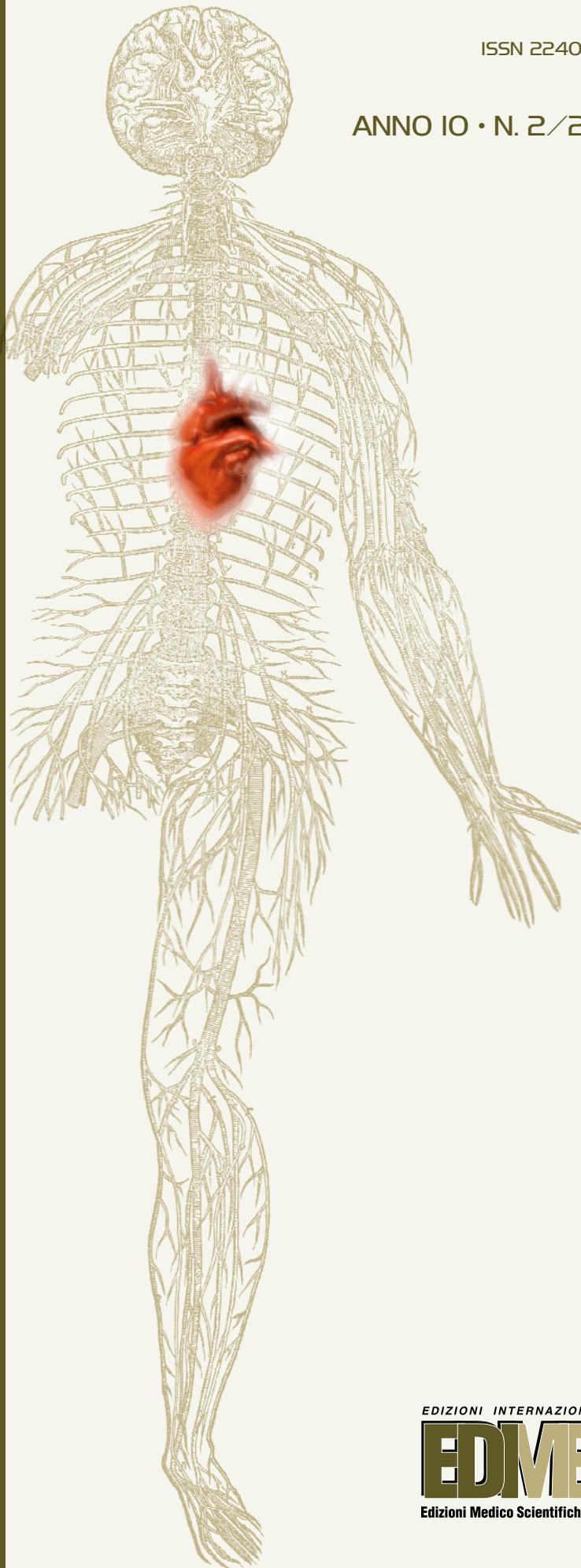


GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI

ISSN 2240-4821

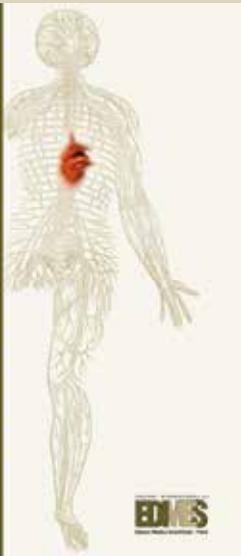
ANNO 10 • N. 2/2019



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

A. Baragetti (Milano)
C.M. Barbagallo (Palermo)
A. Belfiore (Bari)
F. Bonacina (Milano)
M. Casula (Milano)
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 Balzaretto, 7 - 20133 Milano
E-mail: giornalearteriosclerosi@sisa.it

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

SOMMARIO

■ **LAVORO ORIGINALE**

Marcatori predittivi e prognostici in una coorte di donne mediterranea: revisione di risultati dal progetto Atena 5
Predictive and prognostic markers in a cohort of Mediterranean women: review from the Athena project
Marco Gentile, Marina Silvia Scamardo, Gabriella Iannuzzo, Camilla Panico, Gaetano D'onofrio, Arcangelo Iannuzzi, Maria Triassi, Paolo Rubba, Salvatore Panico, Fabiana Rubba

■ **FOCUS SUL METABOLISMO**

Apo C-III: Tappa limitante della cascata lipolitica e bersaglio terapeutico nelle ipertrigliceridemie gravi II
Apo C-III: limiting stage of the lipolytic cascade and therapeutic target in severe hypertriglyceridemias
Laura D'erasmo, Sebastiano Calandra

■ **FATTORI DI PROTEZIONE**

Livelli molto bassi di LDL e rischio cardiovascolare: dalle evidenze genetiche a quelle dei trial clinici 33
Very low levels of LDL and cardiovascular risk: from genetic to clinical trial evidence
Patrizia Tarugi, Davide Noto

■ **FATTORI DI RISCHIO**

L'ipercolesterolemia severa: epidemiologia, genetica e gestione clinica 48
Severe hypercholesterolemia: epidemiology, genetics and clinical management
Maurizio Averna

■ **MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ**

Basaglia raccontato a teatro. La vera storia di un'impensabile liberazione 63
Basaglia told in the theater. The true story of an unthinkable liberation
Peppe Dell'Acqua

■ **NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI**

ACC 2019 67

EDIZIONI INTERNAZIONALI srl



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)
Maria Del Ben (Lazio)
Alberico L. Catapano (Lombardia)
Luigi Gentile (Piemonte-Liguria-Valle d'Aosta)
Antonio Baule (Sardegna)
Tiziana Montalcini (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, Hubbart CS et al. Genetic causes of familial hypercholesterolemia in patients in the UK: a relation to plasma lipid levels and coronary heart disease risk. *J Med Genet* 43: 943-949, 2006

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

Rassegne

Il frontespizio dovrà contenere:

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

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

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

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

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

Glossario: È uno strumento di comunicazione fortemente raccomandato.

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

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

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

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

Casi clinici

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

Forum su Medicina, Scienza e Società

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

NOTE PER GLI AUTORI

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

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

PRESENTAZIONE DEL NUMERO

■ Lavoro originale

Marcatori predittivi di aterosclerosi carotidea nel Progetto Atena

Questa revisione sistematica e meta-analisi degli studi pubblicati nel Progetto Atena, realizzato nelle donne di 30-69 anni della zona di Napoli, ha lo scopo di stimare il potenziale prognostico dei biomarcatori nell'aterosclerosi carotidea.

■ Focus sul Metabolismo

Apo-C III bersaglio terapeutico delle ipertrigliceridemie gravi

In questa rassegna viene discusso il ruolo di apoC-III nel metabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TRL) e come possibile target terapeutico per la cura sia dell'ipertrigliceridemia grave che del rischio cardiovascolare associato a livelli elevati di trigliceridi.

■ Fattori di protezione

Livelli molto bassi di LDL e rischio cardiovascolare: dalle evidenze genetiche a quelle dei trial clinici

Gli anti-PCSK9 hanno confermato che la riduzione di LDL-C a livelli estremamente bassi continua ad abbassare il rischio cardiovascolare. Sui rischi clinici dell'ipocolesterolemia esiste un modello genetico di deficit di PCSK9 che mima esattamente l'effetto terapeutico degli anticorpi anti-PCSK9. Questa rassegna esamina l'efficacia degli anti-PCSK9 sulla riduzione del rischio e i loro effetti a lungo termine descrivendo i modelli delle sindromi genetiche a basso colesterolo.

■ Fattori di rischio

Gestione clinica delle ipercolesterolemie gravi

La rassegna esamina le tipologie dei pazienti con ipercolesterolemia severa, FH e non-FH. L'identificazione con i criteri del Dutch Lipid Clinic Network dell'ipercolesterolemia familiare (FH) non risolve il problema dell'ipercolesterolemia severa. I soggetti con livelli di LDL-C >190 mg/dl possono essere considerati ugualmente a rischio molto alto e meritano la stessa attenzione clinica. Le nuove strategie di sequenziamento genico hanno fatto luce sulla complessa architettura genetica dell'ipercolesterolemia severa, permettendoci di scoprire nuove forme oltre la monogenica (poligenica, oligogenica) e, in un futuro prossimo, di spiegare quella parte di ipercolesterolemie gravi ancora negative all'analisi genetica.

■ Medicina, Scienza e Società

Basaglia raccontato a teatro

Ai confini del mondo, nel cuore della guerra fredda, Franco Basaglia entra come direttore del manicomio di Gorizia, è il 16 novembre 1961. Lo scenario che si presenta ai suoi occhi è un mondo di sofferenza, violenza e annientamento. È qui che prende avvio il lento e progressivo smontaggio dell'istituzione manicomiale. L'ostilità dell'amministrazione provinciale finirà per rinchiudere tristemente i cancelli. La sua visionaria avventura ricomincia poco dopo a Trieste e con Marco Cavallo abatterà il muro del manicomio. Il crollo del primo muro apre un varco e indica il cammino che porterà alla legge 180.

LAVORO ORIGINALE

MARCATORI PREDITTIVI E PROGNOSTICI IN UNA COORTE DI DONNE MEDITERRANEA: REVISIONE DI RISULTATI DAL PROGETTO ATENA

Predictive and prognostic markers in a cohort of Mediterranean women: review from the Atena project

**MARCO GENTILE¹, MARINA SILVIA SCAMARDO², GABRIELLA IANNUZZO¹,
CAMILLA PANICO¹, GAETANO D'ONOFRIO³, ARCANGELO IANNUZZI⁴,
MARIA TRIASSI², PAOLO RUBBA¹, SALVATORE PANICO¹, FABIANA RUBBA²**

¹Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Università di Napoli "Federico II";

²Dipartimento Sanità Pubblica, AOU Federico II;

³Direzione Sanitaria AOU Federico II;

⁴UO Medicina Interna, AORN "A. Cardarelli" di Napoli

SUMMARY

The Progetto Atena was carried out on 5,062 women aged 30 to 69 years living in the area of Naples. The purpose of this study is to investigate the causes of those chronic diseases that have a major impact on the female population.

This systematic review and meta-analysis were carried out using published studies to estimate the prognostic or predictive potential of biomarkers, evaluated in studies nested into the Atena cohort. Studies were searched using PubMed, Cochrane library and Google scholar databases. Studies were selected for this review if it conducted in the Atena project Cohort and reported the study of biomarker. The study was assessed by two independent researcher against the following inclusion criteria:

- 1) Community based study done in the community or population;
- 2) Studies that reported biomarkers.

The extracted data were entered and analyzed using REVMAN software. The search strategy retrieved 15 potential articles and 6 studies were found eligible and included in the analysis of pooled estimates. In the analysis plasma lipids, creatinine, glucose, Lp (a), and intima media thickness (IMT), a marker of atherosclerosis, were evaluated. The pooled estimates were shown into Forrest plots. The pooled estimates verified the prognostic potential of biomarkers as predictors of IMT. Results are consistent with the multifactor profile of the CV risk and identify the prognostic value of IMT assessment and its impact in secondary prevention according to biochemical profiles.

Key word: *Women, progetto Atena, biomarkers, cardiovascular disease.*

Introduzione

Il Progetto Atena è uno studio di coorte condotto su 5.062 donne di età compresa tra i 30 e i 69 anni, tutte viventi nell'area metropolitana di Napoli e reclutate nel periodo compreso fra il 1992 ed il 1996. Lo scopo principale dello studio di coorte è stato investigare le patologie croniche con maggiore impatto sulla salute della donna (tumori e patologie cardiovascolari). Sono state escluse alla visita iniziale le donne già portatrici delle patologie croniche oggetto della ricerca (1-3).

Come parte dello studio principale è stato effettuato, a circa dieci anni dalla visita basale, un richiamo per un sottogruppo di 228 donne già sottoposte alla visita di randomizzazione. Su queste partecipanti sono state effettuate anche delle valutazioni su numerosi marcatori biochimici in ambito cardiovascolare.

Negli anni successivi quindi diversi studi sono stati annidati nella coorte con un disegno di tipo caso controllo che hanno valutato il potere predittivo di diversi marcatori biochimici e talvolta anche il loro valore prognostico, soprattutto in relazione alla valutazione dell'ispessimento medio-intimale carotideo (IMT) o alle placche valutate con metodica ultrasonografica, come indicatori di aterosclerosi. In letteratura sono riportati diversi modelli prognostici, ma pochi sono sufficientemente validati e ancora meno trovano un loro spazio nella pratica clinica e negli algoritmi decisionali. Migliorare la conoscenza dei processi di malattia e pianificare meglio il confronto di trattamenti e l'informazione del paziente include una più compiuta conoscenza dei biomarcato-

ri misurabili e del loro valore predittivo. Lo scopo di questa review è valutare il possibile potere predittivo e prognostico di alcuni marcatori utilizzati in ambito di ricerca e quindi il loro potenziale impatto nei percorsi assistenziali, nel contesto delle donne italiane.

Metodi

La review è stata condotta secondo uno schema validato in letteratura e strutturato in 5 fasi (4, 5): (1) formulazione della domanda della ricerca, (2) identificazione degli studi rilevanti, (3) selezione degli studi, (4) organizzazione dei dati, (5) sintesi dei risultati. La domanda a cui ci si propone di rispondere è stata identificata di seguito: "quali sono i marcatori biochimici predittivi o prognostici identificati negli studi condotti sulla Coorte di donne Mediterranee di Atena?". Il processo di revisione degli studi è stato effettuato, secondo il PRISMA Statement, in 4 fasi, come descritto in *figura 1*: identificazione, screening, eleggibilità ed inclusione. Come fonte per la ricerca delle evidenze sono stati utilizzati i database di MEDLINE ed EMBASE e la ricerca è stata effettuata utilizzando le keywords "Atena, Mediterranean woman, biomarkers". Gli studi sono stati limitati alla lingua inglese e a quelli condotti sugli umani. Lo screening dei titoli e degli abstract di tutti gli articoli inclusi nella review è stato condotto da due degli autori indipendentemente.

Sono stati adottati i seguenti criteri di esclusione: testo dell'articolo scritto in lingua diversa dall'italiano, inglese o francese, studio non originale, studio condotto al di fuori della coorte di Atena. Nessuna restrizione relativamente al disegno di studio adottato nei differenti articoli scientifici è stata applicata, i cri-

Indirizzo per la corrispondenza

Fabiana Rubba

E-mail: fabiana.rubba@unina.it

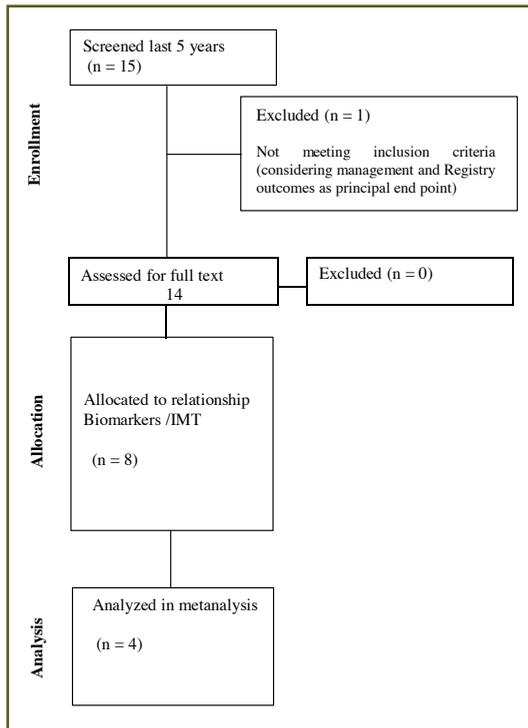


Figura 1 - CONSORT diagram showing the analysis of Studies through each stage.

teri di inclusione minimali hanno previsto l'originalità dell'articolo. Sono state infine estratte le informazioni relative a: disegno dello studio, le unità di analisi in studio, il tipo di attività e i biomarcatori in studio, quali variabili predittive e le di-

pendenti studiate in relazione agli stessi. I dati estratti sono stati inseriti nel software Revman 5. Gli articoli inclusi sono stati descritti in tabella utilizzando un Forrest plot per le stime di confronto cumulative. Benché sia attesa una eterogeneità lieve, trattandosi di studi condotti sulla stessa coorte, è stato ugualmente effettuata una verifica attraverso il Random Fixed model e il Cochrane Q test. Le stime cumulative sono presentate con intervalli di confidenza al 95%. I biomarcatori quando predittori di una stessa variabile sono stati assunti quali "predittori" omogenei ai fini della valutazione di una stima cumulativa nella metanalisi.

Risultati

Dei 15 (1, 2; 6-16) studi inizialmente individuati tramite la ricerca solo 14 sono stati inclusi nella presente review, 6 sono stati eleggibili alla ricerca di stime cumulative (Figura 2) e uno è stato escluso in quanto non condotto nell'ambito del Progetto Atena (9).

Tra gli articoli inclusi nella analisi i biomarcatori scelti sono stati le alterazioni lipidiche, il glucosio plasmatico, la creatinina, la Lipoproteina (a), Lp(a), quali prognostici in quanto correlati ad una au-

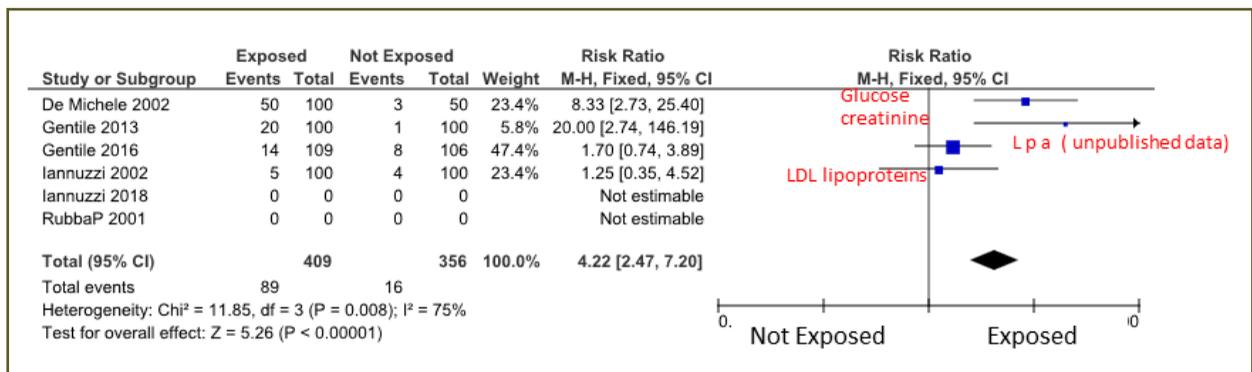


Figura 2 - Prognostic Biomarkers - Outcome IMT.

mentata IMT. Per il contrasto basato su variabili discrete sono stati eletti 5 sui 6 studi che valutavano il rapporto biomarcatori/IMT (1, 10, 13, 16).

Nel contrasto che metteva in relazione gli studi che trattavano marcatori biochimici quali predittori di IMT, (*Figura 1*) sono stati presi in considerazione gli aumentati livelli di glicemia, creatinina e delle lipoproteine LDL piccole e dense e la Lp(a) al di sopra della mediana quali indici di “esposizione” biochimica e valutato l’OR per l’aumentato IMT. Per quanto attiene la Lp(a) i dati del contrasto immessi nella metanalisi non sono pubblicati, ma ricavati dal database utilizzato nel modello di elaborazione multivariato presente nell’articolo. L’OR cumulativo è risultato significativo (IC: 2,47-7,20).

Tutti e quattro studi sono a favore dei non esposti, la significatività cumulativa è più forte di quella dei singoli studi. Lo studio con maggiore impatto e con la stima puntuale più forte è risultato quello relativo alla Lp(a).

Discussione

Presi complessivamente gli studi sui biomarcatori condotti nel progetto Athena, rivelano un potenziale sia predittivo, che prognostico di diversi “marcatori biochimici”. Il valore degli studi effettuati valutando anche l’ispessimento medio-intimale carotideo permette di riconoscere ai biomarcatori studiati un valore prognostico, con una modificazione della probabilità post test nella valutazione del rischio. Questo ne fa dei candidati ad essere inseriti nella valutazione “core” dei Percorsi Diagnostici e Terapeutici (PDTA), particolarmente per quelli specifici sulla salute della donna. Il PDTA è uno stru-

mento di governo dei processi produttivi ospedalieri dal punto di vista clinico, organizzativo e di costo pensato per migliorare la gestione del paziente. In altri termini, esso è l’iter assistenziale che un paziente segue (o dovrebbe seguire) per risolvere un problema di salute. La scelta di definire un PDTA riveste una tappa importante in termini epidemiologici, economici e di impatto sulla qualità della vita dei pazienti trattati. Dal punto di vista dei cittadini e dei pazienti uno dei principali problemi nel campo dei marcatori è la comunicazione delle informazioni. La ricerca di base in questo settore è particolarmente intensa e porta frequentemente a risultati promettenti, ma il percorso di validazione e di collaudo è purtroppo molto lungo e laborioso: pochissime molecole poi sono di fatto utilizzate nella pratica clinica. I marcatori possono essere utilizzati come test di diagnosi per eventualmente prendere decisioni cliniche solo se rispondono a tre requisiti particolari:

- a) devono essere misurabili con metodi standardizzati che garantiscano risultati affidabili e riproducibili;
- b) devono essere sottoposti a programmi di controllo di qualità che ne valutino l’affidabilità nel tempo;
- c) devono essere espressamente associati a un determinato processo biologico e al comportamento clinico che ne deriva; devono essere utili per gli snodi decisionali successivi.

I marcatori biochimici associati alla valutazione della IMT corrispondono a questi requisiti. Complessivamente la valutazione cumulativa dimostra l’importanza di combinare i marcatori biochimici prognostici per una valutazione più compiuta del rischio di ispessimento carotideo e quindi di mortalità cardiovascolare.

RIASSUNTO

Il Progetto Atena è stato realizzato su 5.062 donne di età compresa tra 30 e 69 anni residenti nella zona di Napoli. Scopo di questo studio è indagare le cause di quelle malattie croniche che hanno un forte impatto sulla popolazione femminile. Questa revisione sistematica e meta-analisi sono state condotte utilizzando studi pubblicati per stimare il potenziale prognostico o predittivo dei biomarcatori, valutati in studi annidati nella coorte Atena. Gli studi sono stati ricercati utilizzando PubMed, la biblioteca Cochrane e i database di Google scholar. Gli studi sono stati selezionati per questa revisione se condotti nell'ambito del progetto Atena Cohort e riportato lo studio del biomarcatore. Lo studio è stato valutato da due ricercatori indipendenti utilizzando ai seguenti criteri di inclusione:

- 1) studio svolto nella comunità o nella popolazione;
- 2) studi che hanno riportato i biomarcatori.

I dati estratti sono stati inseriti e analizzati utilizzando il software REVMAN. La strategia di ricerca ha recuperato 15 articoli potenziali e 6 studi sono stati trovati idonei e inclusi nell'analisi delle stime aggregate. Nell'analisi sono stati valutati lipidi plasmatici, creatinina, glucosio, Lp (a) e spessore medio intinale (IMT), un marker di aterosclerosi. Le stime raggruppate sono state mostrate nei grafici di Forrest. Le stime aggregate hanno verificato il potenziale prognostico del biomarker come predittore di IMT. I risultati sono coerenti con il profilo multifattoriale del rischio CV e identificano il valore prognostico della valutazione IMT e il suo impatto nella prevenzione secondaria in base ai profili biochimici.

