smooth muscle cells and the proliferation of resident macrophages. They can also induce endothelial dysfunction, production of adhesion molecules, platelet activation, increased expression of CD40 and metalloproteins and low-grade inflammation. Further studies are needed on the effects of drugs on RC levels and clinical trials to evaluate the efficacy of RC reduction on cardiovascular events.

Keywords: *Cholesterol remnants, triglyceride-rich lipoproteins, residual risk; arteriosclerosis.*

Indirizzo per la corrispondenza

Francesco Angelico
Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie
Infettive - Sapienza Università di Roma
Clinica Medica 1 - Policlinico Umberto 1
Viale del Policlinico, 155 - 00161 Roma
E-mail: francesco.angelico@uniroma1.it

Il “rischio residuo”

La prevenzione primaria e secondaria degli eventi coronarici ottenuta attraverso la riduzione del colesterolo LDL ha rappresentato uno dei più importanti risultati della medicina nel corso degli ultimi 30

Bullet Points

- I trial clinici con statine hanno dimostrato la presenza di un “rischio cardiovascolare residuo” nei soggetti trattati a “target” per il colesterolo-LDL.
- Il “rischio residuo” è in gran parte dovuto alle componenti lipidiche diverse dalle LDL ed in particolare ai *remnants* del colesterolo e alle lipoproteine ricche in trigliceridi sia in condizioni di digiuno che di non digiuno.
- I *remnants* del colesterolo sono costituiti dal colesterolo plasmatico totale meno il colesterolo-HDL ed il colesterolo-LDL; essi corrispondono a tutto il colesterolo presente nelle VLDL, nei chilomicroni e nei loro *remnants*.
- Numerose evidenze sperimentali suggeriscono un ruolo dei *remnants* nello sviluppo dell'arteriosclerosi.
- Studi epidemiologici nei quali i *remnants* del colesterolo sono stati misurati anche in condizioni di non digiuno dimostrano una associazione indipendente con gli eventi cardiovascolari.

anni. I risultati dei grandi trials con statine hanno dimostrato in modo convincente che i valori elevati di colesterolo LDL sono un fattore causale per lo sviluppo dell'arteriosclerosi e sono legati al rischio cardiovascolare in modo dose-dipendente. Pertanto, tutte le principali Linee-guida sulla prevenzione cardiovascolare primaria e secondaria indicano nella riduzione dei livelli della colesterolemia LDL il principale target delle strategie terapeutiche (1, 2). Tuttavia, anche dopo trattamento massimale con statine e/o con terapia ipolipemizzante di combinazione, permane spesso un significativo rischio cardiovascolare residuo.

Così, nel corso degli ultimi anni, è stata sottolineata l'importanza del controllo del “rischio residuo”, ossia del rischio cardiovascolare nei soggetti che in corso di terapia ipocolesterolemizzante hanno raggiunto il “target” per i valori del colesterolo LDL (3). Ciò è apparso molto evidente anche negli studi di intervento sulla colesterolemia condotti mediante terapia intensiva con statine nei quali l'incidenza di

eventi cardiovascolari è rimasta piuttosto elevata. Probabilmente, per questi pazienti ad alto rischio, non è sufficiente raggiungere il target suggerito di colesterolo LDL, ma, potrebbe essere più indicato sostituire il colesterolo LDL con target di concentrazione di apoproteina B-100, che fornisce una stima più accurata del numero delle molecole di LDL.

Il “rischio residuo” è in parte legato alla presenza di altri fattori di rischio, tra i quali, principalmente, l'ipertensione arteriosa, il diabete e tutte le condizioni che determinano una infiammazione cronica di basso grado ed in parte ad una non sufficiente riduzione del colesterolo LDL in rapporto al livello di rischio. Tuttavia, tale rischio, in particolare, sembra essere legato agli elevati livelli plasmatici delle lipoproteine ricche in trigliceridi (LRT) e ai bassi valori delle HDL (4). Infatti, i pazienti con rischio cardiovascolare elevato hanno spesso un profilo lipoproteico caratterizzato dalla presenza di elevati valori di lipoproteine ricche in trigliceridi, ridotti livelli di colesterolo HDL e presenza di LDL più piccole e dense (5, 6). Tale fenotipo lipoproteico è molto frequente nei soggetti con la sindrome metabolica e/o il diabete di tipo 2, nell'obesità e nella steatosi epatica non alcolica, cioè nelle condizioni di insulino-resistenza nelle quali può almeno in parte spiegare l'elevato rischio cardiovascolare. In particolare, è l'obesità la principale causa dell'elevazione dei livelli delle LRT nella popolazione. Sulla base di queste osservazioni, le Linee-guida più recenti (7, 8) indicano nel colesterolo non-HDL il secondo target di intervento dopo il colesterolo LDL, soprattutto nei soggetti con valori elevati di trigliceridemia, nei soggetti obesi, nei diabetici e in quelli con la sindrome metabolica, ossia in una larga parte della popolazione generale. Il colesterolo non-HDL comprende il colesterolo

contenuto in tutte le lipoproteine aterogene, lipoproteine a densità molto bassa (VLDL), lipoproteine a densità intermedia (IDL), chilomicroni e loro *remnants*, apolipoproteina(a) (9).

Si ritiene oggi che i *remnants* del colesterolo (RC) siano una delle più importanti componenti del colesterolo non-HDL e possano pertanto costituire un nuovo ed emergente fattore di rischio cardiovascolare e possibile target negli interventi di prevenzione cardiovascolare.

La misura dei lipidi non a digiuno

Tradizionalmente, nella pratica clinica i lipidi plasmatici sono stati sempre valutati a digiuno e solo i profili lipidemici misurati a digiuno sono stati presi in considerazione per la valutazione del rischio cardiovascolare e per la caratterizzazione delle dislipidemie primitive e secondarie. Inoltre, la classificazione delle dislipidemie si è sempre basata su determinazioni dei lipidi effettuate a digiuno, così come i risultati dei trial clinici e i conseguenti target terapeutici di colesterolo LDL indicati dalle Linee-guida. Tuttavia, nel corso degli ultimi anni, da più Autori è stato raccomandato di misurare i lipidi in condizioni di non digiuno (10-14). Ad oggi, la valutazione dei lipidi in condizioni di non digiuno è raccomandata solo in Danimarca, dove non è richiesto il digiuno per l'esecuzione di un profilo lipidico standard e dove viene offerta ai medici la possibilità di ripetere la determinazione dei trigliceridi a digiuno se i valori superano i 350 mg/dl (14). Ciò offre evidenti vantaggi a medici e pazienti, soprattutto da un punto di vista organizzativo.

Recentemente, l'European Atherosclerosis Society e l'European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine hanno concluso che la misura dei lipi-

di plasmatici in condizioni di non digiuno offre una stima del rischio cardiovascolare valida almeno quanto quella effettuata a partire dal valore dei lipidi misurati a digiuno (14).

Si sottolineava inoltre come il digiuno non sia sempre necessario per una corretta valutazione dei lipidi.

D'altro canto, occorre considerare che la condizione di digiuno viene da tutti mantenuta per poche ore al giorno e la gran parte della giornata viene trascorsa in una situazione di non digiuno nella maggioranza delle persone che sono abituate a fare almeno tre pasti al giorno.

I remnants del colesterolo e le lipoproteine ricche in trigliceridi

Circa il 20% della popolazione generale presenta elevati valori di trigliceridemia e numerose evidenze indicano che i trigliceridi sono un fattore di rischio indipendente per gli eventi cardiovascolari (15-17).

La trigliceridemia è fortemente correlata con la concentrazione delle LRT sia a digiuno che dopo i pasti. È stato suggerito che il rischio cardiovascolare associato alle LRT sia da riferirsi principalmente al loro contenuto in RC. Questi sono probabilmente i maggiori determinanti del rischio cardiovascolare dopo i livelli del colesterolo LDL. Infatti, la concentrazione plasmatica di *remnants* sembra correlata al rischio cardiovascolare in modo indipendente dal colesterolo LDL.

In condizioni di digiuno i RC corrispondono al contenuto di colesterolo presente nelle lipoproteine a densità molto bassa (VLDL) sintetizzate nel fegato e nei loro *remnants* parzialmente impoveriti di trigliceridi (IDL), contenenti apoB-100. Viceversa, in condizioni di non digiuno, i RC comprendono, oltre al colesterolo delle lipoproteine sopra definite, anche il

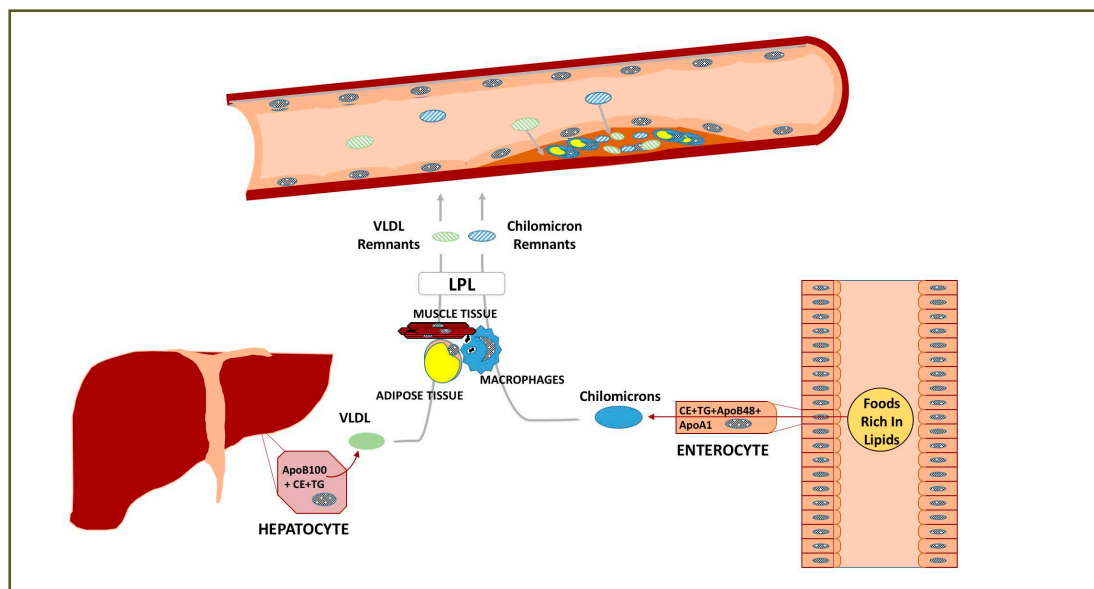


Figura 1 - Remnants del colesterolo e aterosclerosi.

Durante il periodo post-prandiale, gli enterociti arricchiscono di trigliceridi un core preconstituito di ApoB-48, Apo-A1, esteri di colesterolo (CE) e trigliceridi (TG) portando alla formazione dei chilomicroni che vengono immessi in circolo tramite il sistema linfatico intestinale. Nel fegato, indipendentemente dai pasti, gli epatociti sintetizzano ed immettono nella circolazione generale VLDL a partire da CE, TG e apoB-100. Le lipoproteinlipasi (LPL) circolanti e tissutali idrolizzano i trigliceridi delle VLDL e dei chilomicroni trasformandoli rispettivamente in VLDL/IDL *remnants* e chilomicroni *remnants*. L'insieme del colesterolo contenuto in queste lipoproteine ricche in trigliceridi costituisce i *remnants* del colesterolo. A causa delle piccole dimensioni, i *remnants* penetrano facilmente la parete arteriosa e si accumulano nel sotto-endotelio causando infiammazione, attivazione dei macrofagi e delle piastrine e progressione della placca.

colesterolo presente nei chilomicroni derivanti dall'assorbimento intestinale dei grassi alimentari, contenenti apoB-48. In sintesi, possiamo considerare RC tutto il colesterolo plasmatico meno il colesterolo HDL ed il colesterolo LDL, ossia, tutto il colesterolo presente nelle VLDL, nei chilomicroni e nei loro *remnants*, definite globalmente lipoproteine ricche in trigliceridi. Le lipoproteine *remnant-like* sono sempre presenti nella circolazione, sia in condizioni di digiuno che di non digiuno. Esse costituiscono un gruppo eterogeneo di lipoproteine con variabili dimensioni e composizione. Tali ultime caratteristiche sono fortemente correlate con la concentrazione plasmatica dei trigliceridi (*Figura 1*).

Come misurare i remnants del colesterolo

Una misurazione accurata dei RC è difficile a causa della loro eterogeneità in termini di composizione, dimensioni e densità, nonché per la loro rapida metabolizzazione. La misurazione diretta della concentrazione dei RC mediante la separazione delle lipoproteine con l'ultracentrifugazione o l'elettroforesi su gel di policrilamide è complessa e viene raramente effettuata in ambito clinico. Ugualmente, la valutazione diretta del colesterolo VLDL viene raramente eseguita. Pertanto, nella pratica clinica ed in ambito epidemiologico, e solo in condizioni di digiuno, è stato proposto di calcolare

in modo approssimativo i livelli plasmatici di RC sottraendo al colesterolo totale i valori del colesterolo HDL e quelli del colesterolo LDL. Quest'ultimo viene stimato per mezzo della formula di Friedwald (15) che considera un rapporto di 1 a 5 fra il contenuto di colesterolo e di trigliceridi nelle VLDL in condizioni di digiuno. Se si escludono le forme di ipertrigliceridemia severa nella quali la stima del colesterolo LDL mediante la formula di Friedwald è inapplicabile, in tutti gli altri casi la determinazione dei RC è facilmente applicabile partendo da valori di laboratorio di routine, semplici da ottenere. In tale modo è possibile calcolare facilmente i livelli degli RC plasmatici partendo dai dati di un profilo lipidico standard senza aggiunta di costi. Recentemente, è stato proposto un nuovo metodo per il calcolo del colesterolo LDL a digiuno, che ne consente una più accurata stima dei valori rispetto a quelli derivati dalla formula di Friedwald. Tale metodo è particolarmente utile nelle condizioni di bassa colesterolemia LDL e di ipertrigliceridemia che si osservano con frequenza sempre maggiore in conseguenza delle terapie sempre più efficaci del colesterolo LDL e della crescente prevalenza dell'obesità e della sindrome metabolica (19). Tale nuovo calcolo si basa sulla correzione del rapporto colesterolo VLDL/trigliceridi, che nella formula di Friedwald viene calcolato 1:5, sulla base dei valori individuali del colesterolo non-HDL e dei trigliceridi.

Da numerosi anni è stato sviluppato un metodo quantitativo per la valutazione della concentrazione dei RC a digiuno basato sulla immunoseparazione delle particelle *remnant-like* del siero mediante l'impiego di anticorpi monoclonali per l'apo B-100 e l'apoA1 (20, 21).

Più complessa la valutazione dei RC in condizioni di non digiuno nelle quali ai

remnant delle LRT si aggiungono quelli derivanti dai chilomicroni di origine intestinali. In tale situazione, i RC sono correlati fortemente con i livelli dei trigliceridi che variano in funzione della composizione lipidica dei pasti e delle ore di digiuno dall'ultimo pasto. Infatti, dopo l'assunzione di un pasto grasso si osserva un rapido aumento dei livelli plasmatici di apo B-48 e di colesterolo e trigliceridi delle LRC, mentre non si assiste ad un aumento postprandiale dei valori di apoB-100 e di colesterolo LDL.