Parole chiave: *Donne, progetto Atena, biomarcatori, malattie cardiovascolari.*

Bibliografia

1. Iannuzzi A, Celentano E, Panico S, Galasso R, Covetti G, Sacchetti L, et al. Dietary and circulating antioxidant vitamins in relation to carotid plaques in middle-aged women. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76: 582-587.
2. De Michele M, Panico S, Celentano E, Covetti G, Intrieri M, Zarrilli F, et al. Association of impaired glucose homeostasis with preclinical carotid atherosclerosis in women: Impact of the new American Diabetes Association criteria. *Metabolism.* 2002; 51: 52-56.
3. Gentile M, Iannuzzo G, Mattiello A, Marotta G, Rubba F, Iannuzzi A, et al. Association between Lp(a) and small dense LDL in menopausal women without metabolic syndrome. *Acta Cardiol.* 2018; 19: 1-5.
4. Levac D, Colquhoun H, O'Brien KK. Scoping studies: advancing the methodology. *Implementation science.* 2010; 5: 1-9.
5. Arksey H, O'Malley L. Scoping studies: towards a methodological framework. *International Journal of Social Research Methodology.* 2005; 8: 19-32.
6. Iannuzzi A, Gentile M, Iannuzzo G, Covetti G, Panico C, Mattiello A, et al. Atherogenic Lipoprotein Subfractions and Carotid Atherosclerosis in Menopausal Women. *Angiology.* 2018; 69: 666-671.
7. Gentile M, Iannuzzo G, Mattiello A, Rubba F, Panico S, Rubba P. Association between body shape index and small dense LDL particles in a cohort of mediterranean women: findings from Progetto ATENA. *J Clin Biochem Nutr.* 2017; 61: 130-134.
8. Vatrella A, Calabrese C, Mattiello A, Panico C, Costigliola A, Chiodini P, Panico S. Abdominal adiposity is an early marker of pulmonary function impairment: Findings from a Mediterranean Italian female cohort. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2016; 26: 643-648.
9. Lotfi A, Mohammadi G, Tavassoli A, Mousaviagdas M, Chavoshi H, Saniee L. Serum levels of MMP9 and MMP2 in patients with oral squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015; 16: 1327-1330.
10. Gentile M, Panico S, Mattiello A, de Michele M, Iannuzzi A, Jossa F, et al. Plasma creatinine levels, estimated glomerular filtration rate and carotid intima thickness in middle-aged women: a population based cohort study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014; 24: 677-680.
11. Gentile M, Panico S, Rubba F, Mattiello A, Chiodini P, Jossa F, et al. Obesity, overweight, and weight gain over adult life are main determinants of elevated hs-CRP in a cohort of Mediterranean women. *Eur J Clin Nutr.* 2010; 64: 873-878.

12. Gentile M, Panico S, Jossa F, Mattiello A, Ubaldi S, Marotta G, et al. Small dense LDL particles and metabolic syndrome in a sample of middle-aged women. Findings from Progetto Atena. *Clin Chim Acta*. 2008; 388: 179-183.
13. De Michele M, Panico S, Iannuzzi A, Celentano E, Ciardullo AV, Galasso R, et al. Association of obesity and central fat distribution with carotid artery wall thickening in middle-aged women. *Stroke*. 2002; 33: 2923-2928.
14. Rubba P, Panico S, Bond MG, Covetti G, Celentano E, Iannuzzi A, et al. Site-specific atherosclerotic plaques in the carotid arteries of middle-aged women from southern Italy: associations with traditional risk factors and oxidation markers. *Stroke*. 2001; 32: 1953-1959.
15. Muscari A, Bozzoli C, Massarelli G, Puddu GM, Palareti G, Legnani C, et al. Complement components and fibrinogen: correlations and association with previous myocardial infarction. *Cardiology*. 1995; 86: 232-237.
16. Gentile M, Iannuzzo G, Mattiello A, Marotta G, Iannuzzi A, Panico S, Rubba P. Association between Lp (a) and atherosclerosis in menopausal women without metabolic syndrome. *Biomark Med*. 2016; 10: 397-402.

FOCUS SUL METABOLISMO

APO C-III: TAPPA LIMITANTE DELLA CASCATA LIPOLITICA E BERSAGLIO TERAPEUTICO NELLE IPERTRIGLICERIDEMIE GRAVI

Apo C-III: limiting stage of the lipolytic cascade and therapeutic target in severe hypertriglyceridemias

LAURA D'ERASMO¹, SEBASTIANO CALANDRA²

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

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

SUMMARY

Hypertriglyceridemia is a complex disorder, in most cases of polygenic nature, affecting approximately 27% of the general population. The severity of hypertriglyceridemia correlates with different types of complications. In fact, the association between mild to moderate hypertriglyceridaemia and cardiovascular risk and severe hypertriglyceridemia (triglycerides >1.000 mg/dl) and risk of acute pancreatitis is known. Apolipoprotein C-III (apoC-III) plays a critical role in influencing triglyceride-rich lipoprotein metabolism through three main mechanisms:

- 1) it promotes the assembly and production of VLDL in the liver;
- 2) inhibits the activity of lipoprotein lipase;
- 3) interferes with ApoB or ApoE binding to hepatic receptors, slowing the removal of TRLs and their residues (remnants).

Both the studies conducted on animal models and in humans, have shown that apoC-III directly correlates with the elevation of circulating triglyceride concentrations while low or absent apoC-III levels determine a reduction. A great deal of evidence has shown that in humans the mutations with loss of function of the APOC-III gene are associated with low risk of atherosclerotic disease. All these data showed the possibility of using apoC-III as a therapeutic target in hypertriglyceridemia. Although some commercial drugs are able to reduce circulating apoC-III levels, they are often not sufficient to achieve therapeutic goals. For this reason, an Antisense Oligonucleotide (ASO) has recently been formulated to reduce apoC-III mRNA (volanesorsen) and consequently reduce triglyceridemia. In this review we will show the scientific evidence concerning the role of apoC-III in the metabolism of triglyceride-rich lipoproteins (TRL) showing its importance as a possible therapeutic target for both severe hypertriglyceridemia (and its complications such as acute pancreatitis) that of the cardiovascular risk associated with high triglyceride levels.

Key words: *ApoCIII, severe hypertriglyceridemias, new drug therapies.*

Introduzione

L'ipertrigliceridemia è un disordine complesso, nella maggior parte dei casi di natura poligenica, che colpisce circa il 27% della popolazione generale. La concentrazione di trigliceridi riflette il bilancio tra:

- a) sintesi de novo delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TRLs) da parte del fegato (very low density lipoprotein or VLDL);
- b) l'assorbimento intestinale di grassi proveniente dalla dieta (chilomicroni);
- c) la lipolisi nei tessuti periferici;
- d) la clearance epatica.

Considerate le evidenze di un'associazione tra ipertrigliceridemia e rischio cardiovascolare (CVD), vi è un crescente interesse nel determinare i fattori che modulano il metabolismo dei trigliceridi per identificare potenziali target terapeutici (1). Uno di questi fattori è l'apoproteina C-III (apoCIII), una glicoproteina di 8.8 kDa prodotta principalmente a livello epatico ed in minore misura a livello intestinale (2-4). Una volta secrete le apoCIII mature si trovano associate alle TRLs, LDL e HDL (5). Come dato molto importante, le apoCIII plasmatiche sono correlate positivamente ai trigliceridi plasmatici e al rischio cardiovascolare (6). Questa associazione viene confermata dall'osservazione che le mutazioni che influenzano negativamente i livelli di apoC-III (7) nell'uomo sono correlate a ridotti livelli di trigliceridi e protezione dalla malattia cardiovascolare (8-10).

Apolipoproteina C-III

L'Apolipoproteina C-III (apoC-III) è una piccola glicoproteina costituita, nella sua forma matura, da 79 aminoacidi (da

99 amino acidi nella forma di pre-proteina precursore), che costituiscono 6 alfa eliche anfipatiche, capaci di legare lipidi e trasportarli in un ambiente acquoso. L'apoC-III è sintetizzata nel fegato ed in misura minore nell'intestino. La sua concentrazione plasmatica varia da 8-10 mg/dl nei soggetti normolipidemici, fino a 30 mg/dl ed oltre in pazienti con ipertrigliceridemia (11, 12). È presente nel plasma in tre isoforme che differiscono per il contenuto in acido sialico. La isoforma apoC-III₀ non contiene acido sialico, mentre le isoforme apoC-III₁ ed apoC-III₂ legano uno o due molecole di acido sialico rispettivamente. Le isoforme apoC-III₁ ed apoC-III₂ rappresentano >90% dell'apoC-III presente nel plasma. L'apoC-III è presente in tutte le classi di lipoproteine, ma è particolarmente rappresentata nei chilomicroni, nelle VLDL, nei loro residui (dunque in quelle che sono denominate lipoproteine ricche in trigliceridi o TRL) e nelle HDL. Durante l'idrolisi dei trigliceridi (TG) delle VLDL e dei chilomicroni ad opera della Lipasi Lipoproteica (LPL), l'apoC-III si trasferisce dalle VLDL alle HDL per poi essere ritrasferita su altre molecole di VLDL neo-secrete (11, 12). Nei soggetti normo-trigliceridemici la maggior parte dell'apoC-III si trova sulla superficie delle HDL che rappresentano il "reservoir" di apoC-III nel plasma umano. L'ipertrigliceridemia è caratterizzata da elevati livelli di trigliceridi (TG) e, in particolare, di trigliceridi trasportati nelle VLDL con una significativa elevazione di apoC-III legato alle TRL. Nel caso di soggetti normo-trigliceridemici ogni molecola di VLDL contiene 25 molecole di apoC-III; questo valore si raddoppia nel caso di VLDL di soggetti ipertrigliceridemici (11, 12). In condizioni di ipertrigliceridemia, inoltre, si osserva uno *shift* tra il pattern di secrezione di TRL contenenti apoE (che vengono rimosse velocemente

Indirizzo per la corrispondenza

Laura D'Erasmus

Mail: laura.derasmo@uniroma1.it

dalla circolazione e hanno scarsa tendenza a formare colesterolo LDL) a favore della produzione di TRL ricche in apoC-III; questo comporta una più lunga permanenza in circolo delle lipoproteine e una maggiore conversione a colesterolo LDL (causata dalla ridotta *clearance* periferica).

Il gene codificante l'apoC-III (gene *APOC3*) si trova prossimo ai geni *APOA4/APOA1/APOA5* in un cluster di geni localizzato sul braccio lungo del cromosoma 11 (11q23). L'espressione di *APOC3* nell'epatocita è regolato da molti componenti metabolici e nutrizionali inclusi il glucosio, l'insulina e gli acidi grassi (13, 14). Nelle culture primarie di epatocita di ratto e negli epatociti umani immortalizzati, elevati livelli di glucosio inducono l'espressione di *APOC3* nel fegato mediante l'attivazione di *carbohydrate response-element-binding protein* e dell'*hepatic nuclear factor-4 α* (13). In vivo questa osservazione si traduce con il fatto che i livelli plasmatici di apoC-III correlano positivamente con la glicemia sia a digiuno che post-prandiale negli individui obesi (13). Similmente elevati livelli post-prandiali di acidi grassi saturi aumentano i livelli plasmatici di apoC-III e la sua produzione epatica sia nel modello murino che nell'uomo (14, 15). Questa regolazione è probabilmente il risultato della induzione indotta dagli acidi grassi saturi dell'espressione del coattivatore *1 β del peroxisome proliferator activated receptor γ* (PGC1 β) (16). Regolatori negativi dell'espressione di apoC-III sono invece gli acidi grassi polinsaturi, gli agonisti del PPAR α e i segnali infiammatori che attivano NF-kB (13, 17-20).

ApoC-III e metabolismo lipoproteico

Il meccanismo prevalente attraverso il quale l'apoC-III modula il metabolismo delle lipoproteine è ancora controverso.

L'apoC-III, non solo agisce come inibitore della LPL ma:

- 1) ostacola la clearance epatica delle TRL;
- 2) promuove la produzione epatica di VLDL (*Figura 1*) (21).

L'ipotesi che l'attività di apoC-III non sia limitata ad agire come inibitore di LPL deriva dal fatto che molti degli studi che hanno legato l'attività di apoC-III all'inibizione LPL mediata dell'idrolisi dei trigliceridi, sono basati sull'utilizzo di concentrazione sopra-fisiologiche di apoC-III. In queste condizioni l'apoC-III compete attraverso il suo residuo aromatico C-terminale per il legame della LPL alle TRL. L'interpretazione di questi dati è che il rapporto tra apoC-II, agonista di LPL, e apoC-III sulle TRL sia cruciale per l'attività della LPL. In questo modo, l'apoC-III impatterebbe sull'attività LPL solo quando si trova sulle TRL in concentrazioni 5 volte superiori (condizione che non si osserva né in condizioni normali che di patologia). Questa ipotesi sarebbe supportata anche da dati sperimentali sul topo transgenico *knockout* per *APOC3* in cui l'ipertrigliceridemia viene spiegata dall'assenza della inibizione apoC-III mediata dell'attività LPL (22, 23). Tuttavia, l'inibizione della LPL osservata in questo modello soffre della sproporzione delle concentrazioni di apoC-II e apoC-III sulle lipoproteine; infatti, l'inibizione della LPL è spesso osservata in molti dei modelli murini in cui le apoproteine (in particolare, apoAV, apoC-I, apoC-II e apoE) sono sovra-esprese (24-27). Il limite di questi modelli sarebbe legato al fatto che l'iper-espressione delle apolipoproteine sulla superficie delle TRL ne limiti l'accesso da parte della LPL. Un ulteriore problematica legato all'utilizzo di questi modelli sperimentali è il fatto che viene utilizzata LPL libera invece che quella ancorata alla proteina GPIHBP1. GPIHBP1 è una proteina fondamentale per la traslocazione della

LPL sulla superficie luminale dei capillari dove presenta naturalmente la LPL sulle cellule endoteliali creando una piattaforma grazie alla quale la LPL può esercitare la propria attività lipolitica (28). A conferma di questo, Larsson et al. (29), in uno studio in vitro, hanno riportato come l'effetto inibitore di apoC-III fosse significativamente maggiore quando veniva utilizzata LPL legata a GPIHBP1 piuttosto che quando veniva utilizzata LPL libera.

Lo studio clinico condotto su pazienti affetti da Sindrome Chilomicronemi-

ca Familiare (FCS) trattati con un ASO di seconda generazione diretto verso *APOC3* epatico, ha messo in discussione drammaticamente l'importanza fisiologica dell'inibizione della LPL mediata da apoC-III negli esseri umani. I pazienti affetti da FCS sono caratterizzati da livelli di trigliceridi plasmatici estremamente alti (2000 mg/dl) come risultato di un'attività LPL plasmatica non rilevabile (<5% del livello normale) a causa di mutazioni genetiche nel gene *LPL* o nei suoi cofattori (*APOC2*, *APOAV*, fattore di maturazione della lipa-

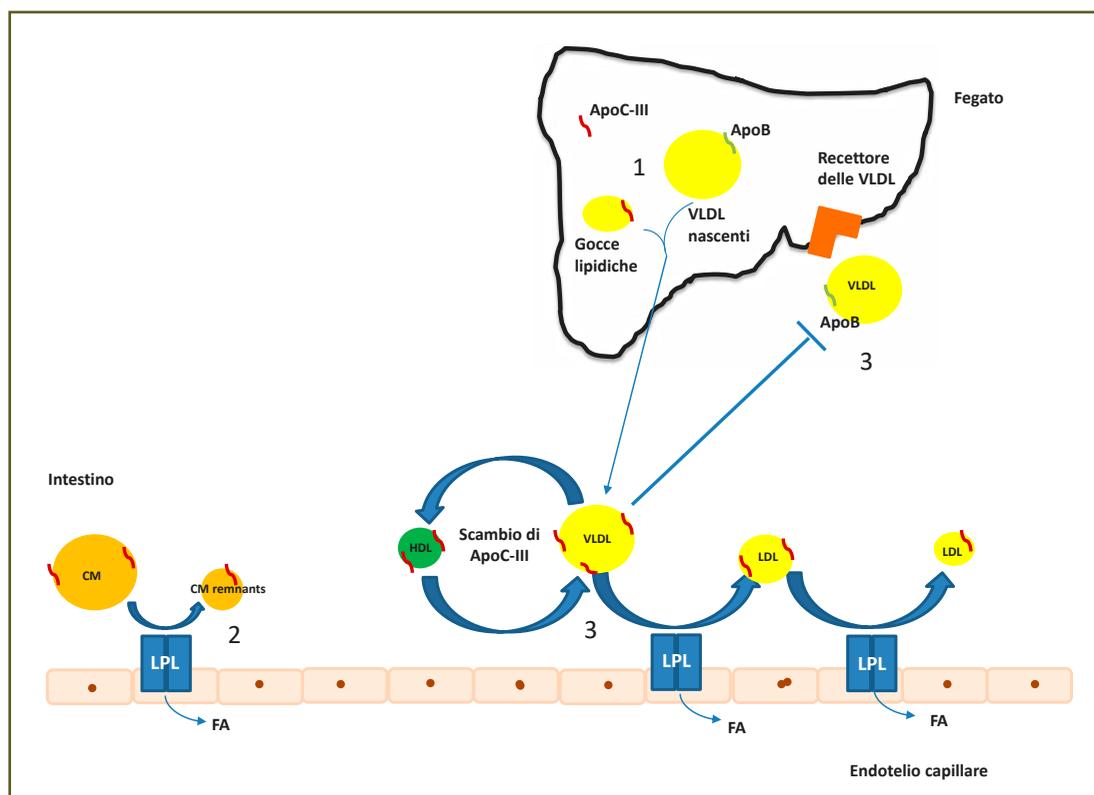


Figura 1 - ApoC-III e metabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TRL).

Apolipoproteina C-III (ApoC-III) e Triglyceride (TG)-rich Lipoprotein (TRL) Metabolism. ApoCIII si trova prevalentemente a livello dei chilomicroni (CM), very low-density lipoproteins (VLDL), e high-density lipoproteins (HDL), e in minore misura all'LDL. ApoC-III influenza il metabolismo delle TRL attraverso diversi meccanismi: 1) favorisce l'assemblaggio e la produzione delle VLDL a livello epatico 2) inibisce l'attività della lipoprotein lipasi 3) interferisce con il legame dell'ApoB o ApoE ai recettori epatici, così rallentando la rimozione delle TRL e dei loro remnant. Durante l'idrolisi LPL mediata dei trigliceridi contenuti nelle VLDL, ApoC-III si muove dalle VLDL alle HDL con un trasferimento che è proporzionale alla magnitudine degli acidi grassi (FA) rilasciati [77].

si-1 (*LMF1*), *GPIHBP1*) (30). Sorprendentemente, Gaudet et al. (30) hanno riportato come la riduzione indotta dall'ASO dei livelli plasmatici di apoC-III in tre pazienti FCS (con mutazioni in omozigosi nel gene *LPL*), fosse associata a una drastica riduzione dei loro livelli plasmatici di trigliceridi. Questa osservazione ha suggerito il fatto che apoC-III possa agire anche in modo indipendente dalla LPL suggerendo la presenza di un'altra *patway* di idrolisi dei trigliceridi. A supporto di questa ipotesi, in uno studio su alcuni tipi di topi knockout per i recettori epatici per le TRL, si è evidenziato come apoC-III agisca prevalentemente andando ad inibire la clearance epatica delle TRL (31). In condizioni fisiologiche, dopo il processo di lipolisi, i *remnant* delle TRL subiscono una rapida clearance da parte del fegato mediante recettori situati sulla membrana basale degli epatociti. A livello epatico, i recettori endocitici più rappresentati comprendono il recettore LDL (LDLR), la proteina 1 correlata all'LDLR (LRP1) e i proteoglicani di heparan solfato (HSPG), in particolare syndecan-1 (SDC1) (31, 32). Il trattamento con ASO anti apoC-III riduceva del 35-50% la trigliceridemia plasmatica nei seguenti modelli murini: nei knockout per LPL, per HSPG, LDLR o LRP1 come anche negli animali difettivi sia per i geni codificanti per HSPG che LRLR o LRP1. Tuttavia, la somministrazione di ASO anti apoC-III non aveva alcun effetto sul metabolismo plasmatico dei trigliceridi nei topi privi sia di LDLR e LRP1. La somministrazione dell'ASO anti apoC-III non aveva, al contrario, alcun effetto sulla secrezione delle VLDL, sulla riduzione eparino-indotta dei trigliceridi o sull'*uptake* dei lipidi a livello cardiaco o del muscolo scheletrico. Questi dati suggeriscono che apoC-III possa indurre ipertrigliceridemia inibendo la *clearance* epatica delle TRL mediata da

LDLR e LRP1 (31-33). Una grande mole di lavori ha stabilito il ruolo di HSPGs nella clearance epatica dei *remnant* delle TRL. In coltura, i HSPGs possono interagire direttamente con le lipasi e le apolipoproteine facilitandone l'endocitosi. Nello stesso studio (31), i topi knockout per SDC1 accumulavano TRL ricche in apoC-III (31-33) suggerendo che la rimozione delle TRL ricche di apoC-III avvenga preferenzialmente mediante SDC1 (31).

Il meccanismo mediante il quale apoC-III influenza la *clearance* epatica recettore mediata delle TRLs non è al momento chiarito in modo definitivo. Una possibile spiegazione è che apoC-III prevenga l'eliminazione delle TRL mediata da LDLR e LRP1 indebolendo l'associazione tra apoE e TRL (31, 34-36). Infatti, l'apoE presente sulle TRL è un ligando critico per l'eliminazione epatica delle TRL in quanto media il legame con SDC1, LDLR e LRP1 (33). Tuttavia, l'ipotesi che questi effetti siano legati ad uno spiazzamento di apoE è stata messa in discussione, così che non è ancora certo il modo in cui apoC-III blocca il legame delle TRL a LDLR e LRP1 (21).

Un altro ruolo importante di apoC-III è quello legato al fatto che questa apolipoproteina favorisce l'assemblaggio delle VLDL nell'epatocita, facilitando il reclutamento di lipidi nelle fasi tardive di formazione delle VLDL (le fasi che seguono la prima lipidizzazione dell'apoB-100 mediata dalla proteina MTP) (38, 39). La sovraespressione di apoC-III in topi transgenici (condizione che si associa ad una ipertrigliceridemia severa) aumenta la secrezione di VLDL mentre l'opposto si verifica nei topi nei quali è stato inattivato il gene *ApoC3* (39). Studi di cinetica nell'uomo hanno dimostrato uno stretto legame tra incremento della produzione epatica di VLDL-apoC-III e VLDL-TG. Inoltre, in individui con elevato BMI e resistenza insu-

linica, si è osservata un'umentata produzione epatica di VLDL apoC-III in stretta correlazione con i livelli plasmatici di trigliceridi. In pazienti con obesità centrale, gli elevati livelli plasmatici di VLDL-apoC-III sono la conseguenza di un'umentata produzione di VLDL-apoC-III (40-42).

ApoC-III e infiammazione

Nel tentativo di comprendere meglio l'eventuale ruolo pro-aterogeno di elevati livelli di apoC-III, sono stati disegnati studi per verificare se l'apoC-III giocasse qualche ruolo nei complessi processi infiammatori che si svolgono nel corso della aterosclerosi. Studi in vitro hanno documentato che l'apoC-III attiva i monociti aumentando l'espressione di β 1-integrine, molecole che svolgono un ruolo importante nel promuovere l'adesione dei monociti all'endotelio e quindi la loro migrazione attraverso l'endotelio stesso (43). Altri studi hanno dimostrato come apoC-III induca l'espressione di molecole di adesione sull'endotelio così facilitando il reclutamento dei leucociti. Inoltre, in topi ipercolesterolemici difettivi per LDLR (*ldlr*^{-/-}), la somministrazione di apoC-III umana si associa ad aumento dell'apoC-III nelle placche ateromasiche e ad un incremento della transmigrazione leucocitaria (44, 45). In un recente studio, Lu Dai et al. (46) hanno dimostrato come apoC-III promuova in modo significativo l'espressione TNF- α -indotta di JAM-1 nelle cellule endoteliali umane (HUVECs) attraverso la via del PI3K-IKK2-p65 pathway. JAM-1 gioca un ruolo essenziale nel processo di adesione delle piastrine nelle cellule endoteliali infiammate, processo che promuove la formazione di placche e aterosclerosi. Il silenziamento della via PI3K-IKK2-p65 sopprime il ruolo aterogenico di apoC-III inibendo l'espressione di JAM-1 (46).

ApoC-III e diabete

La concentrazione di apoC-III è elevata nei soggetti con diabete come a suggerire una possibile correlazione positiva con l'alterazione del metabolismo dei carboidrati. L'apoCIII aumenta l'apoptosi della β -cellula pancreatica attraverso un aumento dei livelli di Ca^{2+} citoplasmatici nelle cellule che producono insulina. In aggiunta a questo dato, l'iper-espressione di apoCIII aumenta la steatosi epatica non alcolica e esacerba i *pathway* infiammatori a livello del muscolo scheletrico, alterando il segnale insulinico inducendo così insulino-resistenza. Recenti studi hanno inoltre rilevato un possibile meccanismo di aumento del peso corporeo e produzione di glucosio mediata da una potenziale inibizione di LPL apoC-III-indotta a livello dell'ipotalamo. Altri studi hanno dimostrato come la presenza di apoC-III sulla superficie delle lipoproteine ad alta densità (HDL) determini una alterazione delle loro proprietà anti-glicemiche e ateroprotettive. Tutti questi dati supportano l'ipotesi che la modulazione di apoC-III possa rappresentare non solo una cura per l'ipertrigliceridemia, ma determinare anche un miglioramento del metabolismo dei carboidrati (47).

La lezione imparata dalle varianti di APOCIII

Importanti progressi nella comprensione del ruolo funzionale dell'apoC-III sono emersi dagli studi di varianti genetiche di questa proteina condotti sia su singoli individui/famiglie, sia in campioni di popolazione di diverse etnie.

Negli anni, molti polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) in APOC3 sono stati associati ad effetti nel metabolismo dei trigliceridi e nel rischio cardiovasco-

lare (48-51). Mediante tecniche di whole-genome sequencing è stata recentemente identificata una rara mutazione con perdita di funzione (rs138326449) negli South Dakota Hutterites, una popolazione fondatrice di discendenza Europea. Questa mutazione si associa a bassi livelli di trigliceridi, bassi livelli di HDL e ridotto rischio cardiovascolare (52). Studi epidemiologici successivi hanno dimostrato che verosimilmente questo effetto non è mediato unicamente dall'impatto di apoC-III sull'attività di LPL ma, come precedentemente accennato, da un meccanismo indipendente dalla lipoprotein lipasi (53). Una recente metanalisi ha raggruppato i dati provenienti da 29 studi, per esplorare una correlazione tra rischio cardiovascolare e i 3 SNPs di APOC3 più comunemente associati ad ipertrigliceridemia (SstI, C-482T, e T-455C). Precedenti studi hanno dimostrato come i portatori del polimorfismo SstI avrebbero più alti livelli di apoC-III e trigliceridi (54), mentre gli omozigoti per le varianti C-482T, e T-455C sarebbero resistenti alla regolazione (down-regulation) insulino-mediata della trascrizione del gene APOC3 con conseguente aumento della trigliceridemia (55). In questa metanalisi (53), un significativo aumento del rischio cardiovascolare è stato osservato nei soggetti portatori del polimorfismo SstI (S2 vs S1: odds ratio (OR)=1,30, 95% confidence interval (CI) 1,10-1,55). Dati simili sono stati confermati anche per i soggetti portatori del polimorfismo T-455C (C versus T: OR =1,28, 95% CI 1,16-1,41) mentre nessuna associazione è stata osservata tra C-482T e malattia cardiovascolare.

Nello studio prospettico caso-controllo European Prospective Investigation of Cancer (EPIC)-Norfolk erano stati misurati i valori basali di apoC-III plasmatico. Questi dati sono stati recentemente analizzati per confermare la correlazione tra apoC-III e

malattia cardiovascolare nonché per identificare le frazioni lipoproteiche responsabili di questa correlazione (56). Dei 2711 partecipanti allo studio, 823 hanno sviluppato malattia cardiovascolare e questa era correlata in modo positivo ai livelli di apoC-III (odds ratio di 1,47 aggiustato per fattori di rischio cardiovascolari). L'apoC-III era rispettivamente positivamente correlata ai livelli di TG ($r=0,39$), alle VLDL ($r=0,25$), IDL ($r=0,23$), alle LDL piccole e dense ($r=0,26$), e *high-sensitivity* proteina C reattiva (hsCRP) ($r=0,15$) ed inversamente con le particelle LDL ($r=-0,11$), $p<0,001$ (51).

1. Varianti genetiche rare di apoC-III identificate in singoli individui o famiglie

Alcune varianti genetiche rare (definite anche come "mutazioni") nel gene *APOC3*, associate a variazioni del profilo lipidico plasmatico, sono state riportate fin dagli anni 80 in alcuni individui o singole famiglie.

La sostituzione aminoacidica (Lys58Glu) riscontrata in due individui appartenenti alla stessa famiglia, si associava ad una riduzione del 30-40% dei livelli plasmatici di apoC-III e ad elevati livelli di HDL-C (>95% percentile), senza effetti evidenti sui livelli di TG e LDL-C (57). Un'altra sostituzione aminoacidica (Ala23Thr) è stata descritta in due individui di una famiglia della popolazione Maya vivente nella penisola dello Yucatan. Questi individui (portatori eterozigoti della mutazione) avevano livelli plasmatici di apoC-III molto più bassi rispetto ai loro familiari non portatori (58). Questi effetti sono stati attribuiti ad una ridotta capacità della apoC-III mutante di legare lipidi, un difetto che poteva indurne un accelerato catabolismo intracellulare (58). Studi funzionali condotti in vitro su cellule epatiche esprimevano i due mutanti Lys58Glu e Ala23Thr hanno dimostrato che queste due mutazioni riducono

la capacità di apoC-III di promuovere la lipidizzazione dell'apoB-100 durante l'assemblaggio delle VLDL (59, 60) e quindi sono causa di ridotta secrezione di VLDL. È opportuno segnalare che la mutazione Ala23Thr (oggi indicata come Ala43Thr secondo la nomenclatura corrente che si riferisce alla pre-proteina) è stata ritrovata in studi di popolazione in individui con ridotti livelli plasmatici di apoC-III e di TG (vedi oltre, studi di popolazione).

Sono state riscontrate anche mutazioni di apoC-III (es. Thr74Ala) non associate a variazioni della concentrazione plasmatica della proteina o del profilo lipidico, ma alla esclusiva presenza nel plasma della isoforma apoC-III₆ (61). Viceversa, nel caso della mutazione Gln38Lys, i portatori eterozigoti di questa mutazione presentavano livelli plasmatici di TG del 30% più elevati rispetto ai familiari non portatori (62). Esistono quindi rare mutazioni di apoC-III che si traducono in una perdita di funzione (mutazioni Loss of Function, LOF) o, più raramente, in un guadagno di funzione (mutazioni Gain of Function, GOF) che si associano a modificazioni del profilo lipidico plasmatico.

2. Varianti genetiche rare di apoC-III identificate in popolazioni

Diversi studi di sequenziamento su popolazioni diverse hanno ormai dimostrato con convinzione l'associazione tra le mutazioni con perdita di funzione di *APOC3* e la protezione dalla malattia coronarica (CHD) (9, 10, 63). In questi studi i livelli plasmatici dei trigliceridi e i tassi di CHD erano di circa il ~40% più bassi nei soggetti eterozigoti per mutazioni in *APOC3* rispetto ai soggetti non portatori. L'associazione tra bassi livelli di trigliceridi e protezione verso la CHD nei soggetti eterozigoti *APOC3* è consistente con l'ipotesi che le TRL siano aterogeniche; nonostante ciò apoC-III ha effetti pleiotropici sul metabo-

lismo lipidico e potrebbe agire attraverso diversi meccanismi (64). Alcune evidenze mostrano che *APOC3* potrebbe essere implicata direttamente nel promuovere aterosclerosi (65). Altri dati sembrerebbero invece dimostrare come mutazioni in *APOC3* riducono i livelli di LDL, migliorano la *clearance* di *remnant* circolanti delle lipoproteine e aumentato i livelli di HDL (64). Due studi di randomizzazione Mendeliana pubblicati nel 2014 hanno rafforzato il concetto che mutazioni LOF di apoC-III sono associate ad un profilo lipidico più favorevole e ad un minore rischio cardio-vascolare osservando come queste mutazioni fossero associate a una riduzione nella colesterolemia LDL tanto importante da poter spiegare l'effetto cardioprotettivo (9, 10). In un editoriale di commento a questi due studi, H. Hobbs e J. Cohen (Dallas USA) (66) hanno posto l'accento sull'effetto pleiotropico sulle diverse frazioni lipoproteiche legato al deficit genetico di *APOC3*. In particolare, essi hanno rimarcato il fatto che in entrambi gli studi di randomizzazione Mendeliana, sia pure in misura diversa, i portatori di mutazioni LOF di apoC-III presentavano ridotti livelli di LDL-C. I portatori di mutazioni in *APOC3* nella coorte di Kathiresan et al. (10) avevano una riduzione della colesterolemia LDL del 16% mentre nello studio di Tybjærg-Hansen et al. (9) la riduzione media di LDL-C era solo del 3% più bassa nei *carriers* di mutazioni in *APOC3* rispetto ai non-*carriers*. Questa modesta riduzione tuttavia, difficilmente è in grado di spiegare la drammatica riduzione di CHD nei soggetti con varianti in *APOC3*. Secondo gli autori un fattore che potrebbe mascherare il contributo effettivo dei livelli di LDL-C nel determinare CHD nei soggetti con mutazioni in *APOC3*, è la terapia con statine. Le statine sono ovviamente maggiormente prescritte nei soggetti con

più alti livelli di colesterolo LDL, fattori di rischio cardiovascolari o pregressa CHD. Se i soggetti con mutazioni di APOC3 avessero più alti livelli di LDL-C sarebbero dunque maggiormente trattati con statine andando così ad oscurare le differenze nei livelli di LDL-C tra *carriers* e *non carriers* (66). Gli autori ipotizzano che, considerati i fattori di confondimento legati a questi due lavori di randomizzazione Mendeliana (in modo particolare, la terapia con statine), questa riduzione di LDL-C potrebbe essere responsabile degli effetti benefici sul rischio cardio-vascolare del deficit di apoC-III (66). Nonostante questi dati possano apparire convincenti, la recente osservazione che i soggetti con completo deficit di APOC3 abbiano livelli normali di LDL-C rende questo modello meno plausibile (67). Inoltre, sempre con maggiore forza negli ultimi anni sta nascendo il concetto del colesterolo *remnant* (definito come il contenuto del colesterolo nelle TRL). Secondo queste recenti evidenze, l'ipotesi biologicamente plausibile per la riduzione della malattia cardiovascolare negli studi genetici sopra-menzionati potrebbe essere legata al fatto che la bassa concentrazione di trigliceridi sarebbe un marcatore dei bassi livelli di colesterolo *remnant* (in particolare quello contenuto nelle lipoproteine a densità intermedia (IDL), VLDL nel digiuno e chilomicroni *remnant* nella fase post-prandiale). Rispetto ai trigliceridi *per sé* sarebbe proprio questo colesterolo *remnant* ad essere direttamente implicato nei processi sia di formazione che di infiammazione della placca aterosclerotica (68, 69). A conferma di questo dato, recenti studi di randomizzazione Mendeliana hanno dimostrato come elevati livelli di colesterolo *remnant* siano associati ad un aumentato rischio di malattia cardiovascolari e mortalità suggerendo un nesso causale diretto (68-74).

Wulff AB et al. (75) hanno condotto una metanalisi su 137.895 individui testando se la riduzione della malattia cardiovascolare nei soggetti eterozigoti per mutazioni determinanti perdita di funzione (LOF) in APOC3 fosse mediata da bassi livelli di colesterolo *remnant* e LDL. Nella metanalisi, il colesterolo *remnant* e LDL erano rispettivamente del 43% (95% IC, 40%-47%) e 4% (1%-6%) più bassi nei soggetti eterozigoti (n=776) per mutazioni con perdita di funzione rispetto i *non-carriers*. Il colesterolo *remnant* mediava il 37% dell'osservato 41% minore rischio di malattia cardiovascolare e il 54% dell'osservato 36% minore rischio di malattia coronarica, mentre i valori corrispondenti per il colesterolo LDL erano rispettivamente l'1% e 2% (75). In conclusione, tutti questi dati provenienti da studi di sequenziamento su popolazioni o di randomizzazione mendeliana sembrerebbero, dunque, andare a confutare l'ipotesi che la riduzione della CHD nei *carrier* di mutazioni LOF in APOC3 sia mediata dalla riduzione di LDL-C andando a supportare l'ipotesi che questi effetti siano legati alla riduzione del colesterolo *remnant*.

ApoCIII come bersaglio terapeutico nell'ipertrigliceridemia severa

Elevati livelli di trigliceridi si associano ad un aumentato rischio di pancreatite. Nonostante non vi sia ancora un consenso relativamente la definizione dei diversi gradi di ipertrigliceridemia, si definiscono come affetti da ipertrigliceridemia severa i soggetti con trigliceridi >1.000 mg/dl (76). Le attuali opzioni terapeutiche per la cura dell'ipertrigliceridemia includono la riduzione del peso (5-20% per ottenere una riduzione della concentrazione dei trigliceridi del 20%), la dieta (inclusa l'abolizione degli alcolici) (10-15% di riduzione), l'attività fisica (15-20%), i fibrati (30-50%), acidi

grassi omega 3 (20-50%), statine (10-30%) ed ezetimibe (10%) (76). Nonostante ciò, gli individui con ipertrigliceridemia severa frequentemente non riescono a raggiungere valori ottimali di trigliceridemia a digiuno con persistente rischio di andare incontro a pancreatite acuta (76).

Terapie "convenzionali" che modulano i livelli plasmatici di apoC-III

ApoC-III è un target terapeutico di diversi farmaci usati per ridurre i livelli di trigliceridi (77). I fibrati, attraverso l'attivazione di specifici recettori nucleari (PPAR α) inibiscono la trascrizione dell'mRNA di apoC-III riducendone i livelli circolanti e contribuendo alla riduzione della trigliceridemia osservata con questi farmaci. In aggiunta, il Tasaglitazar (un dual PPAR α and PPAR γ agonista) e il pioglitazone (un PPAR γ agonista) riducono i livelli di apoC-III e trigliceridi (TG) circolanti e migliorano l'insulino-resistenza. Gli esteri etilici degli omega 3 riducono i livelli plasmatici di TG determinando una riduzione della malattia cardiovascolare. Similmente a questo, l'atorvastatina e la rosuvastatina riducono la produzione ed aumentano il catabolismo delle VLDL e apoC-III, meccanismo che spiega la riduzione della concentrazione di trigliceridi che si osserva nei pazienti con sindrome metabolica o diabete trattati con questi farmaci. Comunque, tutte queste strategie farmacologiche riescono a determinare una riduzione della trigliceridemia che si aggira tra il 10-30%. Una maggiore riduzione dell'apoC-III si potrebbe probabilmente associare a benefici addizionali simili a quelli osservati nei pazienti con mutazioni genetiche che determinano una riduzione dei livelli di apoC-III del 50% rispetto ai controlli. Per queste ragioni, la cura del-

la ipertrigliceridemia, in particolare nella sua forma severa, rappresenta un bisogno clinico che, al momento, risulta ancora insoddisfatto. Sono necessari nuovi farmaci che aiutino a ridurre i trigliceridi in modo efficace e sicuro. Nei paragrafi precedenti abbiamo ampiamente discusso come l'apoC-III, glicoproteina sintetizzata prevalentemente a livello epatico, abbia un ruolo centrale nell'inibire il catabolismo dei trigliceridi ed aumentarne la secrezione epatica. Considerato il ruolo di apoC-III come regolatore del metabolismo dei trigliceridi e potenzialmente del rischio cardiovascolare, sono in via di sperimentazione nuove tecnologie farmacologiche volte ad inibire apoC-III.

L'inibizione diretta di apoC-III mRNA per ridurre i livelli di apoC-III circolante

L'uso di anticorpi anti apoC-III sarebbe problematico a causa delle elevate concentrazioni plasmatiche di apoC-III (10-20 mg/dL) (77). Gli oligonucleotidi antisenso (ASO) sono una classe di RNA terapeutici disegnati per legarsi selettivamente all'mRNA di una proteina specifica. Dopo il legame con l'mRNA selezionato, l'ASO induce la degradazione dell'RNA attraverso la ribonucleasi ubiquitaria RNasiH1, determinando, così, una riduzione della sua produzione e, dunque, dei livelli plasmatici (*Figura 2*) (77-81). Questi approcci di silenziamento dei geni rappresentano al momento le strategie tecnologiche emergenti per la gestione della dislipidemia e l'ISIS APOCIII Rx (ISIS 304801), un ASO di seconda generazione modificato con -O-(2-methoxyethyl) (20-MOE), è stato disegnato proprio per ridurre la sintesi epatica di apoC-III determinando una caduta dei suoi livelli circolanti (*Tabella 1*) (77).

I risultati del trial di Fase I

Il primo studio sull'uomo è stato quello pubblicato da Graham et al. (82) che consisteva in uno studio di fase 1 in doppio cieco, controllato *vs* placebo, con dosi crescenti di ISIS 304801 (volanesorsen) somministrato ad adulti volontari sani normotrigliceridemici (N=33, 25 hanno ricevuto ISIS 304801 e 8 placebo). La somministrazione di ISIS 304801 ha determinato una riduzione prolungata e dose dipendente della apoC-III circolante e dei livelli di trigliceridi. Nello specifico, i soggetti sono stati trattati con 6 diverse dosi di farmaco o placebo nei 22 giorni di studio; le dosi erano 50, 100, 200 o 400 mg. Le percentuali di riduzione della concentrazione di apoC-III rispetto al basale una settimana dopo l'ultima dose (giorno 29)

erano rispettivamente del 19,7%, 17,3%, 70,5% e 78,0% per le dosi di 50, 100, 200 o 400 mg. Le riduzioni corrispondenti dei livelli di trigliceridemia erano del 19,5%, 25,0%, 43,1% e 43,8%, rispettivamente (82). La riduzione osservata sia di apoC-III che della trigliceridemia si manteneva anche a 4 settimane dall'ultima dose per i dosaggi di farmaco maggiori (100, 200 e 400 mg). Questo effetto era spiegato dalla lunga emivita del farmaco (11,7 e 31,2 giorni). Non si sono osservate variazioni significative delle altre frazioni lipoproteiche se non per un trend in aumento (non dose dipendente) della colesterolemia HDL. Lo studio ha evidenziato come l'eliminazione del farmaco sia legata prevalentemente all'eliminazione renale dei suoi metaboliti. Nello studio di fase 1, ISIS 308401 si è dimostrato ben tollerato; infatti, non si sono

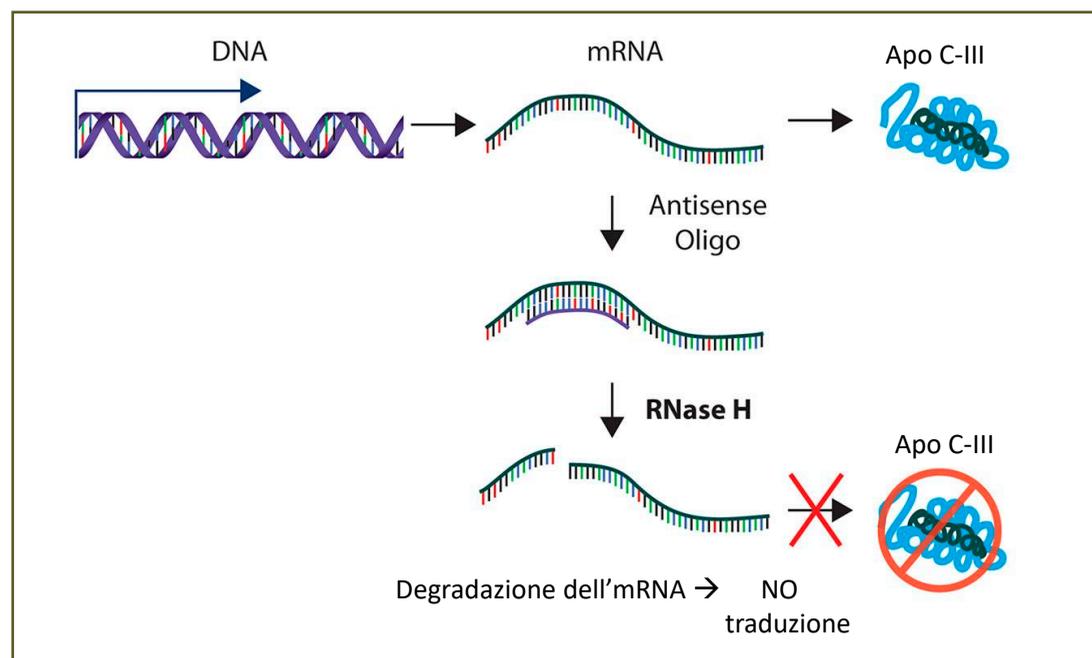


Figura I - La tecnologia degli oligonucleotidi anti-senso.

Gli oligonucleotidi anti-senso (ASO) sono una classe di RNA terapeutici disegnati per legarsi selettivamente all'mRNA di una proteina specifica. Dopo il legame con l'mRNA selezionato, l'ASO induce la degradazione dell'RNA attraverso la ribonucleasi ubiquitaria RNasiH1, determinando, così, una riduzione della sua produzione e, dunque, dei livelli plasmatici [77-81].

Tabella I - Principali studi che hanno valutato l'efficacia del Volanesorsen.

Ref.	Fase	Patologia	N.	Durata (sett.)	Risultati
1)	1	Volontari sani	3	-	Riduzione dose-dipendente prolungata dei livelli di apoC-III e trigliceridi
2)	2	DT2 in scarso controllo (Hba1c>7,5%) e TG a digiuno > 200 mg/dl e <500 mg/dL	15	15	Riduzione dell'apoC-III (-88%, P = 0.02) e dei TG (-69%, P = 0.02) ed aumento dell'HDL (HDL-C) (42%, P = 0.03) vs placebo Miglioramento del 57% della sensibilità insulinica (P < 0.001)
3)	2	TG ≥350 e ≤2000 mg/dL nonostante terapia con fibrato	57	13	Riduzione prolungata e dose dipendente dei livelli di ApoC-III (40.0±32.0% nel Gruppo a 100 mg, 63.8±22.3% nel Gruppo a 200 mg, e 79.6±9.3% nel Gruppo a 300 mg vs. un aumento di 4.2±41.7% nel Gruppo placebo se somministrato singolo; ridotto del 60.2±12.5% nel Gruppo a 200 mg e 70.9±13.0% a 300 mg, vs. una riduzione del 2.2±25.2% nel Gruppo a placebo se somministrato in aggiunta al fibrato). Riduzione concordante dal 31,3 al 70,9% dei livelli di trigliceridi.
4)	2	FCS	3	13	Riduzione dei livelli di ApoC-III tra 71 e 90% e dei trigliceridi dal 56 all'86%
5) e 6)	3	FCS e TG a digiuno > 750 mg/dl	67	57	I pazienti con più di 2 episodi di pancreatite nei 5 anni precedenti non hanno presentato episodi di pancreatite (p=0.02). La riduzione dei trigliceridi in 3 mesi è stata del 77% nel Gruppo con VLN 18% nel Gruppo con placebo (p,0.0001).
6) e 7)	3	TG a digiuno > 500 mg/dl	114	26	Dopo 3 mesi di terapia il VLN ha ridotto i trigliceridi del 73% (p,0.0001) (n=75) vs il 2% nel Gruppo trattato con placebo (n=38)

Referenze della tabella:

- Graham MJ, Lee RG, Bell TA 3rd, et al. Antisense oligonucleotide inhibition of apolipoprotein C-III reduces plasma triglycerides in rodents, nonhuman primates, and humans. *Circ Res.* 2013;112:1479-1490.
- Digenio A, Dunbar RL, Alexander VJ, Hompesch M, Morrow L, Lee RG, Graham MJ, Hughes SG, Yu R, Singleton W, Baker BF, Bhanot S, Crooke RM. Antisense-Mediated Lowering of Plasma Apolipoprotein C-III by Volanesorsen Improves Dyslipidemia and Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2016 Aug;39(8):1408-15.
- Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, Alexander VJ, Singleton W, Hughes SG, et al. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med* 2014; 371:2200-6.
- Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, Alexander VJ, Singleton W, Hughes SG, et al. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med* 2014; 371:2200-6
Gaudet D, Alexander VJ, Baker BF, Brisson D, Tremblay K, Singleton W, Geary RS, Hughes SG, Viney NJ, Graham MJ, Crooke RM, Witztum JL, Brunzell JD, Kastelein JJ. Antisense Inhibition of Apolipoprotein C-III in Patients with Hypertriglyceridemia. *N Engl J Med.* 2015 Jul 30;373(5):438-47.
- Gaudet D, Digenio A, Alexander VJ, et al. The APPROACH study: a randomized double-blind placebo-controlled, phase 3 study of volanesorsen administered subcutaneously to patients with FCS. *Athero Suppl.* 2017; 263:e10.
- Gelrud A, Digenio A, Alexander VJ, Williams KR, Hsieh A, Gouni-Berthold I, Bruckert E, Stroes E, Geary R, Hughes S, Tsimikas S, Gaudet D. Treatment with volanesorsen (VLN) reduced triglycerides and pancreatitis in patients with FCS and sHTG vs placebo: results of the APPROACH and COMPASS Studies. *Athero Suppl.* 2018; 32:157.
- Gouni-Berthold I, Alexander V, Digenio A, DuFour R, Steinhagen-Thiessen E, Martin S, Moriarty P, Hughes S, Gaudet D, Stroes E, Baass A. Apolipoprotein C-III Inhibition with volanesorsen in patients with hypertriglyceridemia (COMPASS): a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Athero Suppl.* 2017; 28:e1-e2.

avuti eventi avversi seri (SAE) o interruzioni anticipate del *trial* dovute ad effetti collaterali avversi (AE). Gli effetti collaterali più comuni sono state le reazioni nel sito di iniezione, che si sono osservate in circa il 53% dei partecipanti. Un aumento transitorio della proteina C reattiva (PCR) è stato osservato nel 28% dei soggetti trattati con ISIS 304801. Tale effetto era dose dipendente e, in questa fase, non era associato ad alcun sintomo sistemico.