Ciò supporta fortemente la tesi che la causa fondamentale dell'ipertrigliceridemia postprandiale sia dovuta all'aumento dei livelli dei *remnant* dei chilomicroni. Per questo motivo i livelli postprandiali dell'apoB-48 potrebbero essere utilizzati come un marker molto sensibile per la valutazione dell'ipertrigliceridemia nello stato di non-digiuno, utilizzando anticorpi monoclonali anti apoB-48.

Tuttavia, i livelli circolanti di RC variano di poco fra il digiuno e il periodo postprandiale. Pertanto, anche nel caso di un campione di plasma prelevato non a digiuno, è ugualmente possibile effettuare una stima accurata dei livelli di RC sottraendo al colesterolo totale i valori del colesterolo HDL e quelli del colesterolo LDL valutato con la formula di Friedwald o misurato direttamente nel caso si sia in presenza di una ipertrigliceridemia severa.

Ad oggi, nella maggior parte degli studi gli RC sono stati valutati solo in condizioni di digiuno e abbiamo poche informazioni relative alla loro concentrazione durante il periodo postprandiale. Entrambi aumentano dopo assunzione di un pasto grasso in maniera più evidente nei soggetti con alterazioni primitive o secondarie del metabolismo delle lipoproteine e nei soggetti con insulino-resi-

stenza. Tuttavia, attualmente, non disponiamo ancora di un test da carico orale standardizzato di lipidi per la valutazione delle alterazioni di lipidi durante la fase postprandiale.

Remnants del colesterolo ed eventi cardiovascolari

Numerose ricerche hanno preso in esame il potenziale aterogeno dei RC (*Tabella 1*). Nel 2001 veniva descritta una associazione positiva, indipendente dai tradizionali fattori di rischio, fra i livelli di *remnant* delle LRT e la prevalenza di cardiopatia ischemica in un campione di donne studiate nell'ambito del Framingham Heart Study (21). Successivamente, Fukuscima et al. (22) dimostravano che aumentati livelli di colesterolo LRT erano un significativo ed indipendente fattore di rischio per la cardiopatia ischemica e per il diabete mellito di tipo 2.

Ma è in Danimarca che sono stati realizzati i più ampi studi sul ruolo predittivo delle LTR sugli eventi cardiovascolari. Così, in una ricerca condotta per 22 anni su 90.000 soggetti residenti in Danimarca, gli aumenti progressivi dei RC e del colesterolo LDL misurati in condizione di non digiuno erano associati in modo simile con l'aumentato rischio di cardiopatia ischemica e di infarto del miocardio; tuttavia, solo l'aumento dei RC risultava associato con la mortalità per tutte e cause (23, 24).

In questo studio è stato stimato che i soggetti con i più alti livelli (>43 mg/dl) di RC misurati non a digiuno, rispetto a quelli con i valori più bassi (<15 mg/dl), avevano un rischio di cardiopatia ischemica di 2/3 volte superiore (23). In particolare, si dimostrava che un aumento di 1 mmol/l (39 mg) dei RC in condizioni di non digiuno corrisponde ad un rischio

aumentato di 2,8 volte per malattia coronarica (23, 24). Un successivo studio sempre condotto in Danimarca su una corte di 5414 pazienti con cardiopatia ischemica mostrava una associazione fra livelli calcolati e/o misurati di RC in condizioni di non digiuno e la mortalità per tutte le cause, mentre una simile associazione non si osservava per i livelli di colesterolo LDL (25).

In modo simile, in una casistica di pazienti con cardiopatia coronarica e valori di colesterolo LDL <100 mg/dl in corso di terapia, i valori del colesterolo delle LRT era predittivo di eventi coronarici ipotizzando nei RC un possibile nuovo target della terapia del "rischio residuo" (26). Simili risultati, sempre in Giappone, venivano riportati da Kugiyana C, et al. in 153 pazienti con cardiopatia coronarica (27).

In un ulteriore studio condotto in Giappone, i livelli a digiuno dei RC erano predittori indipendenti di ricorrenza di eventi cardiovascolari in pazienti con sindrome coronarica trattati con statine; inoltre, nei medesimi pazienti i valori elevati di RC aumentavano il valore prognostico dei tradizionali fattori di rischio, rendendo la loro determinazione utile per una migliore definizione del rischio cardiovascolare (28). In una successiva ricerca dei medesimi Autori, elevati livelli a digiuno di RC erano predittivi di eventi cardiovascolari anche in una casistica di soggetti con diabete tipo 2 e insufficienza renale cronica indipendentemente dai fattori di rischio classici (29).

Inoltre, il colesterolo delle LRT, in particolare il colesterolo delle IDL, era predittivo di eventi cardiovascolari in prevenzione primaria in due campioni di popolazione di soggetti di colore (Jackson Heart Study) e di razza bianca (Framingham Offspring Cohort Study) negli USA durante un follow-up di 8 anni (30).

Tabella I - Principali studi epidemiologici sui remnants del colesterolo (RC) ed eventi cardiovascolari.

Studio	Casistica	Risultati
<i>Remnant lipoprotein levels in fasting serum predict coronary events in patients with coronary artery disease</i> Kugiyama K, et al. doi:10.1161/01.CIR.99.22.2858	135 pazienti affetti da coronaropatia seguiti nel tempo per un massimo di 36 mesi	I pazienti con valori di RC più elevati hanno sviluppato più frequentemente una ricorrenza di eventi coronarici [I terzile vs III terzile: HR, 5,91; 95% CI, 2,0 to 17,2]
<i>Prognostic value of remnant-like lipoprotein particle levels in patients with coronary artery disease and type II diabetes mellitus</i> Fukushima H, et al. doi:10.1016/j.jacc.2003.09.074	120 pazienti affetti da coronaropatia e diabete mellito di tipo 2 seguiti nel tempo per un massimo di 24 mesi	I pazienti con valori di RC più elevati hanno sviluppato più frequentemente una ricorrenza di malattia coronarica [I quartile vs altri: HR 2,2; 95% CI, 1,2 to 6,4]
<i>Are remnant-like particles independent predictors of coronary heart disease incidence? the Honolulu Heart Study</i> Imke C, et al. doi:10.1161/01.ATV.0000173310.85845.7b	1156 uomini Giapponesi-Americani di età compresa tra i 60 e gli 82 anni seguiti per 17 anni	Nell'analisi multivariata, i RC erano correlati con l'incidenza degli eventi coronarici indipendentemente dai fattori di rischio non lipidici e dalla colesterolemia HDL e LDL. I remnants del colesterolo correlavano con la trigliceridemia.
<i>Predictive value of remnant lipoprotein for cardiovascular events in patients with coronary artery disease after achievement of LDL-cholesterol goals</i> Nakamura T, et al. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.04.040	560 pazienti affetti da coronaropatia, in terapia ipolipemizzante e a target per LDL-c (NdA: al momento dello studio target di LDL-c<100mg/dl), seguiti mediamente per 33 mesi	I valori dei RC erano superiori al colesterolo non-HDL nella predizione degli eventi cardiovascolari in pazienti coronaropatici con colesterolo LDL <100 mg/dl in corso di terapia con statine [Come variabile continua espressa in mg/dl: HR 1,74; 95% IC 1,31-2,32]
<i>High remnant lipoprotein predicts recurrent cardiovascular events on statin treatment after acute coronary syndrome</i> Nguyen SV, et al. doi:10.1253/circj.CJ-14-0380	190 pazienti giapponesi affetti da coronaropatia, ed in trattamento con statine, seguiti nel tempo per un massimo di 70 mesi.	Elevati livelli di RC (5,4 mg/dl) dosati a digiuno si associavano ad un maggior rischio di ricorrenza di eventi coronarici [>5,4 mg/dl: HR 2,94; 95% IC 1,40-6,18]
<i>Remnant lipoprotein cholesterol and incident coronary heart disease: the Jackson Heart and Framingham Offspring Cohort Studies</i> Joshi PH, et al. doi:10.1161/JAHA.115.002765	4932 pazienti derivanti dagli studi Framingham e Jackson Heart Study, seguiti per almeno 8 anni.	Elevati livelli di RC si associavano ad un maggior rischio di eventi ischemici cardiaci [Per ogni SD: HR 1,23; 95% IC 1,06-1,47]
<i>Remnant lipoproteinemia predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease</i> Nguyen SV, et al. doi: 10.1016/j.jjcc.2016.04.011	365 pazienti con diabete mellito tipo 2 e nefropatia cronica seguiti per un periodo medio di 45 mesi	Elevati valori di RC misurati a digiuno (4,3 mg/dl) si associavano ad un maggior rischio di eventi cardiovascolari [>4,3 mg/dl: HR 1,30; 95% IC 1,0,4-1,63]
<i>Remnant-like particle cholesterol, low-density lipoprotein triglycerides, and incident cardiovascular disease</i> Saeed A, et al. doi: 10.1016/j.jacc.2018.04.050	9334 soggetti seguiti nel tempo per un massimo di 16 anni	I valori dei RC risultavano associati all'incidenza di eventi cardiovascolari all'analisi univariata ma non dopo correzione per i classici fattori di rischio

Infine, in una post-hoc analisi dei dati del trial TNT (atorvastatina 80 mg *vs* 10 mg in pazienti con cardiopatia ischemica stabile), i valori a digiuno del colesterolo delle LRT correlavano positivamente con gli eventi cardiovascolari; inoltre, la riduzione di 1DS dei RC mediante atorvastatina si associava a riduzioni dell'incidenza di eventi cardiovascolari indipendentemente dalla riduzione del colesterolo LDL e simile a quella ottenuta con la riduzione di 1DS della colesterolemia LDL (31). Parzialmente in contrasto sono i dati dell'Honolulu Heart Study nel quale i RC predicevano gli eventi cardiovascolari in modo indipendente solo nel sottogruppo di soggetti con ipertrigliceridemia (32).

Ugualmente in contrasto i risultati di in un follow-up di 16 anni di un campione di 9334 uomini e donne senza precedenti eventi cardiovascolari (ARIC Study) nel quale i RC erano significativamente correlati con la trigliceridemia e con il diabete all'ingresso; tuttavia, al follow-up, i RC non erano significativamente associati con l'incidenza di eventi cardiovascolari dopo aggiustamento per i tradizionali fattori di rischio (33).

Remnants del colesterolo e arteriosclerosi

Numerose evidenze cliniche e sperimentali suggeriscono un ruolo degli elevati livelli di RC nello sviluppo dell'arteriosclerosi (*Figura 1*).

Durante il periodo di digiuno, vi è una forte correlazione fra i livelli plasmatici dei RC e delle lipoproteine ricche in trigliceridi e la trigliceridemia. Dopo un pasto ricco in lipidi, la lipolisi dei chilomicroni intestinali induce la produzione di *remnant* che aumentano in modo significativo e proporzionale con il livello della trigliceridemia a digiuno.

Tuttavia, nei pazienti con differenti forme di ipertrigliceridemia, i RC aumentano in modo simile a parità di valori di trigliceridi (34). A causa delle più grandi dimensioni, le lipoproteine ricche in trigliceridi trasportano da 5 a 20 volte più colesterolo rispetto alle LDL. I livelli plasmatici dei RC correlano significativamente con le LDL piccole e dense e con l'alterata tolleranza glicidica (35).

Diversamente dai chilomicroni e dalle VLDL che per le ampie dimensioni non penetrano la parete dei vasi, e analogamente alle LDL, i *remnant* delle LRT passano facilmente la parete delle arterie e vengono trattiene al loro interno, dove si legano alla matrice connettivale. La loro presenza stimola la progressione delle cellule muscolari lisce e la proliferazione dei macrofagi residenti (36, 37). Tuttavia, a differenza delle LDL, le LRT vengono degradate direttamente dai macrofagi in assenza di modificazioni di tipo ossidativo contribuendo in tal modo alla formazione e progressione della placca. I RC possono anche indurre disfunzione endoteliale, la produzione di molecole di adesione e l'attivazione piastrinica, nonché aumentare l'espressione di CD40 e di metalloproteine (38, 39).

Infine, elevati livelli di RC non a digiuno possono aumentare l'espressione di interleuchine e citochine infiammatorie, aumentare la risposta infiammatoria dei monociti e indurre la comparsa di un quadro di infiammazione cronica di basso grado, che, al contrario, non si osserva in presenza di elevati livelli di colesterolo LDL (40, 41). Quest'ultimo aspetto, in particolare è stato descritto in un ampio studio di soggetti danesi (41) che ha dimostrato la presenza di una associazione causale tra elevate concentrazioni di RC e la presenza di infiammazione di basso grado, ma non tra lo stesso tipo di infiam-

mazione ed elevati livelli plasmatici di colesterolo LDL.

Nel complesso, l'accumulo di RC nella parete arteriosa è molto aterogeno e spiega la forte relazione fra i livelli di RC circolanti e il rischio cardiovascolare.

Prospettive terapeutiche

Le modifiche dello stile di vita, ed in particolare il controllo del sovrappeso corporeo e dell'obesità mediante modifiche della dieta e l'incremento dell'attività fisica abituale costituiscono la prima linea di intervento nei confronti dei livelli plasmatici elevate di RC e di LTR. In questo contesto la Dieta Mediterranea si è dimostrata efficace nel migliorare il profilo lipidico. Tuttavia, ad oggi pochi studi hanno valutato gli effetti della dieta Mediterranea sui livelli dei RC. Recentemente, nell'ambito dello studio PREDIMED, l'aderenza alla dieta Mediterranea, in particolare se arricchita con l'olio extravergine di olive, diminuiva l'aterogenicità delle LDL e la concentrazione dei RC in soggetti ad alto rischio cardiovascolare (42). Al contrario, un intervento nutrizionale di breve termine mediante la Dieta Mediterranea in soggetti con la sindrome metabolica, pur efficace sulla riduzione del colesterolo LDL, mostrava effetti trascurabili sulla concentrazione e cinetica delle VLDL, tranne che in presenza di significative riduzioni del peso corporeo (43).

Maggiori incertezze riguardano gli effetti della terapia farmacologica ipolipemizzante sulla concentrazione plasmatica dei RC e delle LRT. Un trattamento efficace non è stato ancora individuato e pochi studi, in particolare, hanno preso in considerazione i livelli plasmatici dei RC in condizioni di non digiuno. In una casistica

di soggetti con iperlipidemia combinata ed elevati livelli plasmatici di RC a digiuno, il trattamento con atorvastatina e con rosuvastatina produceva significative riduzioni dei livelli plasmatici dei RC, mentre non si osservava tale effetto dopo terapia con pravastatina (44). Più recentemente, una serie di studi con gli inibitori del PCSK9 dimostrava un modesto effetto sul metabolismo delle LRT negando pertanto per questa categoria di farmaci un potenziale utilizzo per il controllo del "rischio residuo" (45).

Recentemente, in uno studio condotto su 80 soggetti normolipidemicici sottoposti ad un pasto grasso, l'atorvastatina riduceva le concentrazioni dell'apoB-48 sia a digiuno che dopo il pasto, mentre l'evolucumab non aveva alcun effetto sul metabolismo dell'apoB-48 (46).

Più promettenti i risultati ottenuti con l'ezetimibe, che è in grado di ridurre l'aumento post-prandiale delle LRT e dell'apoB-48 (47). Molto dubbi sono gli effetti della terapia con fibrati e della supplementazione con acidi grassi omega-3.

Alla luce di queste poche evidenze, vi è urgente bisogno di studi futuri finalizzati alla valutazione dell'effetto dei farmaci sul colesterolo non LDL e non HDL, che costituisce una delle più importanti componenti del cosiddetto "rischio residuo". In particolare, tali studi dovrebbero essere attuati in soggetti con elevati livelli di RC e LRT, quali i soggetti obesi, con la sindrome metabolica o il diabete tipo 2, nei quali il "rischio" residuo è particolarmente elevato.

Infine, sono necessari trials clinici randomizzati che dimostrino se la riduzione dei RC a digiuno o durante il periodo post prandiale sia in grado di ridurre l'incidenza degli eventi cardiovascolari.

Questionario di auto-apprendimento

A. Cosa è il “rischio cardiovascolare residuo”?

1. Il rischio cardiovascolare nei soggetti a target per il colesterolo LDL
2. Il rischio cardiovascolare dopo una sindrome coronarica acuta
3. Il rischio cardiovascolare dopo il controllo ottimale di tutti i fattori di rischio
4. Tutte le precedenti

B. A cosa corrispondono i remnants del colesterolo in condizioni di digiuno?

1. Colesterolo totale – colesterolo HDL
2. Colesterolo totale – colesterolo HDL – trigliceridi/5
3. Colesterolo totale – colesterolo HDL – colesterolo LDL
4. Colesterolo totale – colesterolo HDL + colesterolo VLDL

C. Elevati livelli di remnants di colesterolo si associano ad aumentato rischio di:

1. Eventi cardiovascolari
2. Eventi cardiovascolari ricorrenti
3. Eventi cardiovascolari nel diabete
4. Tutte le precedenti

D. Elevati livelli di remnants di colesterolo si associano a:

1. Ridotta espressione di CD40
2. Aumentata espressione di citochine infiammatorie
3. Ridotta attivazione piastrinica
4. Inibizione della proliferazione dei macrofagi residenti

E. Nelle VLDL, in condizioni di digiuno, il rapporto fra colesterolo e trigliceridi è:

1. 1:3
2. 1:4
3. 1:5
4. 1:6

*Risposte corrette:
A1, B3, C4, D2, E3*

RIASSUNTO

I trial clinici con statine hanno dimostrato la presenza di un “rischio cardiovascolare residuo” anche nei soggetti trattati a “target” per il colesterolo-LDL. Tale rischio è in parte legato al controllo di altri fattori di rischio, ma soprattutto delle componenti lipidiche diverse dalle LDL ed in particolare ai *remnants* del colesterolo (RC) e alle lipoproteine ricche in trigliceridi in condizioni di digiuno e non digiuno. Ciò è di particolare importanza nei soggetti con ipertrigliceridemia, negli obesi, nei diabetici e nella sindrome metabolica, ossia in una larga parte della popolazione generale. Durante il digiuno, i RC corrispondono al contenuto di colesterolo delle VLDL e dei loro *remnants* parzialmente impoveriti di trigliceridi, contenenti apoB-100. Viceversa, in condizioni di non digiuno, i RC comprendono anche il colesterolo presente nei chilomicroni derivanti dall'assorbimento intestinale dei grassi alimentari, contenenti apoB-48. In sintesi, possiamo considerare RC il colesterolo plasmatico totale meno il colesterolo-HDL ed il colesterolo-LDL, ossia, tutto il colesterolo presente nelle VLDL, nei chilomicroni e nei loro *remnants*. Numerose evidenze suggeriscono un ruolo dei RC nello sviluppo dell'arteriosclerosi. I RC passano facilmente la parete arteriosa e si legano alla matrice connettivale stimolando la progressione delle cellule muscolari lisce e la proliferazione dei macrofagi residenti. Possono anche indurre disfunzione endoteliale, produzione di molecole di adesione, attivazione piastrinica, aumento dell'espressione di CD40 e di metalloproteine e infiammazione di basso grado. Sono necessari ulteriori studi sugli effetti dei farmaci sui livelli dei RC e trials clinici per valutare l'efficacia della riduzione dei RC sugli eventi cardiovascolari.

Parole chiave: *Remnants del colesterolo, lipoproteine ricche in trigliceridi, rischio residuo, arteriosclerosi.*

Bibliografia

1. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias: The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *Atherosclerosis*. 2016; 253: 281-344.
2. 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. *Circulation*. 129 (Suppl. 2): S1-45, 2014.
3. Vannuzzo D. The epidemiological concept of residual risk. *Intern Emerg Med*. 6 (Suppl. 1): 45-51, 2011.
4. Ferrari R, Catapano AL. Residual cardiovascular risk. *European Heart Journal*. 2016; (Suppl. 18, Suppl. C).
5. Lawler PR, Akinkuolie AO, Chu AY, et al. Atherogenic Lipoprotein Determinants of Cardiovascular Disease and Residual Risk Among Individuals With Low Low-Density Lipoprotein Cholesterol. *J Am Heart Assoc*. 2017; 6: e005549.
6. Jepsen AM, Langsted A, Varbo A, et al. Increased remnant cholesterol explains part of residual risk of all-cause mortality in 5414 patients with ischemic heart disease. *Clin Chem*. 2016; 62: 593-604.
7. US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. Statin Use for the Primary Prevention of Cardiovascular Disease in Adults. *JAMA*. 2016; 316: 1997-2007.
8. 2016 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. *Eur Heart*. 2016; 37: 2315-2381.
9. Puri R, Nissen SE, Shao M, et al. Non-HDL cholesterol and triglycerides: implications for coronary atheroma progression and clinical events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016; 36: 2220-2228.
10. Langsted A, Nordestgaard BG. Nonfasting lipid profiles: the way of the future. *Clin Chem*. 2015; 61: 1123-1125.
11. Mora S. Nonfasting for routine lipid testing: from evidence to action. *JAMA Intern Med*. 2016; 176: 1005-1006.
12. Gaziano JM. Should we fast before we measure our lipids? *Arch Intern Med*. 2012; 172: 1705-1706.
13. Eckel RH. LDL cholesterol as a predictor of mortality, and beyond: to fast or not to fast, that is the question? *Circulation*. 2014; 130: 528-529.
14. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, et al. E Fasting Is Not Routinely Required for Determination of a Lipid Profile: Clinical and Laboratory Implications Including Flagging at Desirable Concentration Cutpoints-A Joint Consensus Statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem*. 2016; 62: 930-946.
15. Toth PP. Triglyceride-rich lipoproteins as a causal factor for cardiovascular disease. *Vascular Health and Risk Management*. 2016; 12: 171-183.
16. Masuda D, Yamashita S. Postprandial Hyperlipidemia and Remnant Lipoproteins. *J Atheroscler Thromb*. 2017; 24: 95-109.
17. Marcoux C, Hopkins PN, Wang T, et al. Remnant-like particle cholesterol and triglyceride levels of hypertriglyceridemic patients in the fed and fasted state. *J Lipid Res*. 2000; 41: 1428-1436.
18. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18: 499-502.
19. Sathiyakumar V, Park J, Golozar A, et al. Fasting versus non fasting and low-density lipoprotein cholesterol accuracy. *Circulation*. 2018; 137: 10-19.
20. Nakada Y, Kurosawa H, Tohyama J, et al. Increased remnant lipoprotein in patients with coronary artery disease - evaluation utilizing a newly developed remnant assay, remnant lipoproteins cholesterol homogenous assay (RemL-C). *J Atheroscler Thromb*. 2007; 14: 56-64.
21. McNamara JR, Shah PK, Nakajima K, et al. Remnant-like particle (RLP) cholesterol is an independent cardiovascular disease risk factor in women: results from the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis*. 2001; 154: 229-236.
22. Fukushima H, Sugiyama S, Honda O, et al. Prognostic value of remnant-like lipoprotein particle levels in patients with coronary artery disease and type II diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 2004; 43: 2219-2224.
23. Varbo A, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, et al. Remnant cholesterol as a causal risk factor for ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 2013; 61: 427-436.
24. Varbo A, Freiberg JJ, Nordestgaard BG. Extreme nonfasting remnant cholesterol *vs* extreme LDL cholesterol as contributors to cardiovascular disease and all-cause mortality in

- 90000 individuals from the general population. *Clin Chem.* 2015; 61: 533-543.
25. Jepsen AM, Langsted A, Varbo A, et al. Increased Remnant Cholesterol Explains Part of Residual Risk of All-Cause Mortality in 5414 Patients with Ischemic Heart Disease. *Clin Chem.* 2016; 62: 593-604.
 26. Kugiyama K, Doi H, Takazoe K, et al. Remnant lipoprotein levels in fasting serum predict coronary events in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 1999; 99: 2858-2860.
 27. Nakamura T, Obata JE, Hirano M, et al. Predictive value of remnant lipoprotein for cardiovascular events in patients with coronary artery disease after achievement of LDL-cholesterol goals. *Atherosclerosis.* 2011; 218: 163-167.
 28. Nguyen SV, Nakamura T, Kugiyama K. High remnant lipoprotein predicts recurrent cardiovascular events on statin treatment after acute coronary syndrome. *Circ J.* 2014; 78: 2492-2500.
 29. Nguyen SV, Nakamura T, Uematsu M, et al. Remnant lipoproteinemia predicts cardiovascular events in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *J Cardiol.* 2017; 69: 529-535.
 30. Joshi PH, Khokhar AA, Massaro JM, et al. Remnant Lipoprotein Cholesterol and Incident Coronary Heart Disease: The Jackson Heart and Framingham Offspring Cohort Studies. *J Am Heart Assoc.* 2011; 5: e002765.
 31. Vallejo-Vaz AJ, Fayyad R, Boekholdt SM, et al. Triglyceride-Rich Lipoprotein Cholesterol and Risk of Cardiovascular Events Among Patients Receiving Statin Therapy in the Treating to New Targets (TNT) Trial. *Circulation* 2018 (Epub ahead of print).
 32. Imke C, Rodriguez BL, Grove JS, et al. Are remnant-like particles independent predictors of coronary heart disease incidence? The Honolulu Heart study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25: 1718-1722.
 33. Saeed A, Feofanova EV, Yu B, et al. Remnant-like particle cholesterol, low-density lipoprotein triglycerides and incident cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 2018; 72: 156-159.
 34. Marcoux C, Hopkins PN, Wang T, et al. Remnant-like particle cholesterol and triglyceride levels of hypertriglyceridemic patients in the fed and fasted state. *J Lipid Res.* 2000; 41: 1428-1436.
 35. Masuda D, Yamashita S. Postprandial Hyperlipidemia and Remnant Lipoproteins. *J Atheroscler Thromb.* 2017; 24: 95-109.
 36. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *European Heart Journal.* 2011; 32: 1345-1361.
 37. Nordestgaard BG, Wootton R, Lewis B. Selective retention of VLDL, IDL, and LDL in the arterial intima of genetically hyperlipidemic rabbits in vivo. Molecular size as a determinant of fractional loss from the intima -inner-media. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; 15: 534-542.
 38. Bertelot Moens SJ, Verweij SL, Scizler JG, et al. Remnant cholesterol elicits arterial wall inflammation and multilevel cellular immune response in humans. *Arterioscl Thromb Vasc Biol.* 37: 969-975, 2017.
 39. Doi H, Kugiyama K, Oka H, et al. Remnant lipoproteins induce proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a redox-sensitive mechanism. *Circulation.* 2000; 102: 670-676.
 40. Wang YI, Bettaieb A, Sun C, et al. Triglyceride-rich lipoprotein modulates endothelial vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1 expression via differential regulation of endoplasmic reticulum stress. *PLoS One.* 2013; 8: e78322.
 41. Varbo A, Benn M, Tybjærg-Hansen A, Nordestgaard BG. Elevated remnant cholesterol causes both low-grade inflammation and ischemic heart disease, whereas elevated low-density lipoprotein cholesterol causes ischemic heart disease without inflammation. *Circulation.* 2013; 128: 1298-1309.
 42. Hernáez Á, Castañer O, Goday A, et al. The Mediterranean Diet decreases LDL atherogenicity in high cardiovascular risk individuals: a randomized controlled trial. *Mol Nutr Food Res.* 2017; 61: Epub May 2.
 43. Richard C, Couture P, Ooi EMM, et al. Effect of Mediterranean Diet With and Without Weight Loss on Apolipoprotein B100 Metabolism in Men With Metabolic Syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34: 433-438.
 44. Stein DT, Devaraj S, Balis D, et al. Effect of statin therapy on remnant lipoprotein cholesterol levels in patients with combined hypolipidemia. *Atheroscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 2026-2031.
 45. Dijk W, Le May C, Canou B, Beyond LDL: what role for PCSK9 in triglyceride-rich lipoprotein metabolism? *Trends Endocrinol Metab.* 2018; 29: 420-434.
 46. Chan DC, Watts GF, Somaratne R, et al. Comparative Effects of PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9) and Statins on Postprandial Triglyceride-Rich Lipoprotein Metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018; 38: 1644-1655.
 47. Nakamura K, Miyoshi T, Yunoki K, Ito H. Postprandial hypolipidemia as a potential residual risk factor. *J Cardiol.* 2016; 67: 335-339.

RASSEGNA

NUOVE PROSPETTIVE PER LE TERAPIE ANTI-INFIAMMATORIE NELL'ATEROSCLEROSI. QUALI EVIDENZE DALLA RICERCA DI BASE E CLINICA?

New perspectives for anti-inflammatory therapies in the atherosclerosis. Which evidence from basic and clinical research?

ANDREA BARAGETTI^{1,2}, FABRIZIA BONACINA¹

¹Laboratorio Lipoproteine, Immunità ed Aterosclerosi, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano;

²Centro SISA per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano

SUMMARY

Research from both the bench and clinic has led to the understanding that cholesterol metabolism and immune response are tightly connected. The exclusive role of lipids in the onset of cardiovascular diseases and, particularly, atherosclerosis has nowadays been replaced by the emerging concept of an interplay between metabolic function and activation of immune cells. In this scenario, the CANTOS trial has provided for the first time a reliable rationale for targeting inflammation beyond controlling plasma lipids to limit CVD risk. The aim of the present review is to provide a broad comprehension of the molecular circuits that couple intracellular lipid metabolism to the innate and adaptive immune response and their relevance in clinic application. While it is thoroughly accepted that dysregulation of immune response participates to atherogenesis, it is becoming clear that dysmetabolism may directly affect functions of immune cell by shaping their metabolic requirements. Therefore, looking to immunity has emerged as a novel option for the treatment of inflammation associated to cardiovascular diseases, on top of lipid-lowering drugs, although more clinical data are needed to test the synergistic effect of anti-inflammatory and CVD therapies; on the other hand, growing data from basic research suggest that targeting intracellular lipid metabolism, especially cholesterol, would potentially promise a novel therapeutic management of inflammatory conditions.

Keywords: Cholesterol metabolism, inflammation, immune response, atherosclerosis.

Indirizzo per la corrispondenza

Fabrizia Bonacina, Ph.D.

Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences

Via Balzaretti 9, 20133 Milano

E-mail: fabrizia.bonacina@unimi.it

Colesterolo e infiammazione nell'aterosclerosi: la doppia faccia della stessa medaglia?