I risultati dei trial di Fase 2

Considerati i risultati del trial di fase 1, Gaudet et al. (83), hanno deciso di esaminare gli effetti della inibizione di APOC3 mediante ISIS 304801 nei pazienti con Sindrome Chilomicronemica Familiare (FCS). L'FCS è una patologia ultra-rara a trasmissione autosomica recessiva dovuta a mutazioni nei geni codificanti per la LPL o i geni che ne modulano il funzionamento (84). I pazienti affetti da FCS presentano livelli molto alti di chilomicroni circolanti, ipertrigliceridemia severa (>1.000 mg/dl) e, come complicanza, episodi ricorrenti di dolori addominali gravi e pancreatite acuta (85). La sindrome è associata anche ad una serie di altre manifestazioni quali xantomi eruttivi, artralgie, sintomi neurologici, lipemia retinalis ed epatosplenomegalia (87). Gli episodi ricorrenti di pancreatite acuta generalmente comportano lo sviluppo di pancreatite cronica con la comparsa di sintomi di insufficienza pancreatica esocrina ed endocrina (diabete) (83). Al momento attuale, non vi sono molte opzioni terapeutiche in quanto le attuali strategie farmacologiche non sono adeguatamente efficaci e la terapia dietetica prescritta con basso contenuto in grassi (<20 gr/die; <15% delle calorie totali) sono impossibili da mantenere a lungo termine (87). Nel 2012, la European Medicines Agency

(EMA) ha approvato alipogene tiparvovec (Glybera), una terapia genica di *LPL gene-replacement* (88), per il trattamento della FCS. Nonostante ciò, a causa degli elevati costi di produzione ed al numero piuttosto esiguo di pazienti candidabili al trattamento (solo pazienti con massa LPL dosabile <5%), l'azienda produttrice ha deciso di interrompere la produzione e commercializzazione del farmaco che dal 2017 non è più disponibile (89).

Nello studio in aperto di Fase 2, sono stati seguiti i tre pazienti con FCS, attività LPL <5% del normale e trigliceridi tra 1.406 e 2.083 mg/dL. Il paziente 1, un uomo di 45 anni, e il paziente 3, una donna di 28 anni, erano entrambi omozigoti per una mutazione *null* nel gene *LPL*. La paziente 2, una donna di 67 anni, era una eterozigote composta per mutazioni *null* nel gene *LPL*. Tutti e tre i pazienti arruolati nello studio erano aderenti ad uno stretto regime dietetico in accordo con le linee guida (90). Dopo 13 settimane di trattamento con ISIS 304801, a dosaggio di 300 mg SC, i livelli di apoC-III si sono ridotti tra il 71-90% e i trigliceridi tra il 56-86%. Tutti e tre i pazienti hanno raggiunto valori di trigliceridi <500 mg/dL in corso di terapia e risultati simili sono stati ottenuti anche con i chilomicroni, apolipoproteina B-48 (apoB-48) e il non-HDL-C. In 2 dei 3 pazienti è stato eseguito anche uno studio post-prandiale con un pasto liquido standard prima e dopo la terapia, dimostrando una marcata riduzione sia della trigliceridemia totale sia dei chilomicroni. L'attività della LPL si è mantenuta <5%, supportando ulteriormente l'ipotesi che l'apoC-III agisca regolando i trigliceridi attraverso una via LPL-indipendente. Anche nello studio di Fase 2, i più frequenti effetti collaterali sono state le reazioni nel sito d'iniezione. Il paziente 1, che aveva una storia di pancreatiti ricorrenti, ha presentato

un episodio di pancreatite acuta durante il follow-up, 1 mese dopo l'ultima iniezione del farmaco sperimentale (probabilmente legato anche ad una scarsa aderenza alla dietoterapia ed all'abolizione del consumo di alcolici). Il paziente 3 ha avuto 5 episodi di diarrea lieve che sono stati giudicati come relati o possibilmente relati alla terapia farmacologica.

In un ulteriore studio sono stati invece esaminati gli effetti di ISIS 304801 in una coorte di pazienti con ipertrigliceridemia (91). Questo era uno studio randomizzato, controllato *vs* placebo, in doppio cieco di Fase 2 in cui si valutavano gli effetti di ISIS 304801 in un gruppo di pazienti non trattati con livelli di trigliceridi a digiuno compresi tra 350 mg/dL e 2.000 mg/dL (coorte in monoterapia), e in un altro gruppo di pazienti trattati in modo stabile con fibrati e con livelli di trigliceridi a digiuno tra 225 mg/dL e 2.000 mg/dL (*add-on* coorte). I pazienti sono stati randomizzati a terapia con ISIS 304801, a dosi tra 100 e 300 mg (nella coorte in *add-on* sono stati usati i dosaggi di 200 e 300 mg) o placebo, 1 volta a settimana ogni 13 settimane. L'obiettivo primario era la riduzione percentuale di apoC-III rispetto al basale. Nella coorte in monoterapia, dei 57 pazienti trattati con ISIS 30480, 41 hanno ricevuto ISIS 304801 e 16 placebo, mentre nella coorte *add-on* 20 pazienti hanno ricevuto ISIS 30480 e 8 placebo. I valori di trigliceridi basale nelle coorti in monoterapia e *add-on* erano rispettivamente 581 mg/dl e 376 mg/dl. Il trattamento con ISIS 304801 ha determinato una prolungata, dose-dipendente riduzione dei livelli di apoC-III plasmatica sia quando il farmaco è stato somministrato come singolo agente (riduzione del 40,0%, 63,8%, 79,6% nei gruppi trattati rispettivamente con 100 mg, 200 mg e 300 mg e un aumento del 4,2% nel gruppo con placebo) che quando in farmaco è stato

somministrato in aggiunta alla terapia con fibrati (riduzione dei livelli di apoC-III del 60,2% e 70,9% nei gruppi trattati con 200 e 300 mg e solo del 2,2% nel gruppo trattato con placebo). Una parallela riduzione si è osservata anche a carico della trigliceridemia che si è ridotta tra il 31,3 e il 70,9%. Le reazioni nel sito d'iniezione si sono osservate nel 13% delle iniezioni nei pazienti in terapia con ISIS 304801, del 15% delle iniezioni nella coorte in *add-on* e nello 0% nel gruppo in placebo. Le reazioni nel sito di iniezione, riferite come dolore o eritema lieve, generalmente non erano progressive e si sono risolte spontaneamente. Il 10% dei soggetti trattati con il farmaco sperimentale hanno interrotto il trattamento a causa degli AE (nessuna correlazione tra l'interruzione e il dosaggio del farmaco). In un caso si è osservato un evento avverso serio caratterizzato dalla comparsa di sindrome da siero che è comparsa 3 giorni dopo l'undicesima dose settimanale di 200 mg di ISIS 304801 nella coorte in *add-on*. La biopsia cutanea, il pannello per vasculite, l'autoimmunità come anche gli anticorpi contro il farmaco sperimentale e la PCR, sono stati tutti misurati mostrando risultati negativi. Nella coorte in *add-on* sono stati osservati altri quattro eventi avversi seri occorsi tutti in un unico paziente in trattamento con 300 mg di ISIS 304801 e caratterizzati dalla stenosi di un *graft* arterioso. Gli altri effetti collaterali riportati sono stati: astenia (8,3%), dolori muscolari (9,8%), nausea (9,8%), brividi (7,3%) e mialgie (7,3%).

Digenio et al. (92) hanno condotto uno studio randomizzato, controllato *vs* placebo, in doppio cieco, nei pazienti (N=15) con diabete mellito di tipo 2 ed ipertrigliceridemia (definita come valori di trigliceridi tra 200 e 500 mg/dL). I pazienti sono stati randomizzati 2:1 con volanesorsen 300 mg SC una volta a settimana o place-

bo. In questi pazienti è stato condotto un clamp euglicemico-iperinsulinemico al fine di esaminare la secrezione insulinica e l'insulino-sensibilità prima e dopo trattamento con il farmaco sperimentale. In questo studio la terapia con Volanesorsen ha ridotto dell'88% dei livelli di apoC-III e del 69% dei trigliceridi. L'HDL è aumentato del 43%. Il trattamento con Volanesorsen si è associato ad un miglioramento del 57% della sensibilità insulinica e del controllo glicemico (valutato come riduzione della emoglobina glicosilata e della fruttosamina una settimana dopo l'ultima dose di farmaco).

I trial di fase 3

Gli studi di fase 3 sono lo studio APPROACH (uno studio sull'utilizzo di ISIS 304801 su una coorte di pazienti con Sindrome Chilomicronemica Familiare NCT02211209) e lo studio COMPASS (uno studio con ISIS APOC-IIIRx nei pazienti con ipertrigliceridemia NCT02300233). Questi studi sono volti a testare l'ipotesi che la terapia con Volanesorsen, rispetto a placebo, riduca i livelli di trigliceridi rispettivamente nei pazienti con FCS o ipertrigliceridemia.

Lo studio APPROACH (93-94) è uno studio multicentrico, randomizzato, controllato con placebo, in doppio cieco, in pazienti con FCS e trigliceridi >750 mg/dl con randomizzazione 1:1 a terapia con Volanesorsen 300 mg SC una volta a settimana o placebo per una durata complessiva di 52 settimane (arruolamento completato con 67 pazienti). L'obiettivo primario di questo studio era quello di valutare l'efficacia della terapia con Volanesorsen rispetto a placebo nel ridurre la trigliceridemia a digiuno dopo 3 mesi di terapia (*primary analysis time point*) (77). Alla fine dello studio i pazienti potevano entrare nello studio in

aperto (open-label o OLE) oppure, coloro che non partecipavano alla fase OLE, venivano inclusi in un periodo di valutazione post-trattamento di 13 settimane. Alcune informazioni sui pazienti inclusi nello studio APPROACH sono state recentemente pubblicate da un gruppo di ricercatori. I dati presentati in questo lavoro hanno dimostrato come non vi siano differenze sostanziali del fenotipo tra i pazienti LPL FCS e i non-LPL FCS (portatori di varianti in omozigosi nei geni causali non FCS) e che i soggetti LPL FCS hanno minore attività LPL post-eparina e livelli di trigliceridi lievemente maggiori, mentre i non-LPL FCS avrebbero più alti livelli di colesterolo LDL (95). Lo studio COMPASS (96-97) è uno studio multicentrico della durata di 26 settimane, doppio cieco, controllato con placebo che ha incluso pazienti con trigliceridemia a digiuno >500 mg/dl. I pazienti sono stati randomizzati 2:1 a ricevere 300 mg di Volanesorsen SC una volta a settimana o placebo per 26 settimane (arruolamento completato con 114 pazienti).

I risultati degli studi COMPASS e APPROACH sono stati recentemente combinati mostrando come la riduzione osservata della trigliceridemia si sia tradotta in una significativa riduzione del tasso di pancreatite acuta (1 evento in un paziente trattato con Volanesorsen *vs* 9 eventi in 6 pazienti trattati con placebo $p=0,0185$) (98). Nello studio APPROACH, la riduzione percentuale media dei trigliceridi dopo 3 mesi dall'inizio della terapia è stata del 77% rispetto al basale nel gruppo trattato con Volanesorsen ($n=33$), mentre nel gruppo in trattamento con placebo si è osservato un aumento della trigliceridemia del 18% ($n=33$), $p=0,0001$. Questa significativa riduzione della trigliceridemia si è tradotta nel fatto che il gruppo di pazienti che presentavano in anamnesi più di 2 episodi di pancreatite nei 5 anni precedenti

l'arruolamento, non abbiano presentato alcun evento durante tutta la durata dello studio APPROACH ($p=0,02$). Nello studio COMPASS la riduzione della trigliceridemia dopo 3 mesi di terapia, è stata del 73% e del 2% rispettivamente nel gruppo trattato con Volanesorsen e placebo.

I più comuni effetti collaterali riportati nei pazienti trattati con il farmaco sperimentale sono state le reazioni nel sito d'iniezione. Un effetto collaterale particolarmente sorprendente nello studio APPROACH è stata la riduzione dei livelli di piastrine che ha determinato la necessità di interrompere il trattamento in 5 pazienti (in 2 dei quali la conta delle piastrine si è ridotta $<25.000/ml$). Questo effetto collaterale è prontamente regredito dopo l'interruzione della terapia farmacologica. Diversamente da quanto osservato nello studio APPROACH, nello studio COMPASS non si è osservato alcun evento avverso serio legato alla riduzione delle piastrine ma un solo evento interpretato come "malattia da siero" che sarebbe occorso 2 settimane dopo l'ultima dose di farmaco. Le ragioni per le quali si sono osservati questi effetti collaterali, in particolare la riduzione marcata delle piastrine nei pazienti FCS arruolati nello studio APPROACH, sono attualmente oggetto di discussione.

Recentemente sono stati pubblicati i dati dello studio ReFOCUS (99). Quest'ultimo è uno studio retrospettivo globale basato su un registro web dei pazienti con FCS che sono stati trattati per almeno 3 mesi con Volanesorsen nella fase OLE. Questo registro includeva informazioni relative alle condizioni cliniche dei pazienti prima e dopo il trattamento con Volanesorsen. I 22 pazienti che hanno risposto al questionario, hanno ricevuto il farmaco per una mediana di 222 giorni. La terapia con Volanesorsen ha significativamente ridotto la quantità di sintomi riferiti dal

paziente dal punto di vista fisico, emotivo come anche della capacità di svolgere attività fisica. I pazienti hanno riferito una significativa riduzione della steatorrea, del dolore pancreatico e della componente emozionale legata alla costante paura delle complicanze pancreatiche legate ad FCS. Tutti questi dati hanno portato ad un miglioramento dell'impatto della malattia sulle loro attività scolastiche o lavorative con miglioramento della qualità della vita.

Un altro studio multicentrico, randomizzato, controllato con placebo, in doppio cieco, di fase 2/3 con Volanesorsen è lo studio BROADEN nei pazienti con lipodistrofia (100). L'obiettivo primario di questo studio è stato valutare l'efficacia e la sicurezza della terapia con Volanesorsen rispetto a placebo nel ridurre i trigliceridi rispetto al basale dopo 3 mesi di terapia farmacologica, somministrato in una coorte di pazienti con *Familial Partial Lipodystrophy* che frequentemente si associa a ipertrigliceridemia moderata (101) ed elevati livelli di apoC-III (102). Lo studio aveva la durata di 52 settimane, ha coinvolto 60 pazienti randomizzati con rapporto 1:1 ed ha previsto una fase in OLE di 104 settimane (NCT02639286). I pazienti non entrati nella fase di OLE sono stati seguiti per le successive 13 settimane.

Stato dell'arte relativo all'autorizzazione del Volanesorsen

Il 24 agosto 2018 la US Food and Drug Administration (FDA) ha annunciato di non approvare il Volanesorsen per il trattamento dei pazienti con FCS; questa decisione ha scatenato un grande dibattito in quanto l'FCS rimane, al momento, una malattia orfana grave ed invalidante. Diversamente da quanto deciso dalla FDA, il 28 febbraio 2019 il Comitato per i Medicinali per Uso Umano (CHMP) dell'Agenzia Europea del

Farmaco (EMA) ha raccomandato l'autorizzazione all'immissione in commercio condizionata di Volanesorsen per i pazienti con FCS geneticamente confermata e ad alto rischio di pancreatite, nei quali la risposta alla dieta e alla terapia di riduzione dei trigliceridi si è rivelata inadeguata.

Prospettive future: ASO anti apoC-III di terza generazione

Considerati gli effetti collaterali osservati nello studio APPROACH (94, 98), con particolare riferimento alla comparsa di piastrinopenia severa (per la quale non è disponibile ancora una spiegazione definitiva), attualmente è in fase di sperimentazione un oligonucleotide antisenso di III generazione diretto verso apoC-III; questo ASO sarebbe coniugato con un dominio di N-acetylgalattosamina (GalNac) (AKCEA-APO-CIII-LRx) e sembrerebbe associato a minore rischio di trombocitopenia. In un recente poster (103) sono stati presentati i dati preliminari di uno studio in doppio cieco, controllato con placebo, di fase 1-2 su volontari sani con valori di trigliceridi ≥ 200 mg/dL, in cui dosi multiple di AKCEA-APO-CIII-LRx hanno determinato una riduzione di apo C-III del 83% e di trigliceridi del 65%; questo dato sarebbe associato ad una riduzione significativa del colesterolo totale, apoB, non-HDL colesterolo e VLDL e a un aumento della colesterolemia HDL. AKCEA-APO-CIII-LRx sembrerebbe essere ben tollerato e non si

assocerebbe a sintomi simil-influenzali, riduzione delle piastrine o effetti collaterali epatici e renali.

Considerata l'associazione tra ipertrigliceridemia e rischio cardiovascolare, è attualmente in corso un trial multicentrico di fase 2 con AKCEA-APO-CIII-LRx, (ISIS 678354) in doppio cieco, randomizzato, controllato con placebo volto a valutare la sicurezza e la tollerabilità di differenti dosi e regimi posologici di ISIS 678354 nel ridurre i trigliceridi in una coorte di pazienti ipertrigliceridemici con malattia vascolare conclamata (104).

Conclusioni

Sia gli studi condotti sui modelli animali che nell'uomo hanno stabilito con chiarezza come la modulazione genetica e farmacologica di apoC-III abbia un impatto significativo sui livelli delle TRL e dei loro *remnant*. Queste lipoproteine sono considerate di grande interesse da parte della comunità scientifica per il loro ruolo causale nella malattia cardiovascolare. Come ulteriore dato molto importante, l'inibizione farmacologica di apoC-III ha mostrato recentemente risultati promettenti nella cura di malattie gravi, associate ad elevata mortalità e complicanze, quali la FCS.

Tutti questi dati supportano con forza l'importanza di apoC-III come modulatore della cascata lipolitica riservando alla sua inibizione un ruolo centrale per lo sviluppo delle nuove terapie per l'ipertrigliceridemia.

RIASSUNTO

L'ipertrigliceridemia è un disordine complesso, nella maggior parte dei casi di natura poligenica, che colpisce circa il 27% della popolazione generale. La severità dell'ipertrigliceridemia correla con diversi tipi di complicanze. È nota infatti, l'associazione tra ipertrigliceridemia lieve-moderata e rischio cardiovascolare e ipertrigliceridemia severa (trigliceridi >1.000 mg/dl) e rischio di pancreatite acuta. La apolipoproteina C-III (apoC-III) ha un ruolo critico nell'influenzare il metabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi attraverso tre principali meccanismi:

- 1) favorisce l'assemblaggio e la produzione delle VLDL a livello epatico;
- 2) inibisce l'attività della lipoprotein lipasi;
- 3) interferisce con il legame dell'ApoB o ApoE ai recettori epatici, rallentando la rimozione delle TRL e dei loro residui (*remnants*).

Sia gli studi condotti su modelli animali che nell'uomo, hanno dimostrato come apoC-III correli in modo diretto con l'elevazione delle concentrazioni di trigliceridi circolanti mentre bassi o assenti livelli di apoC-III ne determinino una riduzione. Una grande mole di evidenze ha mostrato come nell'uomo le mutazioni con perdita di funzione del gene APOC-III si associno a basso rischio di malattia aterosclerotica. Tutti questi dati hanno evidenziato la possibilità di utilizzare apoC-III come target terapeutico nell'ipertrigliceridemia. Sebbene alcuni farmaci in commercio siano in grado di ridurre i livelli di apoC-III circolanti, spesso non sono sufficienti a raggiungere gli obiettivi terapeutici. Per tale motivazione è stato recentemente formulato un Oligonucleotide Antisense (ASO) in grado di ridurre l'mRNA di apoC-III (Volanesorsen) e conseguentemente, ridurre la trigliceridemia. In questa rassegna mostriamo le evidenze scientifiche relative il ruolo di apoC-III nel metabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TRL) mostrando la sua importanza come possibile target terapeutico per la cura sia dell'ipertrigliceridemia severa (e le sue complicanze quali la pancreatite acuta) che del rischio cardiovascolare associato ad elevati livelli di trigliceridi.

Parole chiave: *ApoCIII, ipertrigliceridemie severe, nuove terapie farmacologiche.*

Bibliografia

1. Kastelein JJ. Decade in review-dyslipidaemia: resurgence of targets and compounds to treat dyslipidaemia. *Nat Rev Cardiol.* 2014; 11: 629-631.
2. Brewer HB Jr, Shulman R, Herbert P, et al. The complete amino acid sequence of alanine apolipoprotein (apoC-3), and apolipoprotein from human plasma very low-density lipoproteins. *J Biol Chem.* 1974; 249: 4975-4984.
3. Yassine HN, Trencheska O, Ramrakhiani A, et al. The association of human apolipoprotein C-III sialylation proteoforms with plasma triglycerides. *PLoS One.* 2015; 10: e0144138.
4. Vaith P, Assmann G, Uhlenbruck G. Characterization of the oligosaccharide side chain of apolipoprotein C-III from human plasma very low-density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta.* 1978; 541: 234-240.
5. Yao Z. Human apolipoprotein C-III - a new intrahepatic protein factor promoting assembly and secretion of very low-density lipoproteins. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2012; 12: 133-140.
6. Sacks FM. The crucial roles of apolipoproteins E and C-III in apoB lipoprotein metabolism in normolipidemia and hypertriglyceridemia. *Curr Opin Lipidol.* 2015; 26: 56-63.
7. Norum RA, Lakier JB, Goldstein S, et al. Familial deficiency of apolipoproteins A-I and C-III and precocious coronary-artery disease. *N Engl J Med.* 1982; 306: 1513-1519.
8. Pollin TI, Damcott CM, Shen H, et al. A null mutation in human APOC3 confers a favorable plasma lipid profile and apparent cardioprotection. *Science.* 2008; 322: 1702-1705.
9. Jorgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Loss-of-function mutations in APOC3 and risk of ischemic vascular disease. *N Engl J Med.* 2014; 371: 32-41.
10. Crosby J, Peloso GM, Auer PL, et al. Loss-of-function mutations in APOC3, triglycerides, and coronary disease. *N Engl J Med.* 2014; 371: 22-31.
11. Jong MC, Hofker MH, Havekes LM. Role of ApoCs in lipoprotein metabolism: functional differences between ApoC1, ApoC2, and ApoC3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19: 472-484.
12. Chan DC, Chen MM, Ooi EM, Watts GF. An ABC of apolipoprotein C-III: a clinically useful new cardiovascular risk factor? *Int J Clin Pract.* 2008; 62: 799-809.
13. Caron S, Verrijken A, Mertens I, et al. Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31: 513-519.
14. Pavlic M, Valero R, Duez H, et al. Triglyceride-rich lipoprotein-associated apolipoprotein C-III production is stimulated by plasma free fatty acids in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28: 1660-1665.
15. Hernandez C, Molusky M, Li Y, et al. Regulation of hepatic ApoC3 expression by PGC-1beta mediates hypolipidemic effect of nicotinic acid. *Cell Metab.* 2010; 12: 411-419.