La scoperta delle statine, inibitori competitivi delle HMGCoA reduttasi, ha fornito la prima solida evidenza della correlazione tra ipercolesterolemia e malattie cardiovascolari tanto che, a distanza di 40 anni, rappresentano ancora il cardine della terapia ipolipemizzante.

Tuttavia, già a partire dagli anni '80, numerosi studi sperimentali e clinici suggerivano uno scenario più complesso della fisiopatologia delle malattie cardiovascolari: non solo l'analisi bioptica delle placche aterosclerotiche rivelò la presenza di differenti popolazioni di cellule immunitarie, ma divenne chiaro, grazie al Physicians' Health Stud, che i livelli plasmatici al baseline del marcatore di infiammazione proteina C-reattiva ad alta sensibilità (hsCRP) erano in grado di predire il rischio di infarto miocardico e ictus in soggetti apparentemente sani, indipendentemente dalla presenza di tradizionali fattori di rischio.

Queste evidenze portarono alla fine degli anni '90 alla ridefinizione dell'aterosclerosi quale patologia infiammatoria cronica guidata da una condizione di dislipidemia, definizione tutt'oggi ancora valida.

Accumulo di colesterolo intracellulare: meccanismi molecolari associati alla risposta infiammatoria

La ritenzione di lipoproteine contenenti apo-B nell'intima delle arterie è da sempre considerato il fattore scatenante l'instaurarsi di un processo di infiammazione locale e cronica, che promuove ed aggrava la lesione aterosclerotica; tuttavia, già la sola dislipidemia contribuisce ad instaurare una risposta infiammatoria a livello sistemico, che si riflette in un aumento

dei livelli circolanti di linfociti T attivati (1, 2), suggerendo che l'alterazione sia locale che sistemica della risposta immuno-infiammatoria partecipi alla fisiopatologia delle malattie cardiovascolari.

I macrofagi sono stati per primi identificati come le cellule immunitarie implicate nel processo aterosclerotico perché responsabili dell'endocitosi di lipoproteine a bassa densità (LDL) sia nella loro forma nativa che modificata (3); mentre il primo rappresenta un processo altamente regolato dalla quantità di LDL-recettore presente in membrana, l'*uptake* di LDL modificate è responsabile dell'accumulo massivo di colesterolo intracellulare (4). Nel lisosoma, la lipasi acida lisosomiale (LAL), idrolizzando l'estere, genera colesterolo libero (FC) (5), centrale nella regolazione del metabolismo lipidico intracellulare. Difatti, la sua liberazione nel citoplasma provoca il blocco della via guidata dal fattore di trascrizione SREBP (sterol regulatory element binding protein) e l'attivazione di LXR (liver X receptor), che promuove la trascrizione di geni coinvolti nell'efflusso di colesterolo, quali i trasportatori ABCA1 e ABCG1 (ATB binding cassette) (*Figura 1*). L'evoluzione dell'aterosclerosi è strettamente dipendente da alterazioni di questi meccanismi, non solo come conseguenza della dislipidemia che ne deriva, ma anche per effetti sulla risposta infiammatoria. La compromissione dell'efflusso di colesterolo in animali *knock-out* per i trasportatori ABCA1 e ABCG1, infatti, parallelamente all'aterosclerosi, incrementa la responsività ai recettori *toll-like* (TLRs) e la produzione di citochine pro-infiammatorie come CCL2 e CCL3 da parte dei macrofagi (6). Tontonoz e colleghi furono pionieri nel rivelare i meccanismi molecolari che legano metabolismo e infiammazione dimostrando come l'attivazione di LXR nei macrofagi fosse in grado di sopprimere la trascrizione

ne di geni pro-infiammatori quali iNOS (ossido nitrico sintetasi inducibile), COX-2 (ciclossigenasi 2) e IL-6 (interleuchina 6), tramite l'inibizione della via NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) indotta dalla stimolazione con lipopolisaccaride (LPS) (7). Recentemente, il lungo RNA non codificante (lncRNA), Maxis (Macrophage-Expressed LXR-Induced Sequence) è stato individuato quale modulatore dell'attivazione di LXR e dell'espressione di ABCA1 fornendo così nuovi dettagli sulla regolazione cellulare del metabolismo del colesterolo; topi LDLR KO trapiantati con midollo osseo di topi Maxis KO presentano infatti una ridotta espressione di ABCA1, un aumento dell'espressione di geni pro-infiammatori e un'aumentata aterosclerosi (8).

Parallelamente, è interessante osservare come, in contesti differenti dall'aterosclerosi, quali alcune malattie autoimmunitarie, vedi il lupus eritematoso sistemico (SLE) e l'artrite reumatoide (RA), alterazioni del metabolismo lipidico intracellulare ne peggiorino il quadro clinico. Topi ABCA1/G1 KO manifestano un fenotipo simile al lupus caratterizzato dall'insorgenza di glomerulonefriti, linfadenopatia e presenza di autoanticorpi (9), similmente a quanto osservato in topi apoE KO/LXR β KO dopo trattamento con una dieta ricca in colesterolo (10). Entrambi i lavori individuano l'accumulo di colesterolo nelle cellule dendritiche come responsabile della loro iper-reattività, che si traduce in un aumento del rilascio di citochine pro-infiammatorie (IL-1 β , IL-18, IL-6, IL-12) e dell'attivazione di linfociti T e B.

Un corretto bilancio della concentrazione intracellulare di colesterolo appare dunque cruciale per il controllo della fisiologica risposta immunitaria; difatti, sebbene necessario per la sopravvivenza e la proliferazione, la cellula ha elaborato

una serie di meccanismi per controllare la quantità di colesterolo libero intracellulare, così che quando in eccesso, venga accumulato in membrana plasmatica, trasformato in metaboliti meno tossici, gli ossisteroli, o ri-esterificato tramite l'enzima ACAT (acyl-CoA:cholesterol acyltransferase) e stoccato in gocce lipidiche (lipid droplets, LD).

Accumulo di colesterolo nella membrana plasmatica: il ruolo dei lipid rafts nelle cellule immunitarie

Più del 90% del colesterolo è localizzato nella membrana plasmatica dove si concentra in microdomini altamente specializzati, chiamati *lipid rafts*, che, influenzando proprietà e funzioni di proteine ivi localizzate, mediano i segnali dall'ambiente extracellulare a quello intracellulare. Le cellule immunitarie concentrano una serie di recettori, tra cui i TLRs, il recettore delle cellule T (TCR) e B (BCR), il complesso maggiore di istocompatibilità II (MHCII) nei *rafts*, la cui estensione favorisce l'accumulo di tali recettori in membrana, influenzando così la responsività e la conseguente attivazione della cellula (*Figura 1*). L'aumentata risposta infiammatoria osservata nei macrofagi privi dei trasportatori ABC trattati con oxLDL è stata infatti associata ad un'aumentata localizzazione dei TLRs nei lipid rafts (6). In modo simile, la mancanza dell'apolipoproteina E nelle cellule dendritiche promuove la localizzazione del complesso MHCII nei rafts, traducendosi in un'iper-reattività di queste cellule, che spiega in parte la maggiore attivazione della risposta immunitaria osservata in topi apoE KO (11). Inoltre, la monocitosi e neutrofilia che si accompagna all'accelerato processo aterosclerotico osservato in topi apoE KO e ABCA1/ABCG1 KO sono state associate ad un accumulo di *lipid rafts* in cellule progenitrici circolan-

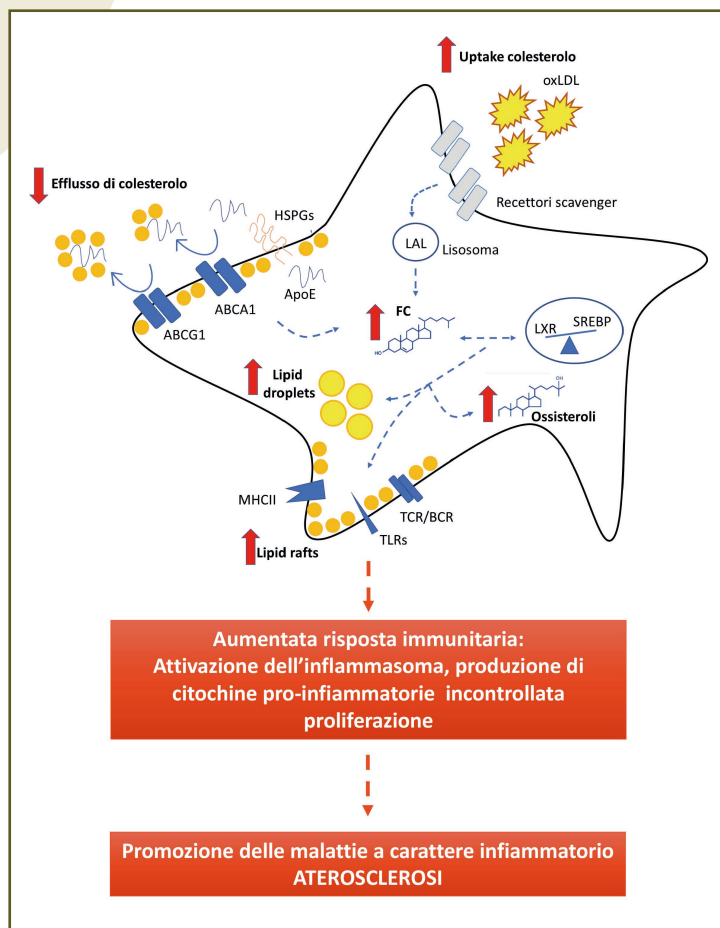


Figura I - Alterazioni del metabolismo intracellulare si associano ad un'aumentata risposta immuno-infiammatoria.

La quantità di colesterolo intracellulare è finemente regolata a più livelli. Una riduzione dell'efflusso di colesterolo o un aumento del suo uptake nella forma di LDL ossidate (oxLDL) aumenta la concentrazione intracellulare di colesterolo libero (FC), derivato per idrolisi della forma esterificata ad opera della LAL (lipasi acida lisosomiale). FC è il modulatore principale del metabolismo lipidico intracellulare e il suo accumulo influenza l'attività dei fattori di trascrizione LXR (liver X receptor) e SREBP (sterol element binding protein), promuovendo quella del primo e bloccando quella del secondo. Quando questo meccanismo non compensa, l'eccesso di colesterolo viene conservato in gocce lipidiche, stipato in membrana plasmatica dove partecipa alla formazione di lipid rafts e alla co-localizzazione di recettori immunitari, tra i quali TLRs (recettore toll-like), TCR e BCR (recettore delle cellule T e B) e MHCII (complesso maggiore di istocompatibilità), oppure viene convertito, per via enzimatica e non, in ossisteroli. Tali processi sono associati ad un aumento della risposta immuno-infiammatoria (attivazione dell'inflammasoma, produzione di citochine pro-infiammatorie, proliferazione cellulare incontrollata) che promuove e sostengono le patologie a carattere infiammatorio, quali appunto l'aterosclerosi.

ti (HSCs) che, promuovendo la localizzazione superficiale dei recettori dell'IL-3, IL-5 e GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), ne induce una incontrollata proliferazione (6, 12). All'opposto, l'overespressione di apoAI in questi modelli animali è stata in grado di ridurre l'ematopoiesi midollare; difatti, la promozione dell'efflusso, tramite l'uso di accettori specifici e non di colesterolo, quali le HDL, l'apo AI o la β -metilciclodestrina, ha dimostrato di ridurre l'estensione dei *lipid rafts* e la co-localizzazione dei recettori superficiali, limitando l'attivazione immunitaria (13). Il trattamento con HDL si è dimostrato anche efficace nel ridurre l'infiammazione della placca aterosclerotica in modelli animali di artrite dove l'aumentata aterosclerosi è stata associata all'eccessiva mielopoiesi per accumulo di *lipid rafts* nella membrana delle cellule ematopoietiche, fenomeno provocato dalla *downregolazione* dei trasportatori ABC e apoE indotta dalla costante infiammazione sistemica connessa alla malattia autoimmune (14).

Questi risultati suggeriscono che cambiamenti nella quantità di colesterolo in membrana possano essere sfruttati per ottenere risposte immunitarie specifiche per la condizione patologica in studio. Infatti, se da un lato, la deplezione dei rafts diminuisce la responsività immunitaria, riducendo così il fenomeno aterosclerotico, al contrario, un aumento dei rafts amplifica la risposta immunitaria. Ne è un esempio l'inibizione dell'enzima ACAT1 (acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase tipo 1) nei linfociti CD8 che, bloccandone l'esterificazione, provoca un aumento del colesterolo libero di membrana; l'accumulo di colesterolo favorisce il clustering del TCR e l'attivazione nei linfociti CD8 potenziandone così l'attività anti-tumorale (15).

Effetti di steroli e ossisteroli sulla funzionalità immunitaria

Il deficit di mevalonato chinasi, una rara malattia ereditaria, esemplifica la relazione che intercorre tra metabolismo lipidico intracellulare e risposta infiammatoria; infatti tale patologia, caratterizzata da accumulo di mevalonato, un intermedio nella via biosintetica del colesterolo, si manifesta con ricorrenti episodi di infiammazione sistemica mediati dall'interleuchina 1 β (16).

Il mantenimento di fisiologici livelli di colesterolo intracellulari è infatti finemente controllata dalla disponibilità sia di metaboliti intermedi della via biosintetica del colesterolo, che di ossisteroli, derivati di suoi processi di ossidazione enzimatica o radicalica, definiti nel loro complesso *steroloma*, che non sono solo coinvolti nella regolazione dell'attività di SREBP e LXR, ma anche, per l'appunto, della risposta immunitaria (*Figura 1*).

Studi recenti hanno infatti dimostrato il ruolo più o meno diretto degli steroli sulla regolazione di una serie di funzioni immunitarie.

Lo stesso colesterolo presente nella membrana plasmatica è in grado di legare direttamente il recettore TCR sui linfociti T generando effetti contrapposti, da una parte promuovendo la dimerizzazione e il *clustering* del recettore, risultando in una maggiore avidità di legame per l'antigene, fenomeno osservato nei linfociti memoria rispetto a quelli naïve (17), dall'altra, mantenendo il recettore in una conformazione allosterica inattiva che ne ostacola la fosforilazione e quindi l'attivazione (18).

Il netto effetto sulla risposta immuno-infiammatoria sembra infatti dipendere dal contesto in cui il metabolita si trova ad agire. Un interessante esempio è fornito dal 25-idrossicolesterolo (25HC), derivato della colesterolo 25-idrossilasi (Ch25h),

che limita sia la risposta infiammatoria inibendo l'inflammasoma e la produzione di IL-1 β matura (19), che la replicazione virale bloccando la sintesi del colesterolo (20), suggerendo che la ri-programmazione del metabolismo degli steroli rappresenta un meccanismo centrale e, probabilmente primordiale, della difesa verso patogeni intracellulari.

D'altra parte, la stessa attivazione immunitaria induce profondi cambiamenti del metabolismo cellulare: la risposta antivirale sostenuta dall'interferone (IFN) riduce la sintesi di colesterolo (21), mentre, il processo di fagocitosi si accompagna all'accumulo di desmosterolo che, regolando l'attività delle vie dipendenti da LXR e SREBP, controlla la trascrizione di geni pro-infiammatori, suggerendo che l'attivazione immunitaria e il mantenimento dell'omeostasi metabolica siano strettamente integrate (22). Simili meccanismi operano nella risposta adattativa dove l'attivazione del TCR nei linfociti promuove la via biosintetica guidata da SREBP ed inibisce LXR rappresentando un adattamento metabolico necessario per sostenere la proliferazione cellulare (23).

Queste evidenze suggeriscono quindi un nuovo paradigma dove il controllo del metabolismo lipidico nelle cellule immunitarie sembra essere necessario più per modulare la risposta immunitaria che per il mantenimento dell'omeostasi cellulare.

Lipid droplets: organuli dinamici coinvolti nel processo infiammatorio

Sebbene a lungo considerate semplici organelli intracellulari deputati all'accumulo di lipidi, attualmente le gocce lipidiche (*lipid droplets*) sono riconosciute come importanti modulatori sia del metabolismo lipidico intracellulare che dell'immunità. Sono infatti essenziali per supportare metabolicamente la risposta

immunitaria, partecipano alla produzione di mediatori infiammatori (eicosanoidi), alla clearance di patogeni e alla risposta indotta da IFN (24).

Caratterizzate da un core di lipidi neutri, che comprende esteri degli steroli e trigliceridi, circondato da un monostrato di fosfolipidi, le gocce lipidiche accumulate nei macrofagi della placca sono state riconosciute tra i primi segni patognomici dell'aterosclerosi (*Figura 1*). L'accumulo lipidico interessa tuttavia altre classi di cellule immunitarie e avviene anche in circolo: gocce lipidiche sono state infatti osservate in monociti, sia nella fase post-prandiale dopo un pasto ricco di grassi (25), che in condizioni di ipercolesterolemia (26). Il trattamento con agenti ipolipemizzanti, quali gli anticorpi anti-PCSK9, riducendo il numero di gocce lipidiche, ha migliorato il fenotipo pro-infiammatorio di monociti isolati da pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare (27). Non solo, queste osservazioni suggeriscono che l'iperlipidemia, provocando accumulo lipidico cellulare, agisca da *priming* sull'attivazione monocitaria, amplificandone la risposta infiammatoria una volta maturati a macrofagi nella placca. Difatti, l'accumulo di lipidi nelle cellule di origine mieloide è stato associato all'acquisizione di una memoria immunologica diversa da quella normalmente attribuita alle cellule dell'immunità adattativa e nota con il termine di *trained immunity* (28). È stato dimostrato che l'esposizione di monociti non solo a stimoli microbici, ma anche a oxLDL o lipoproteina (a) (Lp(a)) incrementa la produzione di citochine pro-infiammatorie dopo ri-stimolazione (29); tale effetto è associato a cambiamenti epigenetici, quali riorganizzazione cromatinica e modifiche istoniche, indotti dalla prima esposizione allo stimolo che up-regola i *pathway* immunologici e metabolici fornendo da una

parte le "armi", dall'altra "l'energia" per affrontare una seconda riesposizione allo stimolo. Recentemente, il mevalonato è stato individuato come fondamentale nell'attivazione della *trained immunity*, grazie alla sua capacità di aumentare l'attività del recettore IGF1 (insulin-like growth factor 1) che, tramite l'attivazione di mTOR (mammalian target of rapamycin), promuove cambiamenti epigenetici (30). Gli effetti pleiotropici di carattere antinfiammatorio delle statine possono quindi essere ricondotti alla loro capacità di ridurre l'accumulo di mevalonato, suggerendo che la modulazione del metabolismo lipidico cellulare possa assumere una rilevanza clinica nel trattamento di patologie infiammatorie.

Va ciononostante tenuto conto che la breve emivita dei monociti suggerisce che tali cambiamenti epigenetici possano avvenire già nei precursori mieloidi a livello midollare. Infatti, tale ipotesi giustifica i risultati derivati da numerosi studi epidemiologici sull'uso dei vaccini che riportano effetti non-vaccino specifici; ne è un esempio il vaccino contro la tubercolosi (BCG) per il quale sono state riportate funzioni protettive che vanno oltre quelle descritte contro il *Mycobacterium tuberculosis* (31).

Colesterolo e inflammasoma: l'anello di congiunzione tra aterosclerosi e risposta immunitaria

L'inflammasoma è un complesso molecolare citoplasmatico formato in seguito al riconoscimento da parte dei recettori NOD (recettori NOD-like) di particolari strutture associate a patogeni (PAMPs) Pathogen Associated Molecular Patterns o al danno cellulare (DAMPs) Damage-associated molecular patterns, che risulta nell'attivazione della caspasi-1 la quale, attraverso taglio proteolitico, attiva il precursore dell'IL-1 β e dell'IL-18 (32). L'eccesso di colesterolo, depositato in forma di cri-

stalli, attiva l'inflammasoma NLRP3 risultando nel rilascio dell'IL-1 β e dell'IL-18 mature, fenomeno associato ad un'aumentata aterosclerosi (33); al contrario, la mancanza della caspasi-1 ha un effetto protettivo (34). L'accumulo di colesterolo rappresenta il principale *trigger* di NLRP3, tanto che la mancanza dei trasportatori ABC nelle cellule mieloidi di topi LDLR KO stimola la sua attivazione sia nei monociti/macrofagi che nei neutrofili, incrementando il loro accumulo nella placca (35). Dati recenti suggeriscono che le oxLDL possano agire da primo stimolo nell'attivazione di NLRP3, infatti sebbene il passaggio da una dieta arricchita in colesterolo ad una standard riduca l'infiammazione sistemica in topi LDLR KO, le cellule mieloidi conservano una risposta decisamente aumentata ad uno stimolo immunitario, ipotizzando che lo stesso NLRP3 possa avere un ruolo nella riprogrammazione epigenetica delle cellule mieloidi (36).

L'infiammazione nel fenomeno dell'aterosclerosi: dalla patologia alle prospettive cliniche

L'infiammazione nell'aterosclerosi o causa dell'aterosclerosi?

Quando nel 1999 Russel Ross scrisse che "L'aterosclerosi è una malattia infiammatoria", si rese ancora più evidente che l'infiammazione non è soltanto conseguente all'accumulo di cellule immunitarie e ai meccanismi responsabili dell'insorgenza del fenomeno aterosclerotico che esse stesse orchestrano ma risulta essere anche causa del "circolo vizioso" che ne fomenta l'evoluzione.

Questa concezione si è sviluppata ancor prima, quando già nel 1929, Samuel A. Levine, cardiologo e pioniere in ambito di trombosi coronarica, osservava che "il grado di febbre e la leucocitosi forse

dipende dall'estensione della regione miocardica infartuata". e che "il tessuto infartuato... probabilmente libera sostanze tossiche che esacerbano la febbre e la leucocitosi... la conta leucocitaria tende ad aumentare parallelamente con l'aumento della febbre... la presenza di leucocitosi è uno dei segni dei più costanti sintomi della trombosi coronarica..." (Levine SA. *Medicine*. 1929; 8: 245-418).

Con il passare degli anni siamo stati in grado di identificare i marcatori che contribuiscono a questa semeiotica e la biologia ci elenca una serie ben più estesa di citochine, chemochine e complessi multiproteici che vengono rilasciati da cellule del sistema immunitario, partecipando nel fenomeno dell'aterosclerosi. È altresì vero che la rilevanza di tutti questi meccanismi non si apprezza soltanto durante le fasi acute e la manifestazione clinica dell'aterosclerosi, ma anche cronicamente lungo il suo sviluppo. La moltitudine di dati epidemiologici ci evidenzia come tutto questo sia esacerbato da complicanze, quali diabete, ipertensione, dislipidemia e scorrette abitudini alimentari, mentre la clinica fornisce un'ampia serie di "modelli" nei quali infiammazione cronica, comorbidità cliniche e metaboliche si incontrano, determinando un elevato rischio cardiovascolare già in età premature.

Le malattie reumatiche e autoimmuni: un modello clinico di infiammazione e aterosclerosi prematura

Anche escludendo le forme più segregate e ancor meno comuni di infiammazione vascolare (la sindrome di Churg-Strauss oppure la granulomatosi di Wegener), i pazienti affetti da malattie reumatiche croniche e autoimmuni (dal Lupus Sistemico Eritematoso (SLE) all'Artrite Reumatoide (RA), dalla spondilite anchilosante alle arteriti di Takayasu (TA)) mostrano un'am-

plificata mortalità cardio-coronarica già durante le più precoci decadi. Ad esempio le malattie cardiovascolari su base ischemica rappresentano oltre il 50% della mortalità in età precedente la sesta decade di vita in pazienti affetti da RA (37). Nello SLE il rischio di infarto acuto del miocardio è fino a dieci volte più elevato in donne con età comprese tra i 35 e i 40 anni rispetto alla popolazione generale; inoltre, nelle stesse decadi è possibile riscontrare aterosclerosi subclinica carotidea in oltre il 30% dei pazienti affetti da SLE e, in particolare, in quelli con i maggiori indici di attività della malattia (38).

È atteso che fattori come il fumo oppure la disabilità fisica causata da RA esacerbino ulteriormente la patologia cardiovascolare in queste malattie. Inoltre, il cronico grado di infiammazione nonché le aggressive terapie antiinfiammatorie con cortisonici favoriscono lo sviluppo di insulino-resistenza e dell'alterazione metabolica di queste patologie. Mentre l'ipertensione spesso accompagna diverse patologie reumatiche, diversi studi hanno dimostrato alterazioni nella composizione e, quindi, nel potenziale aterogeno di alcune frazioni lipoproteiche (39).

Alla luce di tutte queste osservazioni, è tuttavia utile notare inoltre che la maggior parte degli studi epidemiologici in queste coorti ad oggi non ha raggiunto ancora un *consensus* in merito al peso esercitato dai fattori di rischio tradizionali (37) sull'*outcome* cardiovascolare.

Inoltre il beneficio delle terapie ipolipemizzanti nella riduzione del rischio cardiovascolare non è ad oggi confermato nei pazienti reumatologici e non sono disponibili né robusti trials a supporto di beneficio delle terapie con statine né specifici target nella riduzione di LDL-C in queste tipologie di pazienti, come riconosciuto recentemente anche da diverse Linee Guida

Internazionali, tra cui quelle della Società Europea di Aterosclerosi (40).

Altresì viene sempre più comprovata l'importanza dell'infiammazione come target terapeutico in pazienti reumatologici, ancor più rispetto a pazienti non affetti da tali patologie (37). Diversi trials interventistici hanno raccolto importanti osservazioni sul beneficio delle terapie anti-infiammatorie non soltanto nel decorso della malattia reumatologica ma anche nello sviluppo e manifestazione clinica del fenomeno aterosclerotico.

Una metanalisi di dieci studi su pazienti con RA, psoriasi e poliartrite ha osservato che il trattamento con metotressato si associava a una riduzione del 20% della mortalità cardiovascolare e del 18% nello specifico per infarto acuto del miocardio (41).

Malgrado queste evidenze, il restante ampio spettro di terapie anti-reumatiche (noto come "disease-modifying anti-rheumatic drug (DMARD)") rappresenta sì un valido approccio nel ridurre i livelli di biomarcatori pro-infiammatori (Proteina C-reattiva, IL-6, Fibrinogeno) ma ha suscitato pareri contrastanti nella riduzione degli eventi cardiovascolari. Alcuni di questi, infatti, hanno addirittura mostrato un peggioramento nel rischio di eventi cardiovascolari (tra cui cortisonici (42), FANS e COXIB e Ciclosporina), mentre per altri pochi sono i dati validi a disposizione (tra cui Micofenolato Mofetile, e Tocilizumab (anticorpo monoclonale contro il recettore solubile per IL-6 (42))). Malgrado siano ancora in corso studi con end-point cardiovascolare in pazienti trattati con terapie soppressive della risposta linfocitaria del comparto B (vedasi Rituximab (43)), è stata riportata una riduzione dell'attività della malattia SLE parallelamente a una riduzione dello sviluppo di aterosclerosi subclinica carotidea in pazienti trattati con

Belimumab (anticorpo monoclonale IgG1-lambda specifico per la proteina solubile umana che stimola i linfociti B (BLyS, B-Lymphocyte Stimulator (38)).

È stato osservato un 13% maggiore uptake di ^{18}F -fluorodesossiglucosio (radio-tracciato attraverso tomografia ad emissione di positroni, PET) in aorte di pazienti affetti da RA rispetto a pazienti con malattia coronarica ischemica stabile e con profilo clinico e biochimico paragonabile, ad indicare un maggior grado di flogosi vascolare (42) indipendentemente da altri fattori di rischio cardiovascolare classici. Pur tuttavia, questo segnale veniva significativamente ridotto dopo otto settimane di trattamento alla massima dose con etanercept (immunoglobulina

chimerica umana IgG1 fusa con il recettore umano p75 per il fattore TNF- α) e di infliximab (che determina significative riduzioni nel profilo di diverse citochine pro-infiammatorie (32)). Al contrario, in uno studio indipendente tuttavia, l'utilizzo di etanercept in pazienti con più lunghi follow-up di malattia e con una maggiore compromissione cardio-metabolica sortiva l'effetto opposto, questionando ancora l'effetto dei fattori di rischio in presenza di elevati livelli di infiammazione (44).

Le malattie reumatologiche rappresentano dei modelli utili a riconoscere l'effetto rilevante dell'infiammazione nel fenomeno aterosclerotico, malgrado in queste stesse patologie rimanga ancora poco chiaro se vi sia un effetto benefico delle terapie anti-

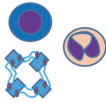
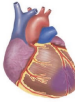
	 ↓ Infiammazione	 ↓ Colesterolo	 ↓ CVD	Ref
DMARDs				
<i>Metotressato</i>	✓✓	X	?	[37,38,41, 42]
<i>Cortisonici</i>	✓✓	X	X	[37,38, 42]
<i>NSAIDs</i>	✓✓	X	X	[37,42]
<i>Etanercept</i>	✓✓	X	X	[42, 53]
<i>Infliximab</i>	✓✓	X	X	[42, 54]
<i>Canakinumab</i>	✓✓	X	✓	[55]
Ipolipemizzanti				
<i>Statine</i>	?	✓✓	✓	[48,49]
<i>Anti-PCSK9 mAbs</i>	?	✓✓	✓	[50,51]
<i>Anti Lp(a) ASO</i>	✓	✓✓	?	[52]

Figura 2 - Terapie antinfiammatorie e terapie ipolipemizzanti per la riduzione del rischio cardiovascolare.

Nella tabella si riassume quanto riportato dai maggiori trials circa l'effetto nel contrastare l'infiammazione, nel ridurre la colesterolemia e nel ridurre il rischio di eventi cardiovascolari da parte di terapie antinfiammatorie e ipolipemizzanti. "✓" in verde indica associazione positiva tra il trattamento farmacologico e l'outcome; "X" in rosso indica mancata correlazione tra il trattamento farmacologico e l'outcome; "?" in giallo indica mancata informazione oppure dati contrastanti in merito all'associazione tra il trattamento farmacologico e l'outcome. "DMARDs" = disease-modifying anti-rheumatic drug; "NSAIDs" = Non-steroidal anti-inflammatory drugs; "ASO" = Oligonucleotide Antisense; "mAbs" = Anticorpi monoclonali; "Ref" = Referenze bibliografiche.

infiammatorie (*Figura 2*). Quest'incertezza può essere spiegata non soltanto dalle confondenti pluri-terapie ma anche dall'alterazione nel controllo metabolico, tra cui quello lipidico, che risulta essere un denominatore comune della maggior parte di queste.