16. Laffitte BA, Chao LC, Li J, et al. Activation of liver X receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100: 5419-5424.
17. Morton AM, Furtado JD, Lee J, et al. The effect of omega-3 carboxylic acids on apolipoprotein CII-containing lipoproteins in severe hypertriglyceridemia. *J Clin Lipidol*. 2016; 10: 1442. e4-1451.e4.
18. Hertz R, Bishara-Shieban J, Bar-Tana J. Mode of action of peroxisome proliferators as hypolipidemic drugs. Suppression of apolipoprotein C-III. *J Biol Chem*. 1995; 270: 13470-13475.
19. Chen M, Breslow JL, Li W, Leff T. Transcriptional regulation of the apoC-III gene by insulin in diabetic mice: correlation with changes in plasma triglyceride levels. *J Lipid Res*. 1994; 35: 1918-1924.
20. Gruber PJ, Torres-Rosado A, Wolak ML, Leff T. Apo CIII gene transcription is regulated by a cytokine inducible NF-kappa B element. *Nucleic Acids Res*. 1994; 22: 2417-2422.
21. Ramms B, Gordts PLSM. Apolipoprotein CIII in triglyceride- rich lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2018; 29: 171-179.
22. Ito Y, Azrolan N, O'Connell A, et al. Hypertriglyceridemia as a result of human apo CIII gene expression in transgenic mice. *Science*. 1990; 249: 790-793.
23. Jong MC, Rensen PC, Dahlmans VE, et al. Apolipoprotein C-III deficiency accelerates triglyceride hydrolysis by lipoprotein lipase in wild-type and apoE knockout mice. *J Lipid Res*. 2001; 42: 1578-1585.
24. Shachter NS, Ebara T, Ramakrishnan R, et al. Combined hyperlipidemia in transgenic mice overexpressing human apolipoprotein CII. *J Clin Invest*. 1996; 98: 846-855.
25. Shachter NS, Hayek T, Leff T, et al. Overexpression of apolipoprotein CII causes hypertriglyceridemia in transgenic mice. *J Clin Invest*. 1994; 93: 1683-1690.
26. Merkel M, Loeffler B, Kluger M, et al. Apolipoprotein AV accelerates plasma hydrolysis of triglyceride-rich lipoproteins by interaction with proteoglycan bound lipoprotein lipase. *J Biol Chem*. 2005; 280: 21553-21560.
27. Kypreos KE, Li X, van Dijk KW, et al. Molecular mechanisms of type III hyperlipoproteinemia: The contribution of the carboxy-terminal domain of ApoE can account for the dyslipidemia that is associated with the E2/E2 phenotype. *Biochemistry*. 2003; 42: 9841-9853.
28. Fong LG, Young SG, Beigneux AP, et al. GPIIb/IIIa and plasma triglyceride metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2016; 27: 455-469.
29. Larsson M, Allan CM, Jung RS, et al. Apolipoprotein C-III inhibits triglyceride hydrolysis by GPIIb/IIIa-bound LPL. *J Lipid Res*. 2017; 58: 1893-1902.
30. Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, et al. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med*. 2014; 371: 2200-2206.
31. Gordts PL, Nock R, Son NH, et al. ApoC-III inhibits clearance of triglyceride rich lipoproteins through LDL family receptors. *J Clin Invest*. 2016; 126: 2855-2866.
32. Foley EM, Gordts PL, Stanford KI, et al. Hepatic remnant lipoprotein clearance by heparan sulfate proteoglycans and low-density lipoprotein receptors depend on dietary conditions in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013; 33: 2065-2074.
33. Gonzales JC, Gordts PLM, Foley EM, Esko JD. Apolipoproteins E and AV mediate lipoprotein clearance by hepatic proteoglycans. *J Clin Invest*. 2013; 23: 2742-2751.
34. Aalto-Setälä K, Fisher EA, Chen X, et al. Mechanism of hypertriglyceridemia in human apolipoprotein (apo) CIII transgenic mice. Diminished very low-density lipoprotein fractional catabolic rate associated with increased apo CIII and reduced apo E on the particles. *J Clin Invest*. 1992; 90: 1889-1900.
35. Breyer ED, Le NA, Li X, et al. Apolipoprotein C-III displacement of apolipoprotein E from VLDL: effect of particle size. *J Lipid Res*. 1999; 40: 1875-1882.
36. Ebara T, Ramakrishnan R, Steiner G, Shachter NS. Chylomicronemia due to apolipoprotein CIII overexpression in apolipoprotein E-null mice. Apolipoprotein CIII-induced hypertriglyceridemia is not mediated by effects on apolipoprotein E. *J Clin Invest*. 1997; 99: 2672-2681.
37. Mahley RW, Huang Y, Rall SC Jr. Pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia). Questions, quandaries, and paradoxes. *J Lipid Res*. 1999; 40: 1933-1949.
38. Sundaram M, Zhong S, Bou Khalil M, et al. Expression of apolipoprotein C-III in McA-RH7777 cells enhances VLDL assembly and secretion under lipid-rich conditions. *J Lipid Res*. 2010; 51: 150-161.
39. Yao Z, Wang Y. Apolipoprotein C-III and hepatic triglyceride-rich lipoprotein production. *Curr Opin Lipidol*. 2012; 23: 206-212.
40. Cohn JS, Patterson BW, Uffelman KD, Davignon J, Steiner G. Rate of production of plasma and very-low-density lipoprotein (VLDL) apolipoprotein C-III is strongly related to the concentration and level of production of VLDL triglyceride in male subjects with different body

- weights and levels of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 3949-3955.
41. Zheng C, Khoo C, Furtado J, Sacks FM. Apolipoprotein C-III and the metabolic basis for hypertriglyceridemia and the dense low-density lipoprotein phenotype. *Circulation.* 2012; 121: 1722-1734.
 42. Chan DC, Nguyen MN, Watts GF, Barrett PH. Plasma apolipoprotein C-III transport in centrally obese men: associations with very low-density lipoprotein apolipoprotein B and high-density lipoprotein apolipoprotein A-I metabolism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93: 557-564.
 43. Kawakami A, Aikawa M, Alcaide P, Lusinskas FW, Libby P, Sacks FM. Apolipoprotein CIII induces expression of vascular cell adhesion molecule-1 in vascular endothelial cells and increases adhesion of monocytic cells. *Circulation.* 2006; 114: 681-687.
 44. Kawakami A, Aikawa M, Libby P, Alcaide P, Lusinskas FW, Sacks FM. Apolipoprotein CIII in apolipoprotein B lipoproteins enhances the adhesion of human monocytic cells to endothelial cells. *Circulation.* 2006; 113: 691-700.
 45. Zheng C, Azcutia V, Aikawa E, et al. Statins suppress apolipoprotein CIII induced vascular endothelial cell activation and monocyte adhesion. *Eur Heart J.* 2013; 34: 615-624.
 46. Dai L, Chu SP, Wang ZH, Ni HB, Ding X, Tao Y, Ding Y, Ju SQ, Yu J. APOC3 promotes TNF- α induced expression of JAM-1 in endothelial cell via PI3K-IKK2-p65 pathway. *Cardiovasc Pathol.* 2019; 41: 11-17.
 47. Christopoulou E, Tsimihodimos V, Filippatos T, Elisaf M. Apolipoprotein CIII and diabetes. Is there a link? *Diabetes Metab Res Rev.* 2019; 35: e3118.
 48. Talmud PJ, Humphries SE. Apolipoprotein C-III gene variation and dyslipidaemia. *Curr Opin Lipidol.* 1997; 8: 154-158.
 49. Waterworth DM, Talmud PJ, Bujac SR, et al. Contribution of apolipoprotein CIII gene variants to determination of triglyceride levels and interaction with smoking in middle-aged men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 2663-2669.
 50. Dorfmeister B, Cooper JA, Stephens JW, et al. The effect of APOA5 and APOC3 variants on lipid parameters in European Whites, Indian Asians and Afro-Caribbeans with type 2 diabetes. *Biochim Biophys Acta.* 2007; 1772: 355-363.
 51. Waterworth DM, Talmud PJ, Humphries SE, et al. Variable effects of the APOC3-482C >T variant on insulin, glucose and triglyceride concentrations in different ethnic groups. *Diabetologia.* 2001; 44: 245-248.
 52. Igartua C, Mozaffari SV, Nicolae DL, Ober C. Rare noncoding variants are associated with plasma lipid traits in a founder population. *Sci Rep.* 2017; 7: 16415.
 53. Drenos F, Davey Smith G, Ala-Korpela M, et al. Metabolic characterization of a rare genetic variation within APOC3 and its lipoprotein lipase-independent effects. *Circ Cardiovasc Genet* 2016; 9: 231-239.
 54. Song Y, Zhu L, Richa M, Li P, Yang Y, Li S. Associations of the APOC3 rs5128 polymorphism with plasma APOC3 and lipid levels: a meta-analysis. *Lipids Health Dis.* 2015; 14: 32.
 55. Li WW, Dammerman MM, Smith JD, Metzger S, Breslow JL, Leff T, Common genetic variation in the promoter of the human apo CIII gene abolishes regulation by insulin and may contribute to hypertriglyceridemia. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 2601-2605.
 56. van Capelleveen JC, Bernelot Moens SJ, Yang X, et al. Apolipoprotein C-III levels and incident coronary artery disease risk: the EPIC-Norfolk prospective population study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017; 37: 1206-1212.
 57. von Eckardstein A, Holz H, Sandkamp M, Weng W, Funke H, Assmann G. Apolipoprotein C-III (Lys58Glu). Identification of an apolipoprotein C-III variant in a family with hyperalphalipoproteinemia. *J Clin Invest.* 1991; 87: 1724-1731.
 58. Liu H, Labeur C, Xu CF, et al. Characterization of the lipid-binding properties and lipoprotein lipase inhibition of a novel apolipoprotein C-III variant Ala23Thr. *J Lipid Res.* 2000; 41: 1760-1771.
 59. Sundaram M, Zhong S, Bou Khalil M, et al. Functional analysis of the missense APOC3 mutation Ala23Thr associated with human hypotriglyceridemia. *J Lipid Res.* 2010; 51: 1524-1534.
 60. Qin W, Sundaram M, Wang Y, et al. Missense mutation in APOC3 within the C-terminal lipid binding domain of human ApoC-III results in impaired assembly and secretion of triacylglycerol-rich very low-density lipoproteins: evidence that ApoC-III plays a major role in the formation of lipid precursors within the microsomal lumen. *J Biol Chem.* 2011; 286: 27769-27780.
 61. Maeda H, Hashimoto RK, Ogura T, Hiraga S, Uzawa H. Molecular cloning of a human apoC-III variant: Thr74Ala mutation prevents O-glycosylation. *J Lipid Res.* 1987; 28: 1405-1409.
 62. Pullinger CR, Malloy MJ, Shahidi AK, et al. A novel apolipoprotein C-III variant, apoC-III (Gln-38Lys), associated with moderate hypertriglyc-

- eridemia in large kindred of Mexican origin. *J Lipid Res.* 1997; 38: 1833-1840.
63. Pollin TI, Damcott CM, Shen Het al. A null mutation in human APOC3 confers a favorable plasma lipid profile and apparent cardioprotection. *Science.* 2008; 322: 1702-1705.
 64. Cohen JC, Stender S, Hobbs HH. APOC3, coronary disease, and complexities of Mendelian randomization. *Cell Metab.* 2014; 20: 387-389.
 65. Ginsberg HN, Brown WV. Apolipoprotein CIII: 42 years old and even more interesting. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31: 471-473.
 66. TG and HDL Working Group of the Exome Sequencing Project, National Heart, Lung, and Blood Institute, Crosby J, Peloso GM, Auer PL, Crosslin DR et al. Loss-of-function mutations in APOC3, triglycerides, and coronary disease. *N Engl J Med.* 2014; 371: 22-31.
 67. Saleheen D, Natarajan P, Armean IM, Zhao W, Rasheed A, Khetarpal SA, et al. Human knockouts and phenotypic analysis in a cohort with a high rate of consanguinity. *Nature.* 2017; 544: 235-239.
 68. Nordestgaard BG. Triglyceride-rich lipoproteins and atherosclerotic cardiovascular disease: new insights from epidemiology, genetics, and biology. *Circ Res.* 2016; 118: 547-563.
 69. Varbo A, Benn M, Tybjaerg-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.
 70. Jørgensen AB, Frikke-Schmidt R, West AS, Grande P, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. Genetically elevated non-fasting triglycerides and calculated remnant cholesterol as causal risk factors for myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2013; 34: 1826-1833.
 71. Varbo A, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Jørgensen AB, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG. Remnant cholesterol as a causal risk factor for ischemic heart disease. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61: 427-436.
 72. Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet.* 2014; 384: 626-635.
 73. Khera AV, Won HH, Peloso GM, et al. Myocardial Infarction Genetics Consortium; DiscovEHR Study Group; CARDIoGRAM Exome Consortium; and Global Lipids Genetics Consortium. Association of rare and common variation in the lipoprotein lipase gene with coronary artery disease. *JAMA.* 2017; 317: 937-946.
 74. Helgadóttir A, Gretarsdóttir S, Thorleifsson G, et al. Variants with large effects on blood lipids and the role of cholesterol and triglycerides in coronary disease. *Nat Genet.* 2016; 48: 634-639.
 75. Wulff AB, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. APOC3 Loss-of-Function Mutations, Remnant Cholesterol, Low-Density Lipoprotein Cholesterol, and Cardiovascular Risk: Mediation- and Meta-Analyses of 137 895 Individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2018; 38: 660-668.
 76. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, et al. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011; 123: 2292-2233.
 77. Norata GD, Tsimikas S, Pirillo A, Catapano AL. Apolipoprotein C-III: From Pathophysiology to Pharmacology. *Trends Pharmacol Sci.* 2015; 36: 675-687.
 78. Gouni-Berthold I, Berthold HK. Antisense oligonucleotides for the treatment of dyslipidemia. *Curr Pharm Des.* 2011; 17: 950-960.
 79. Ito MK. ISIS 301012 gene therapy for hypercholesterolemia: sense, antisense, or nonsense? *Ann Pharmacother.* 2007; 41: 1669-1678.
 80. Aboul-Fadl T. Antisense oligonucleotides: the state of the art. *Curr Med Chem.* 2005; 12: 2193-2214.
 81. Chan JH, Lim S, Wong WS. Antisense oligonucleotides: from design to therapeutic application. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2006; 33: 533-540.
 82. Graham MJ, Lee RG, Bell TA, III, Fu W, Mullick AE, Alexander VJ, et al. Antisense oligonucleotide inhibition of apolipoprotein C-III reduces plasma triglycerides in rodents, nonhuman primates, and humans. *Circ Res.* 2013; 112: 1479-1490.
 83. Gaudet D, Brisson D, Tremblay K, Alexander VJ, Singleton W, Hughes SG, et al. Targeting APOC3 in the familial chylomicronemia syndrome. *N Engl J Med.* 2014; 371: 2200-2206.
 84. Surendran RP, Visser ME, Heemelaar S, Wang J, Peter J, Defesche JC, et al. Mutations in LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1 and LMF1 in patients with severe hypertriglyceridaemia. *J Intern Med.* 2012; 272: 185-196.
 85. Brahm AJ, Hegele RA. Chylomicronaemia-current diagnosis and future therapies. *Nat Rev Endocrinol.* 2015; 11: 352-362.
 86. Chait A, Brunzell JD. Chylomicronemia syndrome. *Adv Intern Med.* 1992; 37: 249-273.
 87. Tremblay K, Methot J, Brisson D, Gaudet D. Etiology and risk of lactescent plasma and severe hypertriglyceridemia. *J Clin Lipidol.* 2011; 5: 37-44.

88. Gaudet D, Methot J, Dery S, Brisson D, Essiembre C, Tremblay G, et al. Efficacy and long-term safety of alipogene tiparvovec (AAV1-LPLS447X) gene therapy for lipoprotein lipase deficiency: an open-label trial. *Gene Ther.* 2013; 20: 361-369.
89. <https://www.chiesi.com/glybera-in-europa/>, ultimo accesso 2 maggio 2019
90. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA guideline on the management of blood cholesterol: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2018.
91. Gaudet D, Alexander VJ, Baker BF, Brisson D, Tremblay K, Singleton W, et al. Antisense Inhibition of Apolipoprotein C-III in Patients with Hypertriglyceridemia. *N. Engl J Med.* 2015; 373: 438-447.
92. Digenio A, Dunbar RL, Alexander VJ, Hompesch M, Morrow L, Lee RG, et al. Antisense-mediated lowering of plasma apolipoprotein C-III by volanesorsen improves dyslipidemia and insulin sensitivity in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2016; 39: 1408-1415.
93. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02211209>, ultimo accesso 2 maggio 2019
94. Gaudet D, Digenio A, Alexander VJ, et al. The APPROACH study: a randomized double-blind placebo-controlled, phase 3 study of volanesorsen administered subcutaneously to patients with FCS. *Athero Suppl.* 2017; 263: e10.
95. Hegele RA, Berberich AJ, Ban MR, Wang J, Digenio A, Alexander VJ, et al. Gaudet. Clinical and biochemical features of different molecular etiologies of familial chylomicronemia. *J Clin Lipidol.* 2018; 12: 920-927.e4
96. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02300233>, ultimo accesso 2 maggio 2019
97. Gelrud A, Digenio A, Alexander VJ, Williams KR, Hsieh A, Gouni-Berthold I, et al. Treatment with volanesorsen (VLN) reduced triglycerides and pancreatitis in patients with FCS and sHTG vs placebo: results of the APPROACH and COMPASS Studies. *Athero Suppl.* 2018; 32: 157.
98. Gouni-Berthold I, Alexander V, Digenio A, Dufour R, Steinhagen-Thiessen E, Martin S, et al. Apolipoprotein C-III Inhibition with volanesorsen in patients with hypertriglyceridemia (COMPASS): a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Athero Suppl.* 2017; 28: e1-e2.
99. Arca M, Hsieh A, Soran H, Rosenblit P, O'Dea L, Stevenson M. The effect of volanesorsen treatment on the burden associated with familial chylomicronemia syndrome: the results of the ReFOCUS study. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2018; 16: 537-546.
100. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02527343>, ultimo accesso 2 maggio 2019
101. Joseph J, Shamburek RD, Cochran EK, Gorden P, Brown RJ. Lipid regulation in lipodystrophy versus the obesity-associated metabolic syndrome: the dissociation of HDL-C and triglycerides. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99: E1676-80.
102. Kassai A, Muniyappa R, Levenson AE, Walter MF, Abel BS, Ring M, et al. Effect of Leptin Administration on Circulating Apolipoprotein CIII levels in Patients With Lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101: 1790-1797.
103. Alexander VJ, Digenio A, Xia S, Hurh E, Hughes S, Geary RS, et al. Inhibition of apolipoprotein C-III with GalNac conjugated antisense drug potently lowers fasting serum apolipoprotein C-III and triglyceride levels in healthy volunteers with elevated triglycerides. *J Am Coll Cardiol.* 2018; 71: A1724.
104. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03385239>, ultimo accesso 2 maggio 2019

FATTORI DI PROTEZIONE

LIVELLI MOLTO BASSI DI LDL E RISCHIO CARDIOVASCOLARE: DALLE EVIDENZE GENETICHE A QUELLE DEI TRIAL CLINICI

Very low levels of LDL and cardiovascular risk: from genetic to clinical trial evidence

PATRIZIA TARUGI¹, DAVIDE NOTO²¹Dipartimento Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena;²Dipartimento Biomedico di Medicina Clinica e Specialistica (DIBIMIS),
Università degli Studi di Palermo**SUMMARY**

Cardiovascular disease (CV) is still the main cause of mortality and morbidity in both industrialized and developing populations. For this reason the pharmaceutical industry has continued to develop new molecules capable of achieving more ambitious goals in order to prevent the greatest number of CV events. Among these molecules the anti proconvertase-subtilisin-kexin 9 monoclonal antibodies (anti-PCSK9-Mab) have been shown to be able to reach very low levels of LDL-C (even lower than 20 mg/dL) in addition to conventional therapy. The anti-PCSK9 Mab allowed to clarify some controversial aspects in the context of lipid-lowering therapy. In addition to clarifying that reducing the LDL-C to extremely low levels continues to reduce the CV risk, they have also clarified how the reduction in CV risk is obtained by reducing the LDL-C with any strategy and not for particular "pleiotropic" effects of drugs. However, the extremely low levels of LDL-C reached in the trials have caused concern, in the hypothesis that they are pathological levels. In fact, there are genetic models of hypocholesterolemia that we can use to assess which clinical risks we run to maintain extremely low levels of LDL-C throughout life, and in particular there is a model of PCSK9 deficiency that exactly mimics the therapeutic effect of Anti-PCSK9-Mab. The purpose of this review is to illustrate the effect of Mabs on CV risk reduction and to predict what the long-term effects of this continuous therapy might be by describing the models of low cholesterol genetic syndromes.

Keywords: *Monoclonal anti-PCSK9, hypobetalipoproteinemia type 1, hypobetalipoproteinemia type 2, cardiovascular risk, clinical trials.*

Introduzione

La malattia cardiovascolare rappresenta ancora oggi la principale causa di mortalità in tutto il mondo. Nonostante i primi trial con statine, risalenti a più di due

Indirizzo per la corrispondenza

Patrizia Tarugi, Davide Noto
Università di Modena e di Palermo
E-mail: patriziamaria.tarugi@unimore.it
notoddd@gmail.com

decadi fa (1-3), abbiano dimostrato che la riduzione dei livelli di colesterolo comporta la riduzione degli eventi cardiovascolari (CV), ad oggi rimane una notevole quota di pazienti che sviluppano eventi CV anche nel contesto dei trials controllati. Una delle evidenze scaturite in questi venti anni è che la riduzione farmacologica dei livelli di colesterolo continua a mostrare benefici in termini di risparmio di eventi anche per valori considerati bassi (4). Questi nuovi obiettivi di LDL-C sono diventati talmente importanti nella prevenzione CV (5) da determinare la nascita di una serie di nuove molecole in grado di raggiungere livelli di LDL-C fino ad oggi proibitivi per le molecole convenzionali. Gli anticorpi monoclonali anti proconvertasi-subtilisina-kexina 9 (anti-PCSK9-Mab) sono sicuramente i nuovi farmaci che hanno avuto maggiore successo. Attualmente in Italia sono disponibili due prodotti, Alirocumab (6) ed Evolocumab (7), mentre il Bocosizumab non ha superato i trials di fase III (8). Entrambe le molecole hanno iniziato la fase di commercializzazione in Italia ed è divenuto subito evidente come tale terapia, in aggiunta alla terapia convenzionale, abbia premesso di raggiungere livelli

di LDL-C mai raggiunti prima, anche al di sotto dei 20 mg/dL. Esiste una serie di quesiti che la comunità scientifica si pone alla luce di tali risultati, tra i quali se realmente esistano benefici ulteriori nel raggiungere livelli così bassi di LDL-C, se tali livelli siano sicuri per l'organismo umano e se sia possibile prevedere quali siano gli effetti collaterali collegati a questa nuova patologia. Per rispondere a questi quesiti è possibile prendere in considerazione il modello delle sindromi genetiche a basso colesterolo (SGBC).

Le SGBC comprendono un gruppo eterogeneo di disordini monogenici caratterizzati da bassi livelli plasmatici di colesterolo totale (CT) e di alcune classi di lipoproteine deputate al trasporto dei lipidi di origine endogena (VLDL e LDL) ed esogena (Chilomicroni). Queste lipoproteine sono denominate lipoproteine contenenti apoB poiché la loro principale componente proteica strutturale è l'apolipoproteina B (apoB) (9). Le VLDL, sintetizzate nel fegato, e le LDL, prodotto del loro catabolismo intravascolare, contengono apoB-100, una proteina di 4.536 aminoacidi. I chilomicroni (CM) contengono apoB-48 (una proteina di 2.152 aminoacidi corrispondente al 48% amino-terminale dell'apoB-100) che viene sintetizzata nell'intestino. ApoB-100 e apoB-48 sono codificate dallo stesso gene (gene APOB) (9, 10). L'assemblaggio di CM e VLDL avviene, rispettivamente nell'intestino e nel fegato, a livello ribosomiale durante la sintesi di apoB (evento co-traduzionale): mentre la regione COOH-terminale si sta sintetizzando, la regione NH-terminale viene traslocata nel lume del reticolo endoplasmatico (RE) dove avviene l'assemblaggio con i lipidi. La lipidizzazione dell'apoB nascente, cioè il trasferimento di lipidi neutri dalle membrane del RE alla molecola di apoB nascente, richiede

Bullet Points

- I trial clinici con anti-PCSK9 Mab hanno dimostrato l'efficacia e la sicurezza della terapia di inibizione del PCSK9 con Mab.
- Gli anti-PCSK9 Mab si sono dimostrati un efficace trattamento ipolipemizzante in pazienti ad alto rischio cardiovascolare consentendo di raggiungere livelli di LDL-C molto bassi (<20 mg/dL) e riduzione di eventi cardiovascolari.
- Gli anti-PCSK9 Mab non hanno mostrato effetti collaterali rilevanti a medio e lungo termine.
- Alcuni disordini monogenici con fenotipo "basso colesterolo" mostrano come livelli molto bassi di LDL-C, mantenuti per tutta la vita, sono associati ad una netta riduzione del rischio cardiovascolare.

l'intervento della proteina MTP (Microsomal Triglyceride Transfer Protein), una molecola "chaperone" presente nel lume del RE sia degli epatociti che degli enterociti (10). L'MTP interagisce con la regione NH-terminale dell'apoB nascente formando un dominio in grado di reclutare i lipidi e iniziare l'assemblaggio della particella lipoproteica. L'interazione tra MTP e apoB è necessaria non solo per il processo di lipidizzazione ma anche per la corretta e completa traslocazione dell'apoB nascente nel lume del RE e per il mantenimento del corretto "folding" dell'apoB. La lipidizzazione iniziale porta alla formazione di particelle lipoproteiche primordiali parzialmente lipidate. L'MTP promuove anche la mobilizzazione di vescicole ricche in trigliceridi (TG) dalla membrana del RE liscio verso il lume del reticolo stesso dove costituiscono le "vescicole lipidiche del lume". Nel lume del RE, le lipoproteine primordiali si fondono con le "vescicole lipidiche del lume" per essere trasferite all'apparato di Golgi dove acquisiscono una maggior quantità di lipidi, apoAI ed ApoA-II formando delle lipoproteine mature destinate alla secrezione (11-13). Il trasporto vescicolare intracellulare di CM e VLDL nella via secretoria è mediato dal complesso COPII (Coat Protein Complex II). Una subunità proteica fondamentale di questo complesso è la proteina SAR1B, GTPasi responsabile della formazione delle vescicole grazie al reclutamento di componenti del complesso COPII (Sec 23, Sec 24, Sec13/Sec31). La proteina SAR1B è essenziale per il trasporto vescicolare dei CM nell'enterocita (11) ma sembra avere un ruolo anche nella secrezione epatica delle VLDL (13). Nelle SGBC i ridotti livelli plasmatici di CT sono generalmente dovuti alla ridotta concentrazione delle LDL dato che due terzi del colesterolo plasmatico sono trasportati da

Le Ipobetalipoproteinemie possono inquadrarsi in due categorie:

- 1) Ipobetalipoproteinemie secondarie cioè dovute ad un'alterazione metabolica in corso di svariate condizioni patologiche (quali ad es. malnutrizione, ipertiroidismo, epatopatie gravi, malattie infettive, neoplasie).
- 2) Ipobetalipoproteinemie primitive, disordini primari del metabolismo dovuti a cause genetiche. Possono essere monogeniche (cioè dovute a difetti di un singolo gene) ovvero poligeniche dovute al concorso di più difetti genici in combinazione con eventuali fattori ambientali.

queste lipoproteine; in molti casi ciò è associato anche ad una riduzione dei livelli di VLDL. Ridotti livelli di VLDL e LDL si esprimono con ridotti livelli di apoB definendo un profilo lipidico noto come ipobetalipoproteinemia (HBL) (*Box 1*). Ridotti livelli di CT possono essere anche dovuti ad una combinazione di bassi livelli di LDL associati a bassi livelli HDL, quindi una riduzione sia di apoB che di apoA-I, quadro noto come ipolipemia combinata. Dal punto di vista fisiopatologico le HBL primitive si distinguono in due categorie: HBL dovute a difetto di secrezione delle lipoproteine contenenti apoB da parte del fegato e/o dell'intestino e HBL dovute ad aumentato catabolismo epatico di queste lipoproteine conseguente ad una aumentata cattura da parte del fegato (9).

Lo scopo principale di questa review è quello di rivisitare il meccanismo di azione, i risultati ottenuti dalla sperimentazione clinica degli anti-PCSK9-Mab, e di confrontare questi dati con i modelli genetici di SGBC allo scopo di comprendere se livelli estremamente bassi di LDL-C siano efficaci nel ridurre la malattia CV. In questa trattazione verranno anche considerati brevemente i possibili effetti collaterali a medio-lungo termine, anche alla luce dei dati clinici scaturiti dalla rivisitazione della letteratura pubblicata sui casi di SGBC.

Le Ipocolesterolemie primitive

Ipobetalipoproteinemia familiare tipo 1 da mutazioni del gene APOB

L'Ipobetalipoproteinemia familiare tipo 1 (FHBL-1, OMIM# 615558) è la principale forma di HBL monogenica a trasmissione dominante (9, 14, 15). Nel 50% dei casi FHBL-1 è dovuta a mutazioni del gene APOB che si traducono in difetti di assemblaggio e secrezione di lipoproteine contenenti apoB (15). La maggior parte dei soggetti FHBL-1 sono portatori eterozigoti di varianti patogenetiche "nonsense" e "frameshift" del gene APOB che interferiscono con la traduzione completa dell'mRNA codificante l'apoB, determinando la formazione di forme troncate di apoB (9, 14). Le apoB troncate hanno dimensioni variabili a seconda della localizzazione della mutazione nel gene APOB e vengono denominate secondo una nomenclatura in centili rispetto all'apoB-100 (es. apoB-20 cioè corrispondente al 20% dell'apoB-100). Le apoB troncate hanno una ridotta capacità di legare i lipidi per formare lipoproteine mature destinate alla secrezione da parte del fegato e/o intestino. Le apoB troncate di dimensioni inferiori ad apoB-29/30 non vengono secrete né dal fegato

né dall'intestino come costituenti di VLDL e CM. Quando le mutazioni del gene APOB producono apoB troncate più lunghe dell'apoB-48 il difetto di secrezione è confinato al fegato; il difetto di secrezione di VLDL da parte del fegato è responsabile della steatosi epatica che si riscontra frequentemente in questi pazienti (9). Quando le forme troncate sono più corte dell'apoB-48, il difetto di secrezione interessa sia la produzione epatica di VLDL che di CM nell'intestino. Fino ad ora sono state riportate in letteratura solo alcune mutazioni del gene APOB che determinano la sostituzione di singoli amminoacidi come causa di FHBL-1. Queste mutazioni "missenso" (A31P, R463W, L343V, R505W) comportano una degradazione intracellulare dell'apoB mutata interferendo con la capacità dell'apoB di formare lipoproteine (16-19). Nei soggetti FHBL-1, il difetto di secrezione di lipoproteine contenenti apoB comporta una ridotta secrezione di lipidi in circolo (diminuzione dei livelli plasmatici di VLDL, LDL e talvolta CM) con conseguente loro accumulo nelle cellule (epatociti e/o enterociti). La principale manifestazione clinica dell'FHBL-1 eterozigote è infatti una steatosi epatica di gravità variabile (*Tabella 1*) (9, 20). Meno

Tabella 1 - Caratteristiche cliniche delle principali ipocolesterolemie primitive dominanti.

	FHBL-1 da difetto di APOB	FHBL-1 da difetto di PCSK9	FHBL-2
Diabete mellito	NO	NO	NO
CVD	NO	NO	NO
Colelitiasi	SI	NO	NO
Steatosi epatica	SI	NO	NO
Cirrosi	SI	NO	NO
Epatocarcinoma	SI	NO	NO
Malassorbimento intestinale di lipidi	SI ¹	NO	NO

Nota: ¹FHBL-1 omozigoti/eterozigoti-composti per mutazioni che determinano apoB troncate di dimensioni inferiori ad apoB-48; FHBL-1 eterozigoti per apoB troncate di dimensioni inferiori ad apoB-48 e mutazioni "missenso", dopo un test da carico orale di grassi.

frequentemente è presente steatosi intestinale che si può presentare nei portatori di apoB troncate di dimensioni inferiori ad apoB-48 e di alcune mutazioni “missenso”; in questo caso i pazienti possono presentare, oltre a steatosi epatica, intolleranza ai grassi alimentari, e talvolta steatorrea moderata e malassorbimento intestinale in particolare dopo un pasto ricco in grassi (9, 15, 17). Il fenotipo clinico nei soggetti portatori di due alleli mutanti (omozigoti ed eterozigoti-composti) è molto più severo e variabile a seconda della troncatura dell'apoB. Soggetti omozigoti per forme troncate di apoB più corte dell'apoB-48, a causa della incapacità di formare CM nell'intestino, presentano, oltre alla steatosi epatica, diarrea, malassorbimento intestinale di lipidi (con conseguente ritardo di crescita e deficit di vitamine liposolubili) e complicanze a lungo termine come retinite pigmentosa e disfunzioni neurologiche (9, 21, 22). Il profilo lipidico nei soggetti FHBL-1 eterozigoti presenta una marcata riduzione dei livelli di CT, LDL-C ed apoB (~30% dei valori normali) mentre negli omozigoti i livelli di LDL-C ed apoB sono molto ridotti o indosabili (9, 15).

Ipoβetaliipoproteinemia familiare tipo 1 da mutazioni del gene PCSK9

In una minoranza di casi (circa il 2%) FHBL-1 è dovuta a mutazioni con perdita di funzione (LOF) del gene PCSK9 che determinano un aumentato catabolismo epatico delle lipoproteine contenenti apoB conseguente ad un maggiore “uptake” recettore-mediato delle LDL (9). La proteina PCSK9 fa parte della famiglia del PCSK, ma presenta caratteristiche peculiari non condivise con gli altri membri della famiglia, come la presenza di un dominio di tipo “annexin-like” all'estremo COOH-terminale (23) che le conferisce proprietà particolari. La proteina PCSK9 svolge un ruolo

fondamentale nel controllo del contenuto intracellulare di colesterolo regolando a livello epatico il numero dei recettori LDL (LDL-R) disponibili sulla superficie cellulare (24). Nel fegato, in condizioni di bassi livelli di colesterolo intracellulare, viene stimolata la trascrizione (SRBP-mediata) del gene PCSK9, che porta alla produzione della proteina PCSK9. La proteina PCSK9 matura viene secreta dagli epatociti e sulla superficie cellulare lega il recettore LDL (LDL-R). Il complesso PCSK9-Recettore LDL viene internalizzato ed il recettore indirizzato ai lisosomi per la degradazione anziché riciclare sulla membrana cellulare (24, 25). Mutazioni LOF del gene PCSK9, che inattivano la proteina PCSK9, sono associate ad un aumento del numero di LDL-R sulla membrana plasmatica degli epatociti. La mancata sintesi o il blocco del trasporto intracellulare di PCSK9, impedisce la secrezione della proteina che non è in grado di interagire con i LDL-R e quindi promuovere la loro degradazione lisosomiale. Di conseguenza si verifica un aumento del numero di recettori esposti a cui consegue un maggiore “uptake” di LDL. L'aumentata clearance delle LDL plasmatiche determina un fenotipo lipidico caratterizzato da bassi livelli di LDL, cioè un fenotipo HBL, simile a quello riscontrato nella FHBL-1 dovuta a mutazione del gene APOB (9, 26).

Nel 2005, in una popolazione multietnica, Cohen et al. (26) hanno identificato le prime due mutazioni LOF di PCSK9 (p.Y142X and p.C679X) in soggetti con ipocolesterolemia, prevalentemente di origine Afro-Americana. Altre mutazioni con effetto patogenetico sono poi state descritte in un paziente ipocolesterolemico Giapponese (p.W428X) (27), in una famiglia Italiana e in una coorte di soggetti con livelli di CT inferiori al 5° percentile della popolazione (p.A68fsL82X) (28). I portato-

ri eterozigoti di queste mutazioni “nonsense” presentavano una riduzione dei livelli di LDL-C variabile dal 30 al 70% rispetto ai soggetti non portatori. In un soggetto omozigote per la mutazione C679X ed in uno etero-composto portatore della mutazione Y142X e di una delezione in trama dell'Arginina in posizione 97 della proteina ($\Delta R97$), i livelli di LDL-C si riducevano dell'80% circa (29). Studi di popolazione hanno dimostrato che anche alcune sostituzioni di singoli aminoacidi di PCSK9 (ad esempio p.G236S, p.R237W, p.N354I and p.S462P) co-segregano con il fenotipo ipocolesterolemia e sono associate ad una riduzione variabile ma significativa dei livelli di LDL-C (4%-30%) (30). La mutazione “missenso” più studiata è la R46L, una variante relativamente rara presente nell'1.5% della popolazione, che in diverse popolazioni è risultata associata ad una riduzione di LDL-C di circa il 15% (31) rispetto alla popolazione generale. A differenza dell'FHBL-1 dovuta a mutazioni del gene APOB, i soggetti portatori di mutazioni LOF del gene PCSK9 sono asintomatici e privi di manifestazioni cliniche di rilievo in altri organi ed apparati (*Tabella 1*).

Ipobetalipoproteinemia familiare tipo 2 (FHBL-2) da mutazioni del gene ANGPTL3

L'ipobetalipoproteinemia familiare tipo 2 (FHBL-2, OMIM #605019) è una forma di HBL primitiva identificata da Musunuru et al. (32) definita ipolipemia familiare combinata per il singolare profilo lipidico caratterizzato da bassi livelli di lipoproteine contenenti apoB ed apoA-I. Questi autori hanno identificato in una grande famiglia quattro fratelli portatori di due mutazioni diverse nel gene ANGPTL3 (S17X/E129X), codificante la Angiopoietin-like protein 3, che si traducevano in una completa perdita di funzione della proteina e

sua assenza nel plasma. Lo stato di eterozigosi-composta per mutazioni “nonsense” di ANGPTL3 si associa a ridotti livelli plasmatici di CT, TG, LDL-C ed HDL-C. Altri individui omozigoti o eterozigoti-composti per mutazioni di ANGPTL3 causa di deficit completo di ANGPTL3, che presentavano il quadro di ipolipidemia familiare combinata sono stati identificati in famiglie Italiane (33, 34). Da una analisi di tutti i soggetti con deficit di ANGPTL3 è emerso che il deficit completo (individui omozigoti) si associa ad una riduzione di circa il 60-70% di tutti i parametri lipidici mentre il deficit parziale (individui eterozigoti) si associa ad una riduzione del 15-30%, riduzione che è maggiore per i TG e molto minore per HDL-C (34). La proteina ANGPTL3 appartiene alla famiglia delle proteine angiopoietina-simili ed insieme a ANGPTL8 e ANGPTL4, è coinvolta nel controllo dei livelli di TG nel plasma e nel bilancio energetico. ANGPTL3 viene sintetizzata nel fegato e dopo la sua secrezione viene attivata da parte di proteasi. La forma attiva interagisce a livello della superficie endoteliale con la lipasi lipoproteica (LPL). Questo legame determina un cambiamento conformazionale della LPL che si traduce in una inibizione della sua attività catalitica per l'idrolisi dei TG presenti in CM e VLDL. ANGPTL3 in condizioni fisiologiche inibisce anche la lipasi endoteliale (EL) e quindi favorisce l'idrolisi dei fosfolipidi delle HDL con la formazione di HDL di piccole dimensioni e instabili che vengono rimosse più velocemente dalla circolazione. Nel difetto genetico di ANGPTL3 la mancata inibizione di questi due enzimi si traduce in un'augmentata attività dei due enzimi lipolitici. Il profilo lipidico che si osserva nella FHBL-2 è il risultato della iperattivazione della LPL che spiega i ridotti livelli plasmatici di TG e della EL che spiega i ridotti livelli di HDL-C. Il meccanismo che causa

bassi livelli di LDL-C non è ancora completamente definito (35). La prevalenza delle mutazioni LOF del gene ANGPTL3 valutata in una coorte di individui della popolazione generale con profilo lipidico suggestivo di FHBL-2 è risultata del 10% (36). I soggetti portatori di mutazioni LOF del gene ANGPTL3 sono asintomatici (*Tabella 1*).

La terapia con anticorpi monoclonali anti-PCSK9

Alla luce di quanto detto precedentemente, la strategia della inibizione della PCSK9 con i Mab risulta particolarmente efficace poiché il ruolo principale di PCSK9 è quello di modulare il catabolismo dell'LDL-R. In realtà la PCSK9 esercita diverse funzioni anche in altri distretti, ma queste o non sono considerate sostanziali, come nella parete arteriosa (25) o nel tessuto adiposo (25), o si svolgono in compartimenti non accessibili agli anticorpi, come quello cerebrale, poiché la PCSK9 era già nota per il suo ruolo nel regolare l'apoptosi delle cellule cerebrali (25).

Gli anti-PCSK9 Mab in commercio, alirocumab e evolocumab, sono completamente umanizzati, a differenza del bococizumab, il quale contiene una percentuale ridotta di sequenze murine, che probabilmente sono state la causa della formazione di anticorpi neutralizzanti nell'uomo che hanno fatto sostanzialmente fallire l'obiettivo della efficacia a medio termine nei trials di fase III (8). Alirocumab ed evolocumab hanno volumi di distribuzione simili, circa pari al volume plasmatico, e questo garantisce che non agiscano al di fuori del torrente circolatorio. La loro emivita prolungata dagli 11 ai 20 giorni (6, 7) garantisce la possibilità di essere somministrati bisettimanalmente o anche mensilmente con mantenimento degli obiettivi terapeutici. Alirocumab ed

evolocumab hanno sviluppato programmi di trial di fase II e III che hanno coinvolto decine di migliaia di pazienti ipercolesterolemici di vario genere, ed hanno dimostrato l'efficacia e la sicurezza della terapia di inibizione del PCSK9 con Mab. I trials sono stati focalizzati principalmente su tre gruppi di pazienti:

- 1) pazienti ad alto rischio;
- 2) pazienti con ipercolesterolemia familiare (FH);
- 3) pazienti intolleranti alle statine.

Pazienti ad alto rischio: alirocumab ha sviluppato i trials COMBO, OPTIONS CHOICE, i trials di estensione LONG TERM, mentre evolocumab ha sviluppato tra gli altri i LAPLACE 2, YUKAWA-2 e l'estensione a lungo termine con gli studi OSLER.

Pazienti con FH: alirocumab ha sviluppato i trials FHI, FHII e HIGH-FH, mentre evolocumab ha sviluppato i RUTHERFORD ed il TESLA dedicato ai pazienti con FH-omozigote. Pazienti intolleranti alle statine: alirocumab ha sviluppato il trial ALTERNATIVE, mentre evolocumab i trial MENDEL e GAUSS. I risultati sono sintetizzati nella figura 1 che mostra la riduzione percentuale in rapporto ai livelli di LDL-C più bassi raggiunti dal braccio del trial con anti-PCSK9 Mab. La *figura 1* mostra i valori di riduzione percentuale rapportati ai valori di LDL-C di partenza e finali. Se si escludono i trial di efficacia di evolocumab su soggetti con FH omozigote, si nota come la riduzione media ottenibile oscilla tra il 45 ed il 70%. I risultati migliori si ottengono su popolazioni ad alto rischio (triangoli), poiché i soggetti FH (cerchi) sono notoriamente più difficili da trattare. Evolocumab sembra mostrare un effetto maggiore con riduzione dei valori che raggiungono il 60-70%, ma questo potrebbe essere dovuto al fatto che alirocumab può essere titolato, mentre i

trial di fase III con evolocumab sono stati effettuati in genere con il dosaggio più elevato. I risultati sono molto rilevanti se si considera che sono stati ottenuti aggiungendo i Mab alla terapia convenzionale, permettendo quindi livelli finali di LDL-C molto bassi. Le linee orizzontali indicano i target per l'alto rischio (corrispondente a 100 mg/dL) ed il rischio molto alto (corrispondente a 70 mg/dL). La linea inferiore-

re mostra invece i livelli medi di circa 200 soggetti affetti da SGBC rivisti in una precedente revisione della letteratura (36), che corrispondono a 38 mg/dL. Come si nota, diversi trial presentano valori medi di LDL-C ottenuti al di sotto o in prossimità di tali valori, il che significa che in molti trial esistono pazienti trattati con valori paragonabili ai soggetti con SGBC. Questo dato è stato recentemente rivisitato (37) e

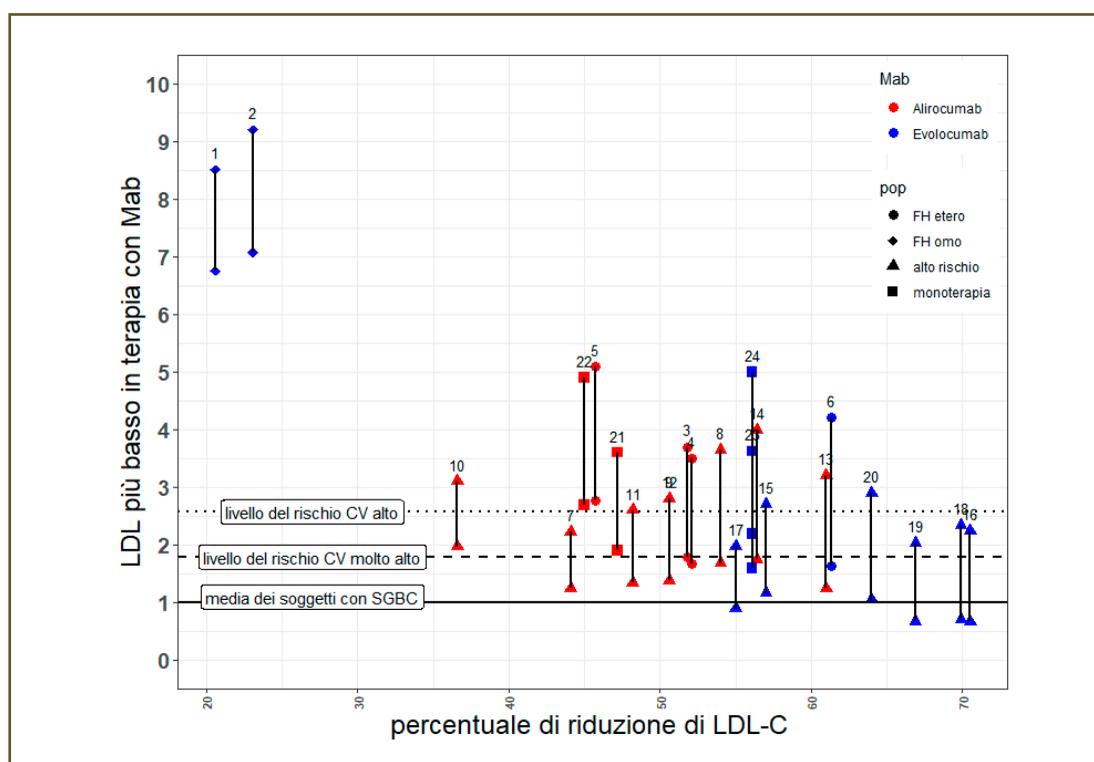


Figura I - Risultati dei trials con anti-PCSK9 Mab.

Nota: La figura mostra i risultati di efficacia sull'end-point LDL-C dei trials con alirocumab (rosso) ed evolocumab (blu). Le coorti dei trials sono indicate dalla forma dei punti come: soggetti FH eterozigoti (cerchio), FH omozigoti (rombo), soggetti ad alto rischio CV (triangolo), soggetti intolleranti alle statine (quadrato). I segmenti verticali uniscono i valori di partenza di LDL-C con i valori finali in trattamento con Mab. Le linee verticali rappresentano gli obiettivi terapeutici ed i livelli medi dei soggetti con SGBC. I trials sono indicati da numeri come segue: 1) TAUSSIG (W48), 2) TESLA-B, 3) FH I (W78), 4) FH II (W78), 5) HIGH FH (W24), 6) RUTHEFORD-2 (Q2W), 7) OPTIONS I (A20), 8) OPTIONS I (A40), 9) OPTIONS II (R10), 10) OPTIONS II (R20), 11) COMBO I, 12) COMBO II, 13) LONG TERM, 14) CHOICE II (75Q2W), 15) DESCARTES (W52), 16) LAPLACE-2 (A80), 17) LAPLACE-2 (R40), 18) YUKAWA-2 (A5), 19) YUKAWA-2 (A20), 20) OSLER-2 (W12), 21) MONO, 22) ALTERNATIVE (W24), 23) MENDEL-2 (140Q2W), 24) GAUSS-2 (Q2W). In parentesi sono indicate le statine ed i dosaggi (A=atorva, R=rosuva) e le settimane di rilevamento (W) laddove presenti. Q2W indica una durata trimestrale a dosi bisettimanali. Il numero senza lettera (75) indica il dosaggio del Mab. Non sono inclusi i trials con end-point non lipidico.

si è notato come tali livelli possono essere considerati relativamente sicuri. Si invita a leggere il breve capitolo successivo sugli effetti collaterali e la rivisitazione menzionata (37).

Rischio cardiovascolare e ipocolesterolemie primitive

Il sequenziamento sistematico di alcuni geni candidati responsabili di SGBC per la ricerca di varianti rare (con una frequenza inferiore all'1%) caratterizzate da un importante effetto biologico sul fenotipo, e studi "genome-wide" nella popolazione finalizzati ad identificare varianti geniche comuni (con frequenza dell'allele minore >5%) associate a ridotti livelli di LDL-C hanno consentito di definire le basi genetiche del fenotipo basse LDL. L'esposizione per tutta la vita a bassi livelli di LDL-C è ritenuto un fattore protettivo nei confronti del rischio CV. Le evidenze disponibili per dimostrare l'associazione tra bassi livelli di LDL-C e ridotto rischio CV derivano da studi di famiglie, studi di popolazione e di randomizzazione mendeliana. L'associazione tra presenza di varianti del gene APOB causa di FHBL-1 (quindi ad alto impatto) e rischio CV è stata supportata dalla osservazione indiretta che soggetti portatori di mutazioni patogenetiche del gene APOB avevano una "stiffness" carotidea inferiore rispetto ai controlli ma non alterazioni dello spessore intima-media (38). Solo recentemente Peloso et al. (39) hanno documentato questa associazione in 12 studi caso-controllo mediante il sequenziamento del gene APOB in circa 58.000 soggetti con e senza malattia coronarica (Coronary Heart Disease, CHD). I portatori di mutazioni del gene APOB causa di apoB troncate erano presenti in 0,038% dei casi CHD e in 0,092% dei controlli. Lo stato di portatore di apoB troncate era associato a ridotti livelli di TC, LDL-C e TG e ad

una riduzione del 73% del rischio di CHD (OR=0,28).