Quest'ultima riflessione polarizza nuovamente l'attenzione su quale sia la relazione tra l'infiammazione e colesterolemia nel fenomeno dell'aterogenesi.

L'infiammazione nelle ipercolesterolemie: una "chiamata alle armi" per nuovi approcci terapeutici

Rispetto ai pazienti affetti da RA, un similare grado di uptake aortico di ^{18}F -fluorodesossiglucosio tracciato attraverso PET è stato riscontrato in pazienti affetti da Ipercolesterolemia Familiare Eterozigote (HeFH), probandi per mutazioni sul recettore per le lipoproteine LDL (*LDLR*). Questo segnale era esacerbato in pazienti affetti da iperlipemia familiare combinata (FCH) (45) mentre esso si riduceva mediamente del 12% in seguito a un dimezzamento non farmacologico della colesterolemia LDL, mediante aferesi lipoproteica (46). A tutte queste eleganti osservazioni si allineano altre considerazioni a sostegno del controllo del colesterolo per la riduzione della flogosi vascolare. Infatti, l'aumentato uptake di ^{18}F -fluorodesossiglucosio in pazienti ipercolesterolemici correlava positivamente con l'attivazione cellulare e l'espressione di recettori per il legame di chemochine di parete (tra cui C-C chemokine receptor type 2, "CCR2") da parte di monociti circolanti (47).

La ricchezza di tutte queste evidenze, in aggiunta a quelle provenienti dalla ricerca di base, evocano una vera e propria "chiamata alle armi" al fine di contrastare sia l'ipercolesterolemia sia l'infiammazione sistemica.

Ridurre il colesterolo per contrastare l'infiammazione nelle malattie cardiovascolari

È indiscusso l'effetto benefico delle terapie "classiche" con statine, le quali permettono sia una riduzione lineare del 23% del rischio di eventi cardiovascolari per ogni mmol/L di LDL-C ridotta (48) sia una regressione del 3% nel volume percentuale di stenosi nei maggiori distretti coronarici riducendo LDL-C fino a 60 mg/dL (49). Pur tuttavia, i recenti dati dello Studio FOURIER (Further Cardiovascular Outcomes Research With PCSK9 Inhibition in Patients With Elevated Risk) hanno dimostrato che è possibile agire su un "rischio cardiovascolare residuo" (*Figura 2*). Infatti, in seguito al dato principale dello studio, per cui possiamo guadagnare un'ulteriore riduzione del 15% degli eventi cardiovascolari se aggiungiamo Evolocumab (anticorpo monoclonale anti-PCSK9) sul solo trattamento con statine (50), un'analisi spin-off ha studiato se vi fosse un parallelo beneficio in pazienti ad elevato rischio cardiovascolare e ad elevato grado di infiammazione, rappresentato dai livelli circolanti di proteina C-reattiva.

Il lavoro ha analizzato l'efficacia di Evolocumab per la riduzione di eventi in pazienti ad elevato rischio CV stratificati in funzione a) dei soli livelli di Proteina C-Reattiva ad alta sensibilità (hsCRP), e b) intersecando questi ultimi con i livelli di LDL-C raggiunti dopo il primo mese di trattamento.

Al termine del follow-up, i pazienti che più hanno beneficiato del trattamento non erano coloro che hanno soltanto raggiunto target più significativi di riduzione di LDL-C a un mese di trattamento con evolocumab, ma coloro che al contempo mostravano anche livelli di hsCRP più elevati alla randomizzazione.

I dati incoraggianti ottenuti da questo trial non sono stati, d'altro canto, replicati dai recenti dati combinati degli studi SPIRE-1 e SPIRE-2 (Studies of PCSK9 Inhibition and the Reduction in Vascular Events). Infatti, in questa esperienza soltanto i pazienti trattati con statina alla massima dose tollerabile e Bococizumab che raggiungevano un target di LDL-C 30-50 mg/dL a quattordici settimane di trattamento beneficiavano di una riduzione del rischio di di eventi cardiovascolari. Lo stesso dato non si osservava, invece in pazienti con hs-CRP superiore a 3 mg/L dopo trattamento, che mostravano un rischio comunque superiore rispetto ai pazienti con hsCRP inferiore a 1 mg/L (51).

L'effetto su marcatori surrogati di infiammazione sistemica da parte degli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 non sembra pertanto essere all'altezza della loro efficacia sul profilo lipidico. Va riconosciuto che la combinazione tra statine e anticorpi monoclonali anti-PCSK9 sembra non completamente rispondere all'esigenza di contrastare i meccanismi infiammatori sistemici, rappresentati dagli elevati livelli circolanti di proteina C-reattiva. D'altro canto questi ultimi non riflettono gli eventi aterotrombotici, rappresentati maggiormente dalla solida relazione tra danno endoteliale e ossidazione delle LDL.

In questa direzione, paralleli approcci sperimentali hanno supportato l'effetto pro-infiammatorio degli anticorpi monoclonali anti-PCSK9. È stato infatti proposto che il trattamento di ventiquattro settimane con Evolocumab riduceva la capacità dei monociti di trasmigrare *in vitro* attraverso un monostrato di cellule endoteliali (linea HUVEC), parallelamente a una riduzione dell'espressione di membrana di CCR2 (27). Maggiori replicazioni, ad ogni modo, sono richieste in questa direzione,

dato che rimane da chiedersi se è pensabile un approccio farmacologico diretto contro l'infiammazione vascolare e volto a contrastare i meccanismi cellulari che ne fomentano l'evoluzione.

Lp(a) ha rappresentato soprattutto negli ultimi anni un target altrettanto *appealing* non soltanto dal punto di vista lipidologico ma anche al fine di contrastare l'elevato rischio dei pazienti con suoi elevati livelli plasmatici (Figura 2).

Monociti isolati da pazienti ipercolesterolemici con elevati livelli di Lp(a), unico marcatore di aumentato rischio di stenosi valvolare aortica, mostravano sia un'aumentata capacità di trasmigrazione endoteliale *in vitro* su un monostrato di cellule HUVEC (rispetto a quelli isolati non soltanto da soggetti controllo ma anche da soggetti ipercolesterolemici con ridotti livelli di Lp(a) (29)) sia un'aumentata produzione di citochine pro-infiammatorie *in vitro* non soltanto dopo isolamento, ma in misura maggiore dopo una seconda stimolazione con uno stimolo pro-infiammatorio.

Studi randomizzati, in doppio cieco, controllati da placebo che hanno considerato l'utilizzo di oligonucleotidi antisense (ASO) alla massima dose diretti contro la componente proteica di questa lipoproteina, non soltanto hanno mostrato schiacciati riduzioni di Lp(a) (fino al 75% dei valori basali), ma hanno anche permesso riduzioni fino al 50% dei fosfolipidi ossidati dell'ApoB e di apo(a) parallelamente a significative riduzioni nella capacità dei monociti di trasmigrare (52) attraverso un monostrato di cellule HUVEC.

Contrastare l'infiammazione per la prevenzione delle malattie cardiovascolari

Se non si considera lo Studio CIRT (Cardiovascular Inflammation Reduction Trial) volto a valutare l'effetto ateropro-

tettivo di Metotressato e recentemente sospeso (sebbene non per motivi di sicurezza), pochi risultati (e non tutti incoraggianti) sono disponibili circa le terapie antiinfiammatorie in ambito cardiovascolare (Figura 2).

Lo Studio RENEWAL (Randomized Etanercept Worldwide Evaluation), un'analisi combinata di due dataset indipendenti (RENAISSANCE e RECOVER) coinvolgendo oltre duemila pazienti con scompenso cardiaco (dal grado II al IV secondo New York Heart Association e con frazione di eiezione residua inferiore al 30%) (53), ha fallito nell'intento di riportare un effetto benefico di Etanercept (antagonista del recettore solubile per il Tumor Necrosis Factor, TNF) nella prevenzione della mortalità e l'ospedalizzazione. In aggiunta, una tendenza al peggioramento di questo rischio rivelata dall'analisi RENAISSANCE, ha allertato i clinici, invocando cautela nell'utilizzo di Etanercept in questa classe di pazienti. Risultati del tutto analoghi erano stati osservati in seguito a trattamento con Infliximab (anticorpo monoclonale diretto contro TNF), alla dose di 10 mg/kg corporeo, in pazienti con scompenso cardiaco di gradi ancora più avanzati (54), ulteriormente riducendo la validità di questi approcci anti-infiammatori, che prescindono dal controllo della colesterolemia, nella prevenzione della patologia cardiovascolare.

Recenti approcci traslazionali hanno, invece, dimostrato che alterazioni nella mobilitazione cellulare del colesterolo determinano una significativa attivazione dell'inflammasoma NOD-Like Receptor Protein 3 (NLRP3).

Infatti l'osservazione che il trapianto di midollo osseo da topi ABCA1/G1 knock-out a modelli di aterosclerosi LDLR knock-out portava ad aumentati livelli di IL-1 β e all'attivazione di NLRP3

(repressa, silenziando contemporaneamente il gene *Nlrp3*) (35), è stato tradotto nell'uomo utilizzando i modelli di ipoalfalipoproteinemia genetica, ovvero i portatori della malattia di Tangier. Infatti, cellule mieloidi isolate da questi soggetti (portatori di mutazioni "loss-of-function" sul gene *ABCA1* e caratterizzati da elevata mortalità coronarica) mostravano massicci accumuli di colesterolo intracellulare che coincidevano con elevati livelli circolanti di IL-1 β (49).

Queste osservazioni razionalizzano l'approccio recentemente proposto dallo studio CANTOS (Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study), uno studio randomizzato in doppio cieco che ha studiato l'efficacia di Canakinumab, un anticorpo monoclonale anti-IL-1 β , nella riduzione del rischio di infarto acuto del miocardio, *stroke* non fatale oppure l'evento cardiovascolare fatale, somministrato per quattro anni con iniezione sottocutanea ogni tre mesi a pazienti in prevenzione secondaria per un infarto acuto del miocardio e con livelli di hsCRP superiori a 2 mg/L (55).

Al termine del follow-up, la dose intermedia (150 mg) di Canakinumab garantiva una riduzione circa del quindici per cento (rispetto al placebo) per il rischio di mortalità cardiovascolare, supportando quindi l'efficacia di una terapia anti-infiammatoria, indipendentemente dalla colesterolemia.

Va sottolineato che la riduzione sull'*endpoint* cardiovascolare era specifico, in quanto Canakinumab non dimostrava effetto benefico sulla riduzione della mortalità per tutte le cause e si associava altresì a un significativo, seppur minoritario, aumento di neutropenia, trombocitopenia e infezioni fatali.

Se paragonati ai risultati dello Studio FOURIER, i dati dello studio CANTOS

sono simili per quanto riguarda il rispettivo target di colesterolo e infiammazione. Tuttavia, è la riduzione del rispettivo endpoint studiato che differisce per le risposte ai due farmaci: il trattamento antinfiammatorio ha ridotto la mortalità cardiovascolare ma non quella per tutte le cause, mentre il trattamento ipolipemizzante più aggressivo ha sortito effetti opposti. In aggiunta, successiva a questa prima analisi, una valutazione post-hoc dello studio CANTOS ha inoltre fatto emergere un effetto più ampio da parte di Canakinumab sull'endpoint cardiovascolare e una riduzione concomitante anche della mortalità per tutte le cause soltanto in pazienti con hsCRP basale inferiore a 2 mg/L. Questo dato suggerisce pertanto che la terapia con Canakinumab permetteva una maggiore protezione cardiovascolare in pazienti a target per la "riduzione infiammatoria (55)".

Conclusione

Alla luce di questi dati, all'apice del concetto "*the lower, the better*", nell'ambito della ricerca farmacologica cardiovascolare si riaccende la questione su quale sia il target prioritario, tra ipercolesterolemia e infiammazione, nella prevenzione cardiovascolare. Considerando che in entrambi i trials pocanzi descritti tutti i pazienti randomizzati erano già trattati con le terapie più aggressive, rimane da chiedersi quale beneficio possa aggiungere una terapia antinfiammatoria *on top of* una terapia con statine già alla massima dose rispetto a una ulteriore terapia ipolipemizzante. Questo è il quesito che passa nelle mani dei clinici.

Malgrado IL-1 β rappresenti soltanto una citochina tra la vasta costellazione di tante altre, ulteriori sviluppi ne hanno riaffermato ulteriormente la rilevanza

come "player" e, quindi, come target terapeutico.

È stato infatti dimostrato che nelle fasi acute di un infarto acuto del miocardio si osservano aumenti vertiginosi di IL-1 β in circolo, nel tessuto cardiaco e nel midollo, benché, anche settantadue ore dopo, questi stessi rimangano elevati soltanto nel terzo compartimento. Queste osservazioni ricapitolano gli elevati uptake di ^{18}F -fluorodesossiglucosio splenici in pazienti con sindromi coronariche acute (56). Inoltre, topi wild-type, trapiantati con midollo osseo di donatori deficienti per il gene *IL1R1* (recettore per IL-1 β), mostravano una ridotta proliferazione delle cellule progenitrici del comparto ematopoietico anche dopo giorni seguenti un infarto acuto del miocardio (57), suggerendo che la modulazione del signaling di questa citochina permetta di controllare la leucocitosi in seguito a un evento aterosclerotico. IL-1 β rappresenta, quindi, un valido esempio di "sostanza tossica" descritta dalle ipotesi di Levine e si pone come attore importante nello sviluppo di un fenomeno "a eco" che esacerba l'evoluzione del fenomeno cardiovascolare.

L'osservazione che il sistema dell'infiammasoma sia iper-attivato e che vi sia un'aumentata secrezione di IL-1 β da parte di macrofagi residenti nelle lesioni aterosclerotiche e deficienti del gene *TET2*, codificante per Tet metil-citosina diossigenasi-2 (un essenziale regolatore epigenetico per l'espansione clonale del comparto ematopoietico) sostengono ulteriormente la rilevanza dello studio farmacologico di questo *pathway* (58). Si apre, in questo modo, la prospettiva di nuove possibilità terapeutiche volte a controllare l'iper-attivazione immuno-infiammatoria e abbattere il rischio cardiovascolare residuo, laddove non riescono le consolidate terapie ipolipemizzanti.