L'impatto delle mutazioni nonsense rare del gene PCSK9 identificate nel 2,6% della popolazione Afro-Americana nel Dallas Heart Study sul rischio di CHD è stato dimostrato essere ridotto dell'88% in un periodo di follow-up di 15 anni (40). Nello stesso studio è stato dimostrato che anche nei soggetti Caucasici portatori della variante "missenso" R46L di PCSK9, responsabile di una riduzione modesta di LDL-C, l'incidenza di CHD era ridotta del 47%. Questo effetto è stato recentemente confermato in una meta-analisi di studi GWAS relativi a soggetti prevalentemente di origine europea (41).

L'effetto della riduzione delle LDL nel deficit di ANGPTL3 sul rischio CV è stato specificatamente affrontato in una recente pubblicazione di Stitzel et al. (42). Lo studio, mediante angiografia coronarica, di famiglie con deficit completo di ANGPTL3 (soggetti etero-composti per mutazioni LOF di ANGPTL3) non ha evidenziato presenza di placche aterosclerotiche nelle coronarie a suggerire un effetto protettivo del deficit completo di ANGPTL3 nei confronti del rischio CV. L'associazione tra presenza delle varianti di ANGPTL3 e rischio di CHD è stato valutato in una meta-analisi di numerose coorti. In questo studio di popolazione che ha preso in esame più di 180.000 individui con deficit parziale di ANGPTL3 reclutati dal Consorzio di Myocardial Infarction Genetics i portatori eterozigoti di mutazioni LOF presentavano una riduzione del 34% del rischio di CHD rispetto ai non portatori (OR=0,66).

Riduzione del rischio cardiovascolare in terapia con anti-PCSK9 Mab

Il tema della riduzione del rischio CV in terapia con Mab è molto interessante perché chiarisce alcuni punti controversi

della lipidologia, che verranno considerati in questo capitolo. Il primo punto è quello degli effetti pleiotropici delle statine. Negli anni novanta vennero realizzati due trials, il MIRACL (43) e l'ARMYDA (44). Questi trials valutarono l'effetto a breve termine della statina ad elevata potenza allora disponibile (atorvastatina) nei soggetti affetti da sindrome coronarica acuta (SCA). I trials mostrarono riduzione degli eventi CV nelle settimane successive alla SCA, tempo troppo breve per attribuire il miglioramento ad una azione sul rimodellamento di placca.

Tali effetti a breve termine vennero spiegati con una riduzione della flogosi generalizzata (misurabile con la proteina C reattiva) e con un maggiore "benessere" dell'endotelio (misurabile con riduzione dei markers di disfunzione endoteliale, come E-selectina e V-CAM), e vennero definiti effetti pleiotropici. Pertanto l'uso della atorvastatina venne introdotto nella pratica cardiologica più per l'effetto pleiotropico post SCA che per l'effetto ipolipemizzante. Questa pratica venne giustificata quando venne testato il primo ipolipemizzante di nuova generazione non statinico (ezetimibe) in un trial dedicato, chiamato ENHANCE (45).

Il trial fallì l'obiettivo primario, la riduzione dell'ispessimento medio intimale in chi aveva livelli di LDL-C più bassi grazie ad ezetimibe, anche per un disegno errato dello studio, suggerendo che la statina riducesse il rischio CV non perché riducesse l'LDL-C ma per gli effetti pleiotropici, e questo nonostante un coraggioso trial successivo, appunto il COURAGE (46), mostrasse sostanziale equivalenza tra il rischio di eventi in chi aveva fatto un angioplastica e terapia convenzionale rispetto a chi aveva fatto terapia intensiva con simvastatina ed ezetimibe. In questo contesto si inserisce la terapia con i Mab,

ancora una volta una terapia non statinica che doveva mostrare di ridurre gli eventi CV e non solo i livelli di LDL-C. Il secondo punto è legato al concetto di "the lower the better", cioè dal dato emerso dal pool dei trials che mostrava come più in basso si scendesse con i livelli di LDL-C, maggiormente si riducevano gli eventi CV nei trials. Una prima risposta è venuta dallo studio IMPROVE-IT (4), che ha mostrato riduzione del rischio con aggiunta di ezetimibe e livelli di LDL-C raggiunti inferiori ai 60 mg/dL. Ma fino a quanto in basso si poteva scendere con l'LDL-C prima che i vantaggi sul rischio CV si esaurissero? A questi due punti hanno risposto i trials FOURIER (47) con evolocumab e ODISEY OUTCOMES (48) con alirocumab. I due trials sono numericamente simili, ma alcuni elementi sono leggermente diversi. I dati sono riassunti nella *tabella 2*. La tabella mostra i due studi a confronto. Come è possibile notare i pazienti del FOURIER presentavano una maggiore prevalenza di fattori di rischio come ipertensione e diabete ma erano molto più stabili (3,4 anni dall'ultimo evento CV) rispetto ai pazienti del OUTCOMES (2,6 mesi dall'ultimo evento). Riguardo i dati dei trials, il FOURIER è durato sensibilmente di meno (2,2 anni di mediana rispetto ai 2,8 anni del OUTCOMES) ed ha raggiunto risultati simili sull'end-point primario, che comprendeva gli end-point "forti" con l'aggiunta della ospedalizzazione per angina per entrambi i trials e anche le procedure di rivascolarizzazione per il FOURIER. Entrambi hanno presentato un "hazard ratio" simile e una riduzione comparabile per gli eventi quali incidenza di infarto e ictus. Un discorso a parte merita l'end-point di mortalità totale che non è stato raggiunto nel FOURIER. Le motivazioni che sono state addotte per giustificare questa differenza sono state

legate alla differente selezione dei pazienti, molto più acuti nell'OUTCOMES, e nella differente durata dei trials, essendo mediamente più corto il FOURIER. È probabile che tempi di osservazione più lunghi garantiranno una maggiore risposta sull' endpoint di mortalità. Inoltre i trials si sono interrotti al raggiungimento del numero di eventi preventivato per l'end-point primario, e quindi ogni valutazione su quelli secondari non è suffragata da solide basi statistiche. Le riduzioni degli eventi e del rischio CV ottenute sono contenute, ma questo era da attendersi

in pazienti che erano già in trattamento massimale con terapia ipolipemizzante convenzionale, come testimoniato dai livelli di partenza di LDL-C nei soggetti che assumevano Mab, in entrambi i casi al di sotto del limite convenzionale dei 100 mg/dL. In definitiva i trials hanno esteso i dati dell'IMPROVE-IT, cioè che i vantaggi sulla riduzione del numero di eventi siano da attribuirsi alla riduzione del colesterolo e non dal tipo di statina somministrata, e anche che i benefici si ottengono anche per livelli di LDL-C inferiori a 50 mg/dL.

Tabella 2 - Confronto tra i trials FUORIER ed ODISSEY OUTCOMES.

	Fourier	Odissey outcomes
Farmaco	Evolocumab	Alirocumab
<i>Popolazione</i>		
n. soggetti (Mab/non Mab)	13784/13780	9462/9462
Sesso Maschile %	75,4/75,5	74,7/74,9
Età media	62,5/62,5	58/58
BMI	85 kg/85,5 kg	?
Ipertensione arteriosa	80,1/80,1	65,6/63,9
LDL-C all'arruolamento	92/92	87/87
Diabete Mellito	36,7/36,5	28,5/29,1
Malattia cardiovascolare (ultimo evento)	80,9/81,3	18,9/19,5
Periodo occorso dall'ultimo evento CV	3,4 anni	2,6 mesi
Malattia cerebrovascolare	19,5 /19,2	?
<i>Trial</i>		
End-Point	MCV, IM, ICT, AIN, RIV ¹	MCV, IM, ICT, AIN ¹
Durata media (mediana)	2,2 anni	2,8 anni
Eventi per gruppo	1344/1563	903/1052
Riduzione end-point primario	0,85 (0,79-0,92)	0,85 (0,78-0,93)
Riduzione infarto miocardico	0,73 (0,65- 0,82)	0,86 (0,77-0,96) ²
Riduzione ictus cerebrale	0,79 (0,66-0,95)	0,73 (0,57-0,73)
Riduzione Mortalità Totale	1,04 (0,91-1,19)	0,85 (0,83-0,98)
Riduzione Mortalità CV	1,05 (0,88-1,25)	0,88 (0,75-1,05)
Valori di LDL-C mg/dL (riduzione %) ³	30 (-54%)	53,3 (-54,7%)

La tabella mostra i due trials a confronto.

¹MCV = malattia cardiovascolare, IM = infarto miocardico, ICT = ictus ischemico, AIN = angina instabile, RIV = rivascolarizzazione. ²Infarto miocardico non fatale. ³Valori alla fine del trattamento con Mab.

Effetti collaterali della terapia con Mab anti-PCSK9

Sebbene questa rivisitazione verta sugli effetti CV dei Mab, un cenno sui dati di sicurezza deve essere fatto. In tutti i trial di fase III sono emersi pochi effetti collaterali come era auspicabile dagli studi di fase I e II. I dati dei trial mostrano che i Mab non hanno un effetto simile alle statine sullo sviluppo di mialgia, sull'aumento del CPK e delle transaminasi, mentre gli effetti principali sono stati osservati prevalentemente come reazioni locali sul sito di inoculazione del farmaco, ed in minima percentuale un effetto collaterale ha reso necessaria la sospensione del farmaco. I Mab non hanno mostrato effetti sulla incidenza di nuovi casi di diabete mellito, come osservato per le statine, né sviluppo di steatosi epatica, come evidenziato dai nuovi farmaci che inibiscono la sintesi delle lipoproteine epatiche, quali la lomitapide (49) e l'oligonucleotide anti-senso mipomersen (50). Un effetto paventato dei Mab era quello sulle funzioni cognitive cerebrali, poiché la proteina PCSK9 era già conosciuta come Neural Apoptosis Regulated Convertase 1 (NARC-1) in virtù della capacità di regolare la distruzione programmata di cellule cerebrali (25). Tale pericolo era teoricamente limitato dalla evidenza che i Mab non passano la barriera emato-encefalica, tuttavia i dati dei trial hanno confermato come non vi fosse un deterioramento dei test cognitivi nei soggetti in trattamento con Mab, ed infine un trial dedicato con evolocumab, l'EBBINGHAUS (51), ha dimostrato come non vi siano effetti cognitivi a medio termine, almeno nel tempo di osservazione del trial. Un effetto che è stato evidenziato nei trials di fase III è l'insorgenza di cataratta, che tuttavia non è stato osservato sia nel FOURIER che nell'OUTCOMES, al netto del breve periodo di osservazione. Poco

è noto su gli effetti extra-epatici di Mab, ad esempio è stato dimostrato un effetto modulatore sul tessuto adiposo, ed è stato visto come i portatori di una variante di PCSK9, la R46L, presentano una maggiore quantità di grasso viscerale rispetto ai controlli (52). Tuttavia l'asse glicemico non sembra essere compromesso dalla terapia con Mab (47, 48). In sintesi gli anti-PCSK9 Mab non hanno mostrato effetti collaterali rilevanti nei pochi anni di utilizzo, e bisognerà attendere ancora per valutare gli effetti a medio e lungo termine.

Conclusioni

In conclusione, la terapia con anti-PCSK9 Mab apre nuove prospettive nel controllo della malattia cardiovascolare sia in prevenzione secondaria che in soggetti ad alto rischio, dove la probabilità di un evento CV a breve è notevolmente elevata. I Mab, agendo in sinergia con la terapia convenzionale con statine ed ezetimibe, hanno permesso di raggiungere livelli estremamente bassi di LDL-C, e questo ha creato un certo disagio legato alle funzioni vitali che il colesterolo svolge nell'organismo. Tuttavia, i modelli genetici giungono in soccorso mostrando come livelli estremamente bassi di LDL-C, mantenuti al di sotto di 25 mg/dL per tutta la vita, consentano una sopravvivenza pari se non superiore a coloro che presentano livelli di CT nella norma. I trial hanno mostrato dati confortanti sugli effetti collaterali a breve e a lungo termine, ma mancano dati di sicurezza a lungo termine, data la recente commercializzazione dei Mab. Lo studio delle ipocolesterolemie primitive, in particolare da deficit di PCSK9, ci confortano per quanto riguarda quello che dovremo aspettarci quando i primi utilizzatori avranno superato le prime decadi di trattamento.

RIASSUNTO

La malattia cardiovascolare (CV) rappresenta ancora oggi la principale causa di mortalità e morbilità sia nelle popolazioni industrializzate che in quelle in via di sviluppo. Per tale motivo l'industria farmaceutica ha continuato a sviluppare nuove molecole in grado di raggiungere obiettivi più ambiziosi allo scopo di prevenire il maggior numero di eventi CV. Tra queste molecole gli anticorpi monoclonali anti proconvertasi-subtilisina-kexina 9 (anti-PCSK9-Mab) hanno dimostrato di essere in grado di raggiungere livelli molto bassi di LDL-C (anche inferiori a 20 mg/dL) in aggiunta alla terapia convenzionale. Gli anti-PCSK9-Mab hanno permesso di chiarire alcuni aspetti controversi nell'ambito della terapia ipolipemizzante. Oltre a chiarire che riducendo l'LDL-C a livelli estremamente bassi si continua a ridurre il rischio CV, hanno anche chiarito come la riduzione del rischio CV si ottenga riducendo l'LDL-C con qualunque strategia e non per particolari effetti "pleiotropici" dei farmaci. I livelli estremamente bassi di LDL-C raggiunti nei trials hanno però destato preoccupazione, nell'ipotesi che siano livelli patologici. In realtà esistono modelli genetici di ipocolesterolemia che possiamo usare per valutare quali rischi clinici si corrono a mantenere livelli estremamente bassi di LDL-C per tutta la vita, ed in particolare esiste un modello di deficit di PCSK9 che mima esattamente l'effetto terapeutico degli Anti-PCSK9-Mab. Lo scopo di questa rivisitazione è quello di illustrare l'effetto dei Mab sulla riduzione del rischio CV e di prevedere quali possano essere gli effetti a lungo termine di tale terapia continuativa descrivendo i modelli di sindromi genetiche a basso colesterolo.

Parole chiave: *Monoclonali anti-PCSK9, ipobetalipoproteinemia tipo 1, ipobetalipoproteinemia tipo 2, rischio cardiovascolare, trials clinici.*

Bibliografia

1. Pfeffer MA, Sacks FM, Moyé LA, et al. Cholesterol and Recurrent Events: a secondary prevention trial for normolipidemic patients. CARE Investigators. *Am J Cardiol.* 1995; 76: 98C-106C.
2. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. *N Engl J Med.* 1998; 339: 1349-1357.
3. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet.* 1994; 344: 1383-1389.
4. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med.* 2015; 372: 2387-2397.
5. Catapano AL, Graham I, De Backer G, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J.* 2016; 37: 2999-3058.
6. EMA, Evolocumab. Summary of Product characteristics. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003882/WC5_00194521.pdf (22 May 2017, date last accessed).
7. EMA, Evolocumab. Summary of Product characteristics. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003766/WC5_0191398.pdf (29 May 2018, date last accessed).
8. Ridker PM, Amarenco P, Brunell R, et al. Studies of PCSK9 Inhibition and the Reduction of vascular Events (SPIRE) Investigators. Evaluating bococizumab, a monoclonal antibody to PCSK9, on lipid levels and clinical events in broad patient groups with and without prior cardiovascular events: rationale and design of the Studies of PCSK9 Inhibition and the Reduction of vascular Events (SPIRE) Lipid Lowering and SPIRE Cardiovascular Outcomes Trials. *Am Heart J.* 2016; 178: 135-144.
9. Tarugi P, Averna M. Hypobetalipoproteinemia: genetics, biochemistry, and clinical spectrum. *Adv Clin Chem.* 2011; 54: 81-107.
10. Kane JP, Havel RD. Disorders of the biogenesis and secretion of lipoproteins containing the B apolipoproteins, in: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, Sly WS (Eds.), *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, vol. II, 8th ed., McGraw Hill. New York. 2001; 2717-2752.
11. Mansbach CM, Siddiqi SA. The biogenesis of chylomicrons. *Annu Rev Physiol.* 2010; 72: 315-333.
12. G. Gusarova V, Brodsky JL, Fisher EA. Apolipoprotein B100 exit from the endoplasmic reticulum (ER) is COPII-dependent, and its lipidation

- to very low density lipoprotein occurs post-ER. *J Biol Chem.* 2003; 278: 48051-48058.
13. Fryer LG, Jones B, Duncan EJ, et al. The endoplasmic reticulum coat protein II transport machinery coordinates cellular lipid secretion and cholesterol biosynthesis. *J Biol Chem.* 2014; 289: 4244-4261.
 14. Schonfeld G, Lin X, Yue P. Familial hypobetalipoproteinemia: genetics and metabolism. *Cell Mol Life Sci.* 2005; 62: 1372-1378.
 15. Tarugi P, Averna M, Di Leo E, et al. Molecular diagnosis of hypobetalipoproteinemia: An ENID review. *Atherosclerosis.* 2007; 195: e19- e27.
 16. Burnett JR, Zhong S, Jiang ZG, et al. Missense mutations in APOB within the betaalpha1 domain of human APOB-100 result in impaired secretion of ApoB and ApoB-containing lipoproteins in familial hypobetalipoproteinemia. *J Biol Chem.* 2007; 282: 24270-24283.
 17. Noto D, Cefalu` AB, Cannizzaro A, et al. Familial hypobetalipoproteinemia due to apolipoprotein B R463W mutation causes intestinal fat accumulation and low postprandial lipemia. *Atherosclerosis.* 2009; 206: 193-198.
 18. Zhong S, Magnolo AL, Sundaram M, et al. Non synonymous mutations within APOB in human familial hypobetalipoproteinemia: evidence for feedback inhibition of lipogenesis and postendoplasmic reticulum degradation of apolipoprotein B. *J Biol Chem.* 2010; 285: 6453-6464.
 19. P. Yilmaz BS, Mungan NO, Di Leo E, et al. Homozygous familial hypobetalipoproteinemia: a Turkish case carrying a missense mutation in apolipoprotein B. *Clin Chim Acta.* 2016; 452: 185-190.
 20. R. Schonfeld G, Patterson BW, Yablonskiy DA, et al. Fatty liver in familial hypobetalipoproteinemia: triglyceride assembly into VLDL particles is affected by the extent of hepatic steatosis. *J Lipid Res.* 2003; 44: 470-478.
 21. Di Leo E, Magnolo L, Bertolotti M, et al. Variable phenotypic expression of homozygous familial hypobetalipoproteinaemia due to novel APOB gene mutations. *Clin Genet.* 2008; 74: 267-273.
 22. Najah M, Di Leo E, Awatef J, et al. Identification of patients with abetalipoproteinemia and homozygous familial hypobetalipoproteinemia in Tunisia. *Clin Chim Acta.* 2009; 401: 51-56.
 23. Seidah NG, Sadr MS, Chrétien M, et al. The multifaceted proprotein convertases: their unique, redundant, complementary, and opposite functions. *J Biol Chem.* 2013; 288: 21473-21481.
 24. Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism. *J Lipid Res.* 2009; 50 (Suppl.): S172-177.
 25. Norata GD, Tavori H, Pirillo A, et al. Biology of proprotein convertase subtilisin kexin 9: beyond low-density lipoprotein cholesterol lowering. *Cardiovasc Res.* 2016; 112: 429-442.
 26. Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, et al. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat Genet.* 2005; 37: 161-165.
 27. Miyake Y, Kimura R, Kokubo Y, et al. Genetic variants in PCSK9 in the Japanese population: rare genetic variants in PCSK9 might collectively contribute to plasma LDL cholesterol levels in the general population. *Atherosclerosis.* 2008; 196: 29-36.
 28. Fasano T, Cefalu` AB, Di Leo E, et al. A novel loss of function mutation of PCSK9 gene in White subjects with low-plasma low-density lipoprotein cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 677-681.
 29. Zhao Z, Tuakli-Wosornu Y, Lagace TA, et al. Molecular characterization of loss-of-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote. *Am J Hum Genet.* 2006; 79: 514-523.
 30. Kotowski IK, Pertsemlidis A, Luke A, et al. A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol. *Am J Hum Genet.* 2006; 78: 410-422.
 31. Noto D, Arca M, Tarugi P, et al. Association between familial hypobetalipoproteinemia and the risk of diabetes. Is this the other side of the cholesterol-diabetes connection? A systematic review of literature. *Acta Diabetol.* 2017; 54: 111-122.
 32. Musunuru K, Pirruccello JP, Do R, et al. Exome sequencing, ANGPTL3 mutations, and familial combined hypolipidemia. *N Engl J Med.* 2010; 363: 2220-2227.
 33. Pisciotta L, Favari E, Magnolo L, et al. Characterization of three kindreds with familial combined hypolipidemia caused by loss-of-function mutations of ANGPTL3. *Circ Cardiovasc Genet.* 2012; 5: 42-50.
 34. Minicocci I, Santini S, Cantisani V, et al. Clinical characteristics and plasma lipids in subjects with familial combined hypolipidemia: a pooled analysis. *J Lipid Res.* 2013; 54: 3481-3490.
 35. Tikka A, Jauhiainen M. The role of ANGPTL3 in controlling lipoprotein metabolism. *Endocrine.* 2016; 52: 187-193.
 36. Noto D, Cefalu` AB, Valenti V, et al. Prevalence of ANGPTL3 and APOB gene mutations in subjects with combined hypolipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32: 805-809.
 37. Noto D, Giammanco A, Barbagallo CM, et al.

- Anti-PCSK9 treatment: is ultra-low low-density lipoprotein cholesterol always good? *Cardiovasc Res.* 2018; 114: 1595-1604.
38. Sankatsing RR, Fouchier SW, de Haan S, et al. Hepatic and cardiovascular consequences of familial hypobetalipoproteinemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25: 1979-1984.
 39. Peloso GM, Nomura A, Khera AV, et al. Rare Protein-truncating Variants in APOB, Lower LDL-C, and Protection Against Coronary Heart Disease. *Circ Genom Precis Med.* 2019 [Epub ahead of print].
 40. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr, et al. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2006; 354: 1264-1272.
 41. Hopewell JC, Malik R, Valdés-Márquez E, et al. METASTROKE Collaboration of the ISGC. Differential effects of PCSK9 variants on risk of coronary disease and ischaemic stroke. *Eur Heart J.* 2018; 39: 354-359.
 42. Stitzel NO, Khera AV, Wang X, et al. PROMIS and Myocardial Infarction Genetics Consortium Investigators. ANGPTL3 Deficiency and Protection Against Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2017; 69: 2054-2063.
 43. Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, et al. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2001; 285: 1711-1718.
 44. Pasceri V, Patti G, Nusca A, et al. Randomized trial of atorvastatin for reduction of myocardial damage during coronary intervention: results from the ARMYDA (Atorvastatin for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty) study. *Circulation.* 2004; 110: 674-678.
 45. Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES, et al. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 2008; 358: 1431-1443.
 46. Maron DJ, Hartigan PM, Neff DR. Impact of adding ezetimibe to statin to achieve low-density lipoprotein cholesterol goal (from the Clinical Outcomes Utilizing Revascularization and Aggressive Drug Evaluation [COURAGE] trial). *Am J Cardiol.* 2013; 111: 1557-1562.
 47. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017; 376: 1713-1722.
 48. Szarek M, White HD, Schwartz GG, et al. Alirocumab Reduces Total Nonfatal Cardiovascular and Fatal Events: The ODYSSEY OUTCOMES Trial. *J Am Coll Cardiol.* 2019; 73: 387-396.
 49. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H, et al. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. *Lancet.* 2013; 381: 40-6.
 50. Santos RD, Duell PB, East C, et al. Long-term efficacy and safety of mipomersen in patients with familial hypercholesterolaemia: 2-year interim results of an open-label extension. *Eur Heart J.* 2015; 36: 566-575.
 51. Giugliano RP, Mach F, Zavitz K, et al. Cognitive Function in a Randomized Trial of Evolocumab. *N Engl J Med.* 2017; 377: 633-643.
 52. Baragetti A, Balzarotti G, Grigore L, et al. PCSK9 deficiency results in increased ectopic fat accumulation in experimental models and in humans. *Eur J Prev Cardiol.* 2017; 24: 1870-1877. Box 1: Le ipobetalipoproteinemie.