RIASSUNTO

Evidenze derivanti dalla ricerca sia sperimentale che clinica suggeriscono che il metabolismo del colesterolo e la risposta immunitaria siano strettamente connessi. Il ruolo esclusivo dei lipidi nell'insorgenza delle malattie cardiovascolari e, in particolare, dell'aterosclerosi è stato ad oggi sostituito dall'emergente concenazione dell'esistenza di un'interazione tra le funzioni metaboliche e l'attivazione delle cellule immunitarie. In questo scenario, lo studio CANTOS ha fornito, per la prima volta, un valido razionale per considerare il targeting dell'infiammazione, in aggiunta al controllo dei lipidi plasmatici, come ulteriore nuovo approccio per limitare il rischio cardiovascolare. Lo scopo della presente review è di fornire un'ampia comprensione dei circuiti molecolari che accoppiano il metabolismo lipidico cellulare alla risposta immunitaria innata e adattativa e la loro rilevanza nell'applicazione clinica. Mentre è pienamente accettato che la disregolazione della risposta immunitaria partecipi all'aterogenesi, sta diventando chiaro che le cellule immunitarie modellano la loro *macchina metabolica* per soddisfare requisiti funzionali. Pertanto, la modulazione della risposta immunitaria è emersa come una nuova opzione terapeutica per le malattie cardiovascolari, in aggiunta al trattamento ipolipemizzante, sebbene maggiori dati clinici per testare l'effetto sinergico delle terapie anti-infiammatorie e cardiovascolari "classiche" siano necessari; d'altra parte, i dati della ricerca di base suggeriscono che il targeting del metabolismo lipidico intracellulare, in particolare quello del colesterolo, potrebbe potenzialmente promettere una nuova gestione terapeutica delle patologie a carattere infiammatorio.

Parole chiave: *Metabolismo del colesterolo, infiammazione, risposta immunitaria, aterosclerosi.*

Bibliografia

1. Ammirati E, Cianflone D, Vecchio V, et al. Effector Memory T cells Are Associated With Atherosclerosis in Humans and Animal Models. *J Am Heart Assoc.* 2012; 1: 27-41.
2. Proto JD, Doran AC, Subramanian M, et al. Hypercholesterolemia induces T cell expansion in humanized immune mice. *J Clin Invest.* 2018; 128: 2370-2375.
3. Torzewski M, Lackner KJ. Initiation and progression of atherosclerosis-enzymatic or oxidative modification of low-density lipoprotein? *Clin Chem Lab Med.* 2006; 44: 1389-1394.
4. Moore KJ, Freeman MW. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26: 1702-1711.
5. Goldstein JL, Brown MS. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu Rev Biochem.* 1977; 46: 897-930.
6. Westerterp M, Murphy AJ, Wang M, et al. Deficiency of ATP-binding cassette transporters A1 and G1 in macrophages increases inflammation and accelerates atherosclerosis in mice. *Circ Res.* 2013; 112: 1456-1465.
7. Joseph SB, Castrillo A, Laffitte BA, et al. Reciprocal regulation of inflammation and lipid metabolism by liver X receptors. *Nat Med.* 2003; 9: 213-219.
8. Sallam T, Jones M, Thomas BJ, et al. Transcriptional regulation of macrophage cholesterol efflux and atherogenesis by a long noncoding RNA. *Nat Med.* 2018; 24: 304-312.
9. Westerterp M, Gautier EL, Ganda A, et al. Cholesterol Accumulation in Dendritic Cells Links the Inflammasome to Acquired Immunity. *Cell Metab* 2017; 25: 1294-1304 e6.
10. Ito A, Hong C, Oka K, et al. Cholesterol Accumulation in CD11c(+) Immune Cells Is a Causal and Targetable Factor in Autoimmune Disease. *Immunity* 2016; 45: 1311-1326.
11. Bonacina F, Coe D, Wang G, et al. Myeloid apolipoprotein E controls dendritic cell antigen presentation and T cell activation. *Nat Commun.* 2018; 9: 3083.
12. Murphy AJ, Akhtari M, Tolani , et al., ApoE regulates hematopoietic stem cell proliferation, monocytois, and monocyte accumulation in atherosclerotic lesions in mice. *J Clin Invest.* 2011; 121: 4138-4149.
13. Wang SH, Yuan SG, Peng DQ, et al. HDL and ApoA-I inhibit antigen presentation-mediated T cell activation by disrupting lipid rafts in antigen presenting cells. *Atherosclerosis.* 2012; 225: 105-114.
14. Dragoljevic D, Kraakman MJ, Nagareddy PR, et al. Defective cholesterol metabolism in haematopoietic stem cells promotes monocyte-driven atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Eur Heart J.* 2018; 39: 2158-2167.
15. Yang W, Bai Y, Xiong Y, et al. Potentiating the antitumour response of CD8(+) T cells by modulating cholesterol metabolism. *Nature.* 2016; 531: 651-655.
16. Masters SL, Simon A, Aksentijevich I, et al.

- Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease (*). *Annu Rev Immunol.* 2009; 27: 621-68.
17. Molnar E, Swamy M, Holzer M, et al. Cholesterol and sphingomyelin drive ligand-independent T-cell antigen receptor nanoclustering. *J Biol Chem.* 2012; 287: 42664-42674.
 18. Swamy M, Beck-Garcia K, Beck-Garcia E, et al. A Cholesterol-Based Allosteric Model of T Cell Receptor Phosphorylation. *Immunity.* 2016; 44: 1091-1101.
 19. Reboldi A, Dang EV, McDonald JG, et al. Inflammation. 25-Hydroxycholesterol suppresses interleukin-1-driven inflammation downstream of type I interferon. *Science.* 2014; 345: 679-684.
 20. Blanc M, Hsieh WY, Robertson KA, et al. The transcription factor STAT-1 couples macrophage synthesis of 25-hydroxycholesterol to the interferon antiviral response. *Immunity.* 2013; 38: 106-118.
 21. York AG, Williams KJ, Argus JP, et al. Limiting Cholesterol Biosynthetic Flux Spontaneously Engages Type I IFN Signaling. *Cell.* 2015; 163: 1716-1729.
 22. Spann NJ, Garmire LX, McDonald JG, et al. Regulated accumulation of desmosterol integrates macrophage lipid metabolism and inflammatory responses. *Cell.* 2012; 151: 138-152.
 23. Kidani Y, Elsaesser H, Hock MB, et al. Sterol regulatory element-binding proteins are essential for the metabolic programming of effector T cells and adaptive immunity. *Nat Immunol.* 2013; 14: 489-499.
 24. den Brok MH, Raaijmakers TK, Collado-Camps E, et al. Lipid Droplets as Immune Modulators in Myeloid Cells. *Trends Immunol.* 2018; 39: 380-392.
 25. Khan IM, Pokharel Y, Dadu RT, et al. Postprandial Monocyte Activation in Individuals With Metabolic Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101: 4195-4204.
 26. Xu L, Dai Perrard X, Perrard JL, et al. Foamy monocytes form early and contribute to nascent atherosclerosis in mice with hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015; 35: 1787-1797.
 27. Bernelot Moens SJ, Neele AE, Kroon J, et al. PCSK9 monoclonal antibodies reverse the pro-inflammatory profile of monocytes in familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J.* 2017; 38: 1584-1593.
 28. Netea MG, Joosten LA, Latz E, et al. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science.* 2016; 352: aaf1098.
 29. van der Valk FM, Bekkering S, Kroon J, et al. Oxidized Phospholipids on Lipoprotein(a) Elicit Arterial Wall Inflammation and an Inflammatory Monocyte Response in Humans. *Circulation.* 2016; 134: 611-624.
 30. Bekkering S, Arts RJW, Novakovic B, et al. Metabolic Induction of Trained Immunity through the Mevalonate Pathway. *Cell.* 2018; 172: 135-146 e9.
 31. Benn CS, Netea MG, Selin LK, et al. A small jab - a big effect: nonspecific immunomodulation by vaccines. *Trends Immunol.* 2013; 34: 431-439.
 32. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell.* 2002; 10: 417-426.
 33. Karasawa T, Takahashi M. Role of NLRP3 Inflammasomes in Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2017; 24: 443-451.
 34. Hendrikx T, Jeurissen ML, van Gorp PJ, et al. Bone marrow-specific caspase-1/11 deficiency inhibits atherosclerosis development in Ldlr(-/-) mice. *FEBS J.* 2015; 282: 2327-2338.
 35. Westerterp M, Fotakis P, Ouimet M, et al. Cholesterol Efflux Pathways Suppress Inflammasome Activation, NETosis and Atherogenesis. *Circulation.* 2018.
 36. Christ A, Gunther P, Lauterbach MAR, et al. Western Diet Triggers NLRP3-Dependent Innate Immune Reprogramming. *Cell.* 2018; 172: 162-175 e14.
 37. Mason JC, Libby P. Cardiovascular disease in patients with chronic inflammation: mechanisms underlying premature cardiovascular events in rheumatologic conditions. *Eur Heart J.* 2015; 36: 482-489c.
 38. Baragetti A, Ramirez GA, Magnoni M, et al. Disease trends over time and CD4(+)CCR5(+) T-cells expansion predict carotid atherosclerosis development in patients with systemic lupus erythematosus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2018; 28: 53-63.
 39. Ammirati E, Bozzolo EP, Contri R, et al. Cardiometabolic and immune factors associated with increased common carotid artery intima-media thickness and cardiovascular disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014; 24: 751-759.
 40. Authors/Task Force M, Catapano AL, Graham I, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias: The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Atherosclerosis.* 2016; 253: 281-344.

41. Micha R, Imamura F, Wyler von Ballmoos M, et al. Systematic review and meta-analysis of methotrexate use and risk of cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 2011; 108: 1362-1370.
42. Skaggs BJ, Hahn BH, McMahon M. Accelerated atherosclerosis in patients with SLE—mechanisms and management. *Nat Rev Rheumatol.* 2012; 8: 214-223.
43. Ramos-Casals M, Sanz I, Bosch X, et al. B-cell-depleting therapy in systemic lupus erythematosus. *Am J Med.* 2012; 125: 327-336.
44. Bernelot Moens SJ, van der Valk FM, Strang AC, et al. Erratum to: Unexpected arterial wall and cellular inflammation in patients with rheumatoid arthritis in remission using biological therapy: a cross-sectional study. *Arthritis Res Ther.* 2016; 18: 298.
45. Toutouzas K, Skoumas J, Koutagiar I, et al. Vascular inflammation and metabolic activity in hematopoietic organs and liver in familial combined hyperlipidemia and heterozygous familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2018; 12: 33-43.
46. van Wijk DF, Sjouke B, Figueroa A, et al. Non-pharmacological lipoprotein apheresis reduces arterial inflammation in familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 64: 1418-1426.
47. Verweij SL, Duivenvoorden R, Stiekema LCA, et al. CCR2 expression on circulating monocytes is associated with arterial wall inflammation assessed by 18F-FDG PET/CT in patients at risk for cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2018; 114: 468-475.
48. Silverman MG, Ference BA, Im K, et al. Association Between Lowering LDL-C and Cardiovascular Risk Reduction Among Different Therapeutic Interventions: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA.* 2016; 316: 1289-1297.
49. Nissen SE, Nicholls SJ, Sipahi I, et al. Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial. *JAMA.* 2006; 295: 1556-1565.
50. Sabatine MS, Giugliano RP, Pedersen TR. Evolocumab in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017; 377: 787-788.
51. Pradhan AD, Aday LM, Rose, et al. Residual Inflammatory Risk on Treatment With PCSK9 Inhibition and Statin Therapy. *Circulation.* 2018; 138: 141-149.
52. Viney NJ, van Capelleveen JC, Geary RS, 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.
53. Mann DL, McMurray JJ, Packer M, et al. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation.* 2004; 109: 1594-1602.
54. Chung ES, Packer KH, Lo, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor- α , in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation.* 2003; 107: 3133-3140.
55. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Anti-inflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med.* 2017; 377: 1119-1131.
56. Emami H, Singh P, MacNabb M, et al. Splenic metabolic activity predicts risk of future cardiovascular events: demonstration of a cardiosplenic axis in humans. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2015; 8: 121-130.
57. Sager HB, Heidt T, Hulsmans M, et al. Targeting Interleukin-1 β Reduces Leukocyte Production After Acute Myocardial Infarction. *Circulation.* 2015; 132: 1880-1890.
58. Fuster JJ, MacLauchlan S, Zuriaga MA, et al. Clonal hematopoiesis associated with TET2 deficiency accelerates atherosclerosis development in mice. *Science.* 2017; 355: 842-847.

MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ

FARMACI BIOTECNOLOGICI PER LE MALATTIE CARDIOVASCOLARI

Biotechnological drugs for cardiovascular diseases

MAURO GIACCA*International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Trieste Italy and Department of Medical Sciences, University of Trieste*

Nonostante i progressi compiuti negli ultimi 20 anni nella diagnosi e prevenzione delle malattie cardiovascolari e nello sviluppo di strumentazione in grado di sostenere e ottimizzare la funzione cardiaca, continua a esistere un bisogno impellente di sviluppare nuovi farmaci per queste condizioni. Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, le patologie cardiovascolari continuano a costituire la prima causa di morte a livello internazionale, includendo quindi i Paesi in via di sviluppo (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/en/>). In contrasto ai progressi importanti compiuti nel campo del controllo delle dislipidemie e della pressione arteriosa, virtualmente nessun farmaco fondamentale è stato sviluppato negli ultimi vent'anni per lo scompenso cardiaco, dopo l'introduzione degli inibitori dell'ACE e dei beta bloccanti negli anni '70 e degli inibitori del recettore dell'angiotensina II a metà degli anni '90, non considerando rivoluzionaria la combinazione tra questi e gli

inibitori della neprilisin, né l'introduzione dell'ivabradina negli ultimi anni. Altrettanto sorprendente è la considerazione che nessuna terapia farmacologica è in grado di fare regredire il processo di arteriosclerosi, che di fatto sottende la maggior parte della patologia cardiovascolare. Infine, va anche rimarcato che oggi più della metà delle diagnosi di scompenso cardiaco nei pazienti con più di 60 anni è sostenuta da un difetto diastolico con frazione di eiezione conservata (HFpEF), una condizione la cui prevalenza sta crescendo con proporzioni epidemiche, con un tasso di mortalità dal 30 al 60% entro 5 anni dalla diagnosi, e per la quale non esiste alcuna terapia mirata ed efficace (1). Dal punto di vista dello sviluppo farmacologico, la situazione della terapia dello scompenso cardiaco è talmente frustrante che qualche anno fa l'allora presidente della Heart Failure Society of America, Milton Packer, intitolava un suo editoriale: "The impossible task of developing a new treatment for heart failure" (2).

È in questo scenario che si inserisce oggi la promessa di sviluppo di nuove strategie terapeutiche grazie alle biotecnologie. Di fatto, queste offrono la possibi-

Indirizzo per la corrispondenza

Mauro Giacca
E-mail: giacca@icgeb.org

lità di affrontare il problema delle malattie cardiovascolari mediante lo sviluppo di farmaci biologici, intendendo con questo termine proteine (ad esempio, fattori di crescita o anticorpi monoclonali), acidi nucleici e cellule di varia derivazione. Il numero di farmaci biotecnologici è aumentato in maniera esponenziale nelle ultime tre decadi. Soltanto negli Stati Uniti, la Food and Drug Administration ha approvato oltre 30 anticorpi monoclonali, oltre 25 enzimi o modulatori di enzimi e oltre 30 modulatori della funzione di diversi recettori (3). Se si considerano anche vaccini e peptidi, sono più di 350 i farmaci biotecnologici che hanno già ricevuto approvazione, mentre altri 400 sono in diverse fasi di sperimentazione clinica. Se si escludono gli anticorpi monoclonali contro PCSK9 per il trattamento delle dislipidemie (4), la possibilità di utilizzare questa categoria di farmaci per il trattamento della funzione cardiaca e di quella dei vasi è largamente sottoesplorata. Fattori di crescita e anticorpi monoclonali rappresentano potenziali nuovi farmaci per modulare la contrattilità cardiaca, inibire la perdita irreversibile dei cardiomiociti e migliorare la funzione endoteliale. Dati sperimentali sugli animali ormai hanno delineato gran parte dei meccanismi molecolari che sottendono alla funzione del miocardio e dei vasi sanguigni e possono quindi rappresentare la base per lo sviluppo di questi farmaci. Vista la prevalenza delle patologie cardiovascolari nella popolazione generale, le implicazioni economiche sarebbero peraltro estremamente rilevanti. Attualmente, tra i 10 farmaci più redditizi soltanto 3 sono piccole molecole mentre ben 7 sono farmaci biologici (4 anticorpi monoclonali e 3 proteine ricombinanti; <http://www.epvantage.com/default.aspx>). Il farmaco più profittevole risulta essere adalimumab, un anticorpo monoclonale contro il

fattore TNF, utilizzato per diverse condizioni infiammatorie e reumatologiche, che da solo ha un mercato di oltre 10 miliardi di dollari (5).

Le applicazioni terapeutiche basate su acidi nucleici estenderanno ulteriormente l'impatto delle biotecnologie sulle malattie cardiovascolari. Questi non sono più necessariamente rappresentati da DNA che codificano per proteine, come nei primi approcci della terapia genica, ma si estendono ora a una serie di piccole molecole basate su DNA o RNA, tra cui oligonucleotidi, piccoli RNA con funzione regolatoria (siRNA e microRNA - miRNA) e aptameri, i quali possono essere ottenuti per via sintetica. In particolare, la possibilità di modulare l'espressione genica a livello trascrizionale o post-trascrizionale utilizzando queste molecole offre una possibilità molto ampia di intervento virtualmente in tutte le malattie degenerative in cui sia noto il meccanismo molecolare di azione. Ad oggi, almeno 5 applicazioni basate su oligonucleotidi antisenso (ASO) sono state già approvate negli Stati Uniti e oltre 100 sono attualmente in diverse fasi della sperimentazione clinica (6). Una delle approvazioni recenti è per il mipomersen, un oligonucleotide antisenso con tecnica gapmer, modificato chimicamente, in grado di bloccare l'espressione di apoB, indicato nel trattamento della forma omozigote dell'ipercolesterolemia familiare mediante somministrazione sottocutanea.

Dal 2012 ad oggi si è anche assistito a una risurrezione delle sperimentazioni basate sui meccanismi di interferenza a RNA, con almeno 9 farmaci basati su piccoli RNA che hanno raggiunto le fasi II e III della sperimentazione clinica, con applicazioni nel campo dei tumori, delle patologie oculari e del danno acuto renale (7). Inoltre, diverse aziende stanno attualmente investendo nell'utilizzo diretto di

analoghi di microRNA (molecole sintetiche di 21-23 nucleotidi a doppio filamento analoghe a quelle sintetizzate dal genoma umano) o di loro inibitori (oligonucleotidi a RNA più corti, chimicamente modificati per aumentarne la stabilità). In particolare, la modulazione del network dei microRNA appare di particolare interesse nel campo cardiovascolare, dal momento che molti di questi sono coinvolti in virtualmente tutti i processi che interessano il cuore e i vasi sanguigni, dallo sviluppo embrionale all'aterosclerosi fino allo scompenso cardiaco (8).

Un ulteriore campo di sviluppo delle biotecnologie nel settore cardiovascolare è rappresentato dalla terapia cellulare. Nell'ultimo decennio, le terapie cellulari basate sull'utilizzo delle cellule staminali hanno ricevuto molta enfasi. Cellule con la capacità di bilanciare la propria replicazione con quella di differenziarsi verso uno o più tipi cellulari specifici - soddisfacendo quindi la definizione di "cellule staminali" - sono state descritte in diversi organi di individui adulti e nell'embrione. La ricerca, per ora, è stata tuttavia largamente insoddisfacente in termini applicativi. Per quanto riguarda le cellule staminali dell'adulto, sembra ormai consolidato che gli unici tipi di cellule staminali realmente utilizzabili a fini terapeutici siano le cellule staminali ematopoietiche (per il trapianto di midollo) e le cellule staminali epiteliali (per la ricostruzione dell'epidermide nelle grandi ustioni e il trapianto di cornea). Nonostante l'ampia e fallace promessa di miracolose applicazioni di altri tipi di presunte cellule staminali da parte di cliniche private, soprattutto al di fuori dell'Unione Europea e degli Stati Uniti, non esiste in questo momento nessun'altra applicazione medica comprovata in cui alcun tipo cellulare possa portare alla effettiva rigenerazione tissutale.

In confronto alle cellule "staminali" dell'adulto, quelle derivate dall'embrione nelle prime fasi di sviluppo (in particolare, la blastocisti) offrono prospettive operative più reali. Oltre all'utilizzo delle comuni tecniche di fecondazione in vitro, embrioni possono essere ottenuti anche grazie alla clonazione somatica (la tecnica di trasferimento nucleare originariamente utilizzata per generare la pecora Dolly), mentre cellule staminali embrionali possono essere direttamente generate mediante il trasferimento di soli 4 geni in una qualsiasi delle cellule adulte di un organismo, una scoperta che ha valso il Premio Nobel per la Medicina a Shinya Yamanaka nel 2012. Queste cellule staminali possono essere espanse in laboratorio indefinitamente e poi stimolate a differenziare in virtualmente qualsiasi tipo cellulare, inclusi quelli di interesse cardiovascolare, ovvero cardiomiociti e cellule endoteliali. L'iniezione di queste cellule differenziate è in grado di rigenerare porzioni di cuore e vasi sanguigni, ma è ancora largamente allo stadio sperimentale nella scimmia, dove ha mostrato di non essere scevra di importanti effetti secondari, in particolare la generazione di aritmie potenzialmente letali (9).

Una possibile alternativa all'uso di cellule staminali per ottenere la rigenerazione cardiaca è quello di stimolare la produzione di nuovo tessuto miocardico direttamente in vivo, risvegliando la capacità endogena del cuore e dei vasi di riformarsi. Questo processo è sicuramente attivo nella vita embrionale e fetale ma, per ragioni che ancora sfuggono alla nostra comprensione, si spegne alla nascita. Recenti scoperte hanno tuttavia identificato i meccanismi molecolari alla base dell'incapacità delle cellule contrattili cardiache di proliferare e hanno anche portato all'identificazione di una serie di molecole in grado di promuovere la proliferazione dei

cardiomiociti dopo un infarto. In particolare, la rigenerazione cardiaca può essere stimolata dall'inoculazione, nella sede peri-infartuale, di microRNA in grado di risvegliare la capacità dei cardiomiociti di rientrare nel ciclo cellulare (10). Questi microRNA, sotto forma di piccole molecole sintetiche, possono essere utilizzati direttamente come farmaci a scopo rigenerativo, analogamente a quanto già dimostrato nel topo e nel maiale.

In conclusione, appare oggi evidente come nuovi e potenti farmaci biologici basati su fattori di crescita, anticorpi monoclonali, piccoli acidi nucleici regolatori e cellule di diversa derivazione possano offrire strumenti innovativi anche nel campo della terapia delle malattie cardiovascolari, dove la ricerca di piccole molecole si è largamente arenata. Lo sviluppo di questi farmaci innovativi, tuttavia, richiede che virtualmente tutti i parametri della farmacologia classica in termini di dinamica, cinetica ed effetti collaterali siano completamente ridisegnati prima in modelli animali e poi nelle prime fasi della sperimentazione clinica.

Bibliografia

1. Lourenco AP, Leite-Moreira AF, Balligand JL, Bauersachs J, Dawson D, de Boer RA, de Windt LJ, Falcao-Pires I, Fontes-Carvalho R, Franz S, Giacca M, Hilfiker-Kleiner D, Hirsch E, Maack C, Mayr M, Pieske B, Thum T, Tocchetti CG, Brutsaert DL, Heymans S. An integrative translational approach to study heart failure with preserved ejection fraction: a position paper from the Working Group on Myocardial Function of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail.* 2018; 20: 216-227.
2. Packer M. The impossible task of developing a new treatment for heart failure. *J Card Fail.* 2002; 8: 193-196.
3. Kinch MS. An overview of FDA-approved biologics medicines. *Drug Discov Today.* 2015; 20: 393-398.
4. Rosenson RS, Hegele RA, Fazio S, Cannon CP. The Evolving Future of PCSK9 Inhibitors. *J Am Coll Cardiol.* 2018; 72: 314-329.
5. Ecker DM, Jones SD, Levine HL. The therapeutic monoclonal antibody market. *MAbs.* 2015; 7: 9-14.
6. Stein CA, Castanotto D. FDA-Approved Oligonucleotide Therapies in 2017. *Mol Ther.* 2017; 25: 1069-1075.
7. Titze-de-Almeida R, David C, Titze-de-Almeida SS. The Race of 10 Synthetic RNAi-Based Drugs to the Pharmaceutical Market. *Pharm Res.* 2017; 34: 1339-1363.
8. van Rooij E, Olson EN. MicroRNA therapeutics for cardiovascular disease: opportunities and obstacles. *Nat Rev Drug Discov.* 2012; 11: 860-872.
9. Liu YW, Chen B, Yang X, Fugate JA, Kalucki FA, Futakuchi-Tsuchida A, Couture L, Vogel KW, Astley CA, Baldessari A, Ogle J, Don CW, Steinberg ZL, Seslar SP, Tuck SA, Tsuchida H, Naumova AV, Dupras SK, Lyu MS, Lee J, Hailey DW, Reinecke H, Pabon L, Fryer BH, MacLellan WR, Thies RS, Murry CE. Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes restore function in infarcted hearts of non-human primates. *Nat Biotechnol.* 2018; 36: 597-605.
10. Eulalio A, Mano M, Dal Ferro M, Zentilin L, Sinagra G, Zacchigna S, Giacca M. Functional screening identifies miRNAs inducing cardiac regeneration. *Nature.* 2012; 492: 376-381.

Cari Colleghi, cari Soci,

Il **32° Congresso Nazionale** della Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi (S.I.S.A.), **che si svolgerà dal 25 al 27 novembre a Bologna**, ha scelto ancora una volta di approfondire alcuni temi specifici che sono oggi di attualità nell'ambito delle patologie cardiovascolari.

Saranno magari temi non nuovi, ma importanti per la predizione e la terapia del rischio cardiovascolare.

Verranno discussi alcuni aspetti dietetici e nutraceutici della prevenzione cardiovascolare con particolare riguardo ad implicazioni innovative sia per gli operatori sanitari che per i decisori pubblici, in modo da indirizzare verso scelte appropriate con la conoscenza dei risultati che i diversi tipi di intervento permettono di ottenere nella pratica clinica quotidiana.

La terapia dell'ipercolesterolemia e delle ipertrigliceridemie è in costante evoluzione e richiede la consapevolezza dei medici circa la eziopatogenesi e diagnosi di tali patologie. Per tale motivo alcuni spazi del Congresso saranno dedicati ai meccanismi fisiopatologici che sono alla base di queste dislipidemie. Il Congresso sarà l'occasione per un aggiornamento sulle terapie innovative in ambito cardiovascolare e sui nuovi target farmacologici resi possibili dalla evoluzione della genetica.

Come ormai consuetudine per questa Società si farà il punto sui più recenti risultati di importanti studi condotti con farmaci innovativi per la terapia delle dislipidemie ad impatto aterogeno e per quelle dislipidemie che ancora non dispongono di terapie farmacologiche consolidate.

Fiducioso che il Congresso si confermerà anche quest'anno un appuntamento di grande rilevanza scientifica, mi auguro di incontrarvi numerosi a Bologna!

Prof. Enzo Manzato
Presidente S.I.S.A.



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

SEGRETERIA S.I.S.A.
SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELL'ATEROSCLEROSI
V.le Maresciallo Pilsudski, 118
00197 Roma
Tel. 06 845431 • Fax 06 84543700
E-mail info@sisa.it • Web www.sisa.it

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA
aristea
V.le Maresciallo Pilsudski, 118
00197 Roma
Tel 06 845431 • Fax 06 84543700
E-mail roma@aristea.com
Web www.aristea.com

 www.sisa.it

 **SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELL'ATEROSCLEROSI**

SEDE CONGRESSUALE
Royal Hotel Carlton
Via Montebello, 8 - 40121 Bologna
Tel. 051 249361



32°

CONGRESSO

NAZIONALE

S.I.S.A.

BOLOGNA 25/27.11.2018

SEDE CONGRESSUALE

Royal Hotel Carlton

Via Montebello, 8 • 40121 Bologna
Tel. 051 249361

SEGRETARIA S.I.S.A.



SOCIETÀ ITALIANA
PER LO STUDIO
DELL'ATEROSCLEROSI

V.le Maresciallo Pilsudski, 118
00197 Roma

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

SEGRETARIA ORGANIZZATIVA



aristeia

V.le Maresciallo Pilsudski, 118
00197 Roma

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



www.sisa.it



SOCIETÀ ITALIANA
PER LO STUDIO
DELL'ATEROSCLEROSI

BORSA DI STUDIO "Andrea Mezzetti" 2018

Pubblicato sul sito della Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi il Bando per l'assegnazione delle Borsa di Studio "Andrea Mezzetti" 2018.

La domanda di partecipazione alla Borsa
deve essere presentata entro il giorno 5 novembre 2018
attraverso il portale dedicato disponibile all'indirizzo web:
www.sisa.it/BorsaMezzetti2018



The screenshot shows the homepage of the Società Italiana per lo Studio della Aterosclerosi (SISA). The header features the SISA logo (a red stylized 'A' inside a circle) and a banner image of a human heart and arteries. A search bar is located in the top right corner with the text 'Cerca nel sito' and a 'CERCA' button. Below the header, a navigation menu includes links for 'HOMEPAGE', 'LA SOCIETÀ', 'SEZIONI REGIONALI', 'RICERCA E PREMI', 'ISCRIZIONE', 'FONDAZIONE SISA', and 'CONTATTACI'. The main content area is titled 'Borsa di Studio Andrea Mezzetti - 2018'. It features a portrait of a man (likely Andrea Mezzetti) and text explaining the scholarship: 'La Fondazione SISA istituisce una borsa di studio del valore di 25.000€, riservate a Soci che non abbiano ancora compiuto i 40 anni di età.' and 'Il Consiglio Direttivo di SISA e quello di Fondazione SISA vogliono in questo modo ricordare il nostro compianto Presidente che tanto aveva a cuore la crescita culturale dei giovani Soci SISA.' Below this text are links for 'Bando Borsa di Studio "Andrea Mezzetti" 2018' and 'Linee guida per la compilazione'. To the right of the main content is a 'Login' section with fields for 'Email' and 'Password', a 'LOGIN' button, and a 'Create new account' link. The footer of the website states: 'Fondazione SISA Per la Promozione della Ricerca sulle Malattie da Arteriosclerosi, Via G. Balzaretti, 7 - 20133 - Milano'.

Il Consiglio Direttivo di SISA e quello di Fondazione SISA vogliono in questo modo ricordare il nostro compianto Presidente che tanto aveva a cuore la crescita culturale dei giovani Soci SISA.

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