FATTORI DI RISCHIO

L'IPERCOLESTEROLEMIA SEVERA: EPIDEMIOLOGIA, GENETICA E GESTIONE CLINICA

Severe hypercholesterolemia: epidemiology, genetics and clinical management

MAURIZIO AVERNA

Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro" – ProMISE - Università degli Studi di Palermo

SUMMARY

The definition of severe hypercholesterolemia can be different in relation to the clinical context to which it refers, for example, in a patient with myocardial infarction an LDL cholesterol far from the therapeutic target must be considered severe even in the presence of not particularly high plasma levels. On the other hand, the criteria of the Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) of familial hypercholesterolemic (FH) patients do not exhaustively solve the problem of severe hypercholesterolemia, if it is true that subjects with LDL-C levels >190 mg/dl, carriers of other risk factors, must be considered at very high risk and deserve the same clinical attention as FH subjects. The new gene sequencing strategies have allowed us to identify new forms beyond the monogenic (polygenic, oligogenic) and in the future we will understand the genes-environment interactions and the epigenetic influences to explain that relevant part of severe hypercholesterolemia still negative to genetic analysis.

Keywords: *Severe hypercholesterolemia, FH, polygenic forms, epidemiology, genetics, clinical management.*

Introduzione

Il termine "Ipercolesterolemia severa" (IS) non ha un significato univoco; la definizione può essere diversa in relazione al contesto clinico. Un'ipercolesterolemia ad esempio viene considerata severa in un paziente infartuato in presenza di livelli di

low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in valore assoluto non molto alti ma tuttavia distanti dal goal terapeutico. Di contro un'ipercolesterolemia è considerata severa quando presenti livelli quantitativamente elevati di LDL-C (>190 mg/dl) come avviene nella coda di destra della distribuzione di LDL-C in una data popolazione (*Figura 1*).

In questo articolo verranno discusse le varie forme di Ipercolesterolemia severa con un focus sulle forme genetiche.

Indirizzo per la corrispondenza

Maurizio Averna

E-mail: maurizio.averna@unipa.it

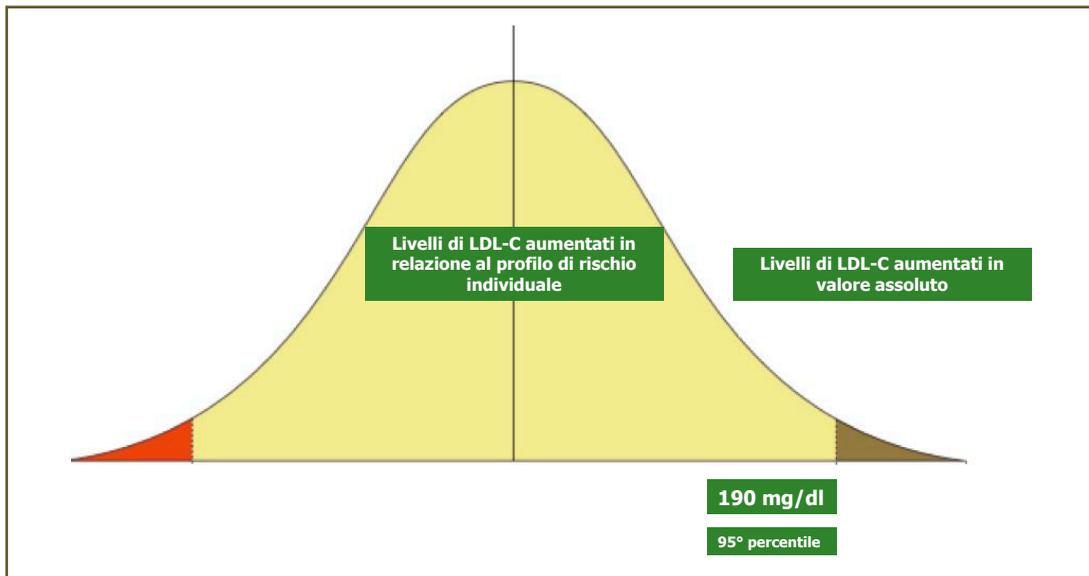


Figura 1 - Distribuzione plasmatica di LDL-C.

Ipercolesterolemia severa nel paziente a rischio cardiovascolare alto o molto alto

Le più recenti linee guida (1) categorizzano il rischio cardiovascolare basso-moderato, alto e molto alto sulla base delle carte del rischio SCORE che predicono gli eventi fatali a 10 anni.

Nella *tabella 1* sono mostrati i goals terapeutici da raggiungere per LDL-C nella categoria di rischio basso-moderato (<115 mg/dl), alto (<100 mg/dl) e molto alto (<70 mg/dl). Nella *tabella 2* sono illustrate le strategie di intervento ed i livelli di LDL-C ai quali iniziare il trattamento farmacologico. Appare evidente come la definizione di severità dell'ipercolesterolemia in questo particolare setting non sia basata sull'aumento assoluto dei livelli di LDL-C, ma piuttosto sia relativa alla distanza dal goal terapeutico: in un soggetto ad altissimo rischio con un goal raccomandato di LDL-C <70 mg/dl, un valore di LDL-C di 170 mg/dl può essere interpretato come ipercolesterolemia severa.

Ipercolesterolemia severa per aumento assoluto (>190 mg/dl) di LDL-C

L'ipercolesterolemia caratterizzata da livelli di LDL-C >190 mg/dl viene spesso considerata una espressione fenotipica dell'Ipercolesterolemia familiare.

L'ipercolesterolemia familiare (familial hypercholesterolaemia, FH) è una frequente causa genetica di malattia coronarica precoce (coronary heart disease, CHD), cioè infarto del miocardio e angina pectoris, a causa dell'esposizione per tutta la durata della vita a elevati livelli di LDL-C (2, 3). La prevalenza teorica stimata della FH eterozigote nella popolazione è di 1/500. Recentemente, nel Copenhagen General Population Study (4), un campione non selezionato della popolazione generale europea che comprende 69.016 partecipanti, la condizione di FH eterozigote è stata diagnosticata in base ai criteri del Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) (*Box 1*). La prevalenza di individui classificati con FH certa o FH probabile (criteri DLCN con punteg-

Treatment targets and goals for cardiovascular disease prevention

Smoking	No exposure to tobacco in any form.
Diet	Healthy diet low in saturated fat with a focus on whole grain products, vegetables, fruit and fish.
Physical activity	2.5–5 h moderately vigorous physical activity per week or 30–60 min most days.
Body weight	BMI 20–25 kg/m ² , waist circumference <94 cm (men) and <80 cm (women).
Blood pressure	<140/90 mmHg.
Lipid LDL-C is the primary target	Very high-risk: LDL-C <1.8 mmol/L (70 mg/dL) or a reduction of at least 50% if the baseline is between 1.8 and 3.5 mmol/L (70 and 135 mg/dL).
	High-risk: LDL-C <2.6 mmol/L (100 mg/dL) or a reduction of at least 50% if the baseline is between 2.6 and 5.2 mmol/L (100 and 200 mg/dL).
	Low to moderate risk: LDL-C <3 mmol/L (115 mg/dL).
	Non-HDL-C secondary targets are <2.6, 3.4 and 3.8 mmol/L (100, 130 and 145 mg/dL) for very high-, high- and moderate-risk subjects, respectively.
	HDL-C: no target, but >1.0 mmol/L (40 mg/dL) in men and >1.2 mmol/L (48 mg/dL) in women indicates lower risk.
	TG: no target but <1.7 mmol/L (150 mg/dL) indicates lower risk and higher levels indicate a need to look for other risk factors.
Diabetes	HbA1c: <7% (<8.6 mmol/L).

www.escardio.org/guidelines

European Heart Journal 2016 - doi:10.1093/eurheartj/ehv272



Tabella I - Obiettivi terapeutici per la prevenzione delle malattie cardiovascolari.

Intervention strategies

Total CV risk (SCORE) %	LDL-C levels				
	<70 mg/dL <1.8 mmol/L	70 to <100 mg/dL 1.8 to <2.6 mmol/L	100 to <155 mg/dL 2.6 to <4.0 mmol/L	155 to <190 mg/dL 4.0 to <4.9 mmol/L	≥190 mg/dL ≥4.9 mmol/L
<1	Lifestyle advice	Lifestyle advice	Lifestyle advice	Lifestyle advice	Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled
Class/Level	I/C	I/C	I/C	I/C	IIa/A
≥1 to <5	Lifestyle advice	Lifestyle advice	Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled	Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled	Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled
Class/Level	I/C	I/C	IIa/A	IIa/A	I/A
≥5 to <10, or high-risk	Lifestyle advice	Lifestyle advice, consider drug if uncontrolled	Lifestyle advice and drug treatment for most	Lifestyle advice and drug treatment	Lifestyle advice and drug treatment
Class/Level	IIa/A	IIa/A	IIa/A	I/A	I/A
≥10 or very high-risk	Lifestyle advice, consider drug ^a	Lifestyle advice and concomitant drug treatment			
Class/Level	IIa/A	IIa/A	I/A	IA	IIa/A

^aIn patients with myocardial infarction, statin therapy should be considered irrespective of total cholesterol levels.

www.escardio.org/guidelines

European Heart Journal 2016 - doi:10.1093/eurheartj/ehv272



Tabella I - Strategie di intervento e livelli di LDL-C ai quali iniziare il trattamento farmacologico.

Box I - Criteri clinici per la diagnosi di FH

		Punti
Storia familiare		
a) Parenti di primo grado con coronaropatia (CHD) prematura (<55 anni negli uomini; <60 anni nelle donne)		1
b) Parenti di primo grado con colesterolo >8 mmol/L (≥310 mg/dl) (o >95° percentile del Paese)		1
c) Parenti di primo grado con xantomi tendinei e/o arco corneale		2
d) Bambini <18 anni con colesterolo >6 mmol/L (≥230 mg/dl) (o >95° percentile del Paese)		2
Storia clinica		
a) Soggetto con CHD prematura (<55 anni negli uomini; <60 anni nelle donne)		2
b) Soggetto con malattia vascolare cerebrale o periferica prematura (<55 anni negli uomini; <60 anni nelle donne)		1
Esame fisico		
a) Xantoma tendineo		6
b) Arco corneale in un soggetto con <45 anni		4
Risultati biochimici (colesterolo LDL)	>8,5 mmol/L (>325 mg/dl)	8
	6,5-8,4 mmol/L (251-325 mg/dl)	5
	5,0-6,4 mmol/L (191-250 mg/dl)	3
	4,0-4,9 mmol/L (155-190 mg/dl)	1
Analisi del DNA		
a) Mutazione causative nota nei geni		8
Diagnosi "certa" con un punteggio >8 punti. Diagnosi "probabile" con un punteggio tra 6 e 8 punti. Diagnosi "possibile" con un punteggio tra 3 e 5 punti. Diagnosi "improbabile" con un punteggio tra 0 e 2 punti.		

gio >5 punti) era pari a 0,73% (1/200). Sulla base di estrapolazioni di queste prevalenze stimate fra 1/500-1/200, nel mondo tra 14 e 34 milioni di persone sarebbero affetti da FH. Se non trattati, gli uomini e le donne con FH eterozigote con livelli di colesterolo totale di 8-15 mmol/L (310-580 mg/dl) sviluppano CHD rispettivamente prima dei 55 e dei 60 anni, mentre gli omozigoti con livelli di colesterolo totale di 12-30 mmol/L (460-1160 mg/dl) sviluppano CHD in età giovanile e, se non vengono sottoposti a terapia, muoiono prima dei 20 anni. Tuttavia, una volta diagnosticati, gli eterozigoti possono essere efficacemente trattati con farmaci ipocolesterolemizzanti per attenuare lo sviluppo di aterosclerosi e prevenire la CHD. Infatti, se gli individui con FH eterozigote sono diagnosticati relativamente presto nella vita e sono efficacemente trattati con statine, il loro rischio di infarto miocardico si avvicina a quello della popolazione generale (5).

Cause monogeniche di FH

La FH è causata da mutazioni nei geni che codificano per proteine chiave coinvolte nelle vie metaboliche che riguardano il recettore delle LDL e il suo ciclo metabolico (LDL-R recycling), con conseguente diminuzione dell'uptake cellulare delle LDL e conseguente aumento delle concentrazioni plasmatiche del colesterolo LDL (2). All'interno degli epatociti, il colesterolo viene sintetizzato ex novo, attraverso una serie di reazioni enzimatiche; la reazione limitante, perché regolata da un feedback inibitorio, è catalizzata dall'enzima 3-idrossi-3-metilglutaril coenzima A reduttasi che viene bloccato dalle statine. Il colesterolo all'interno dell'epatocita è incorporato in lipoproteine a densità molto bassa (Very Low Density Lipoproteins, VLDL) contenenti apolipoproteina B; il catabolismo in circolo delle VLDL dà origine alle LDL, che veicolano la maggior parte del coleste-

rolo dal fegato ai tessuti periferici. L'endocitosi delle LDL via apolipoproteina B da parte delle cellule periferiche e degli epatociti rappresenta la via principale di eliminazione dal circolo delle LDL e avviene attraverso il recettore LDL (LDLR) e una proteina adattatore (LDLRAP). La maggior parte dei recettori LDL viene riutilizzata attraverso un processo che permette il ricircolo del recettore dal citoplasma alle membrane cellulari (recycling). La proteina convertasi subtilisin/kexin tipo 9 (PCSK9) si lega al dominio extracellulare EGFA del recettore, ne impedisce il riciclo intracellulare favorendone la degradazione e regola così il numero di recettori presenti sulle membrane cellulari.

Mutazioni (in eterozigosi) con perdita di funzione nel gene LDLR, mutazioni (in eterozigosi) nel gene APOB che alterano il dominio di legame dell'apolipoproteina B con il recettore LDL, o mutazioni, (in eterozigosi) con guadagno di funzione nel gene PCSK9 sono le cause principali della FH autosomica dominante (ADH). Mutazioni in omozigosi del gene LDLRAP sono responsabili della forma recessiva: la Autosomal Recessive Hypercholesterolemia (ARH) (6-7). Le complicanze cliniche (cardiopatía ischemica prematura) della FH eterozigote (HeFH) ed omozigote (HoFH) sono legate al conseguente aumento del colesterolo LDL plasmatico che causa aterosclerosi.

I tre geni candidati responsabili di ADH contribuiscono alla etiologia della malattia con frequenze differenti: mutazioni nei geni LDLR, APOB e PCSK9 vengono trovate rispettivamente nel >90%, ~5% e ~1% dei soggetti FH eterozigote portatori di mutazioni causative. La HoFH è causata da mutazioni in omozigosi o più spesso da mutazioni in eterozigosi composta nei geni LDLR o ARH. Alcuni rari soggetti sono "doppi eterozigoti", cioè hanno muta-

zioni in eterozigosi in due dei quattro geni di cui sopra, determinando di solito un fenotipo che è intermedio tra quello degli HeFH e HoFH.

La diagnosi di FH è una diagnosi clinica (*BOX.1*) che permette l'individuazione del soggetto affetto e attraverso il cosiddetto "screening a cascata" dei familiari. I membri della famiglia da sottoporre a valutazione sono principalmente parenti biologici di primo grado, cioè genitori, fratelli e figli. Dovrebbero anche essere considerati i parenti biologici di secondo grado, tra cui nonni, zii, zie, nipoti e fratellastri. L'evento "premature" si presenta prima dei 55 anni nei maschi e prima dei 60 anni nelle femmine tra i parenti di primo grado e nei parenti di secondo grado, le età corrispondenti sono 50 e 55 anni. D'altra parte, lo screening genetico a cascata a partire da soggetti con FH portatori di una mutazione causativa, ha mostrato che, in media, i familiari che portano la mutazione causativa hanno livelli di colesterolo LDL due volte più elevati rispetto ai familiari non-portatori. Le cause secondarie di ipercolesterolemia devono essere escluse mediante rilevazione di enzimi epatici, funzionalità renale e ormoni tiroidei nella norma e assenza di iperglicemia ed albuminuria. Oltre alla costruzione dell'albero genealogico devono essere eseguiti un esame clinico sistematico per rilevare la presenza di xantomi tendinei e tuberosi e di arco corneale. La valutazione ecografica del tendine di Achille, quando disponibile, aumenta il tasso di identificazione degli xantomi (8). Nonostante i livelli di colesterolo totale siano elevati (≥ 310 mg/dl) (≥ 230 mg/dl nei bambini), i livelli di trigliceridi e lipoproteine ad alta densità (HDL) sono generalmente non alterati. La presenza di ipertrigliceridemia non esclude la diagnosi di FH; tuttavia, devono essere considerate altre cause di ipertrigliceride-

mia e potrebbe essere necessario un trattamento specifico (9). Lo step successivo, quando possibile è rappresentato dal test genetico che permette di confermare lo score ottenuto con i criteri clinici, di identificare precocemente soggetti ancora clinicamente sani ma ad alto rischio CV ed infine di motivare alla aderenza ai farmaci.

Due modi di definire l'ipercolesterolemia severa

Una definizione di Ipercolesterolemia severa applicata alla FH è stata data dall'International Atherosclerosis Society (IAS) (10) in cui il fenotipo ipercolesterolemico familiare severo è quello caratterizzato dal più alto rischio CV, che è caratterizzato dai livelli di LDL-C e dalla risposta individuale al trattamento ipocolesterolemizzante. Una seconda definizione è invece basata sui livelli di LDL-C qualunque sia la causa:

“il fenotipo ipercolesterolemico severo include tutti i pazienti con marcato aumento dei livelli di LDL-C” (11).

Le due definizioni rispondono ad esigenze diverse: la prima si pone come obiettivo, all'interno della popolazione FH, la stratificazione del rischio cardiovascolare, mentre la seconda cerca di includere i cambiamenti interpretativi prodotti dalle nuove conoscenze di genetica e dalla introduzione delle nuove tecnologie diagnostiche di “next generation” (Figura 2).

I soggetti con Ipercolesterolemia severa non sono uguali in relazione al rischio CV

Il determinante principale nella FH del rischio CV è rappresentato dai livelli assoluti di LDL-C che assieme all'età condizionano il *lifetime burden* di esposizione al fattore causale di aterosclerosi. I dati del

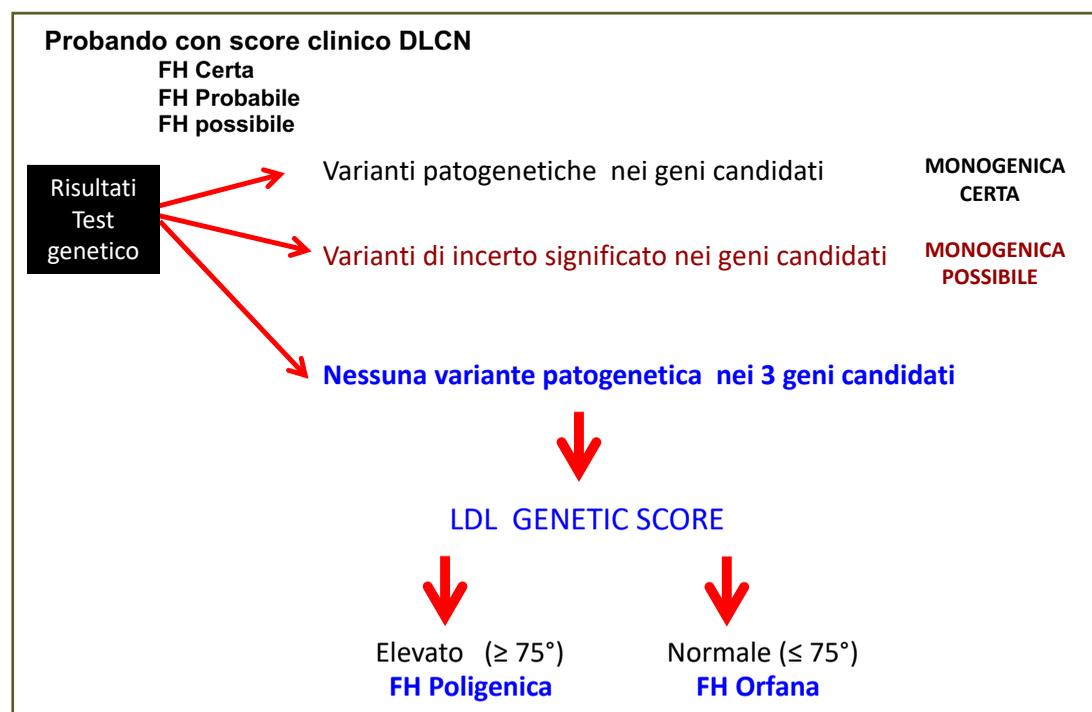


Figura 2 - Analisi genetica delle Ipercolesterolemie severe.

Gene	SNP number	Location	LDL-C-raising allele	Effect on LDL-C level (mmol/l)	Comments
LDLR	rs6511720	19:11202306	G	0.26	The principal causative locus for classical monogenic FH
CELSR2	rs12740374	1:109817590	G	0.23	Gene product has uncertain role in lipid metabolism; locus also includes <i>SORT1</i> , which encodes a protein involved in LDL-receptor processing
APOB	rs515135	2:21286057	C	0.16	Gene product is a ligand for the LDL receptor; also a causative locus for monogenic FH
ABCG8	rs6544713	2:44073881	T	0.15	Gene product is sterolin 2, which governs sterol absorption; also causative for sitosterolaemia
PCSK9	rs11206510	1:55496039	T	0.09	Gene product is an LDL-receptor degrading enzyme; also a causative locus for monogenic FH
HMGR	rs3846663	5:74655726	T	0.07	Gene product is the rate-limiting enzyme in cholesterol biosynthesis
TIMD4	rs1501908	5:156398169	C	0.07	Gene product has an uncertain role in lipid metabolism
HNF1A	rs2650000	12:121388962	A	0.07	Gene product is a transcription factor; rare variants are causative for inherited diabetes mellitus
MAFB	rs6102059	20:39228784	C	0.06	Gene product is a transcription factor with an uncertain role in lipid metabolism
NCAN	rs10401969	19:19407718	T	0.05	Gene product is a proteoglycan with an uncertain role in lipid metabolism

Nature Reviews | Cardiology 2018

Tabella 3 - Varianti polimorfiche utilizzate per calcolare lo score poligenico per FH.

registro spagnolo degli FH (12) dimostra come la storia di malattia cardiovascolare aterosclerotica prevalga maggiormente tra gli FH (9,4% vs 2,4% nei non FH).

Inoltre i risultati dell'applicazione di uno score poligenico di rischio cardiovascolare (*Tabella 3*), costituito da migliaia di varianti genetiche trovate negli studi GWAS, ha dimostrato come il rischio (odds ratio) di infarto conferito ad un individuo è sia nella condizione monogenica, sia nella condizione poligenica 3.7 volte maggiore (13). Negli FH i livelli di LDL-C sono correlati al tipo di mutazione genetica e quindi al suo effetto sulla funzione recettoriale. È possibile categorizzare le numerose e differenti mutazioni del gene LDLR in mutazioni receptor-defective (RD) e mutazioni receptor-negative (RN). Le prime, meno gravi, sono caratterizzate dalla presenza di attività recettoriale residua mentre le seconde, più gravi, dalla completa perdita di funzione del recettore. I livelli di LDL-C sono quindi differenti nei due gruppi con valori medi maggiori nei RN (14).

I soggetti con FH-RN in confronto agli FH-RD, oltre a presentare livelli medi di LDL-C superiori, hanno una maggiore prevalenza di malattia aterosclerotica coronarica e carotidea, una incidenza di eventi CV più precoce ed una maggiore prevalenza di accumulo tendineo di colesterolo (xantomatosi). Questa osservazione si integra con il fatto che il rischio CV negli FH eterozigoti così come nella popolazione generale è influenzato dai livelli di LDL-C, ma anche dall'effetto singolo o combinato dei fattori di rischio CV (ipertensione, diabete, obesità viscerale, *lifestyle*, fumo di sigaretta, fattori di rischio lipidico diversi da LDL-C, etc.) e dai fattori di rischio genetici non lipidici. Nel 2017 Paquette M et al. (15) hanno creato e poi validato il Montreal-FH-SCORE, uno score che include dati anagrafici, antropometrici, i fattori di rischio classici, il profilo lipidico completo e l'uso di statine, al fine di stratificare e predire il rischio CV nella popolazione di soggetti con FH certa. Le classi di score vanno da <10 a >36; i soggetti FH con un

alto Montreal-FH-SCORE score (>20) hanno un rischio 10,3 volte più alto di eventi cardiovascolari se confrontati con i soggetti con lo *score* più basso.

I creatori del Montreal-FH-SCORE suggeriscono inoltre l'utilità di applicare nella popolazione FH, score di rischio cardiovascolare poligenici lipidici e non lipidici come quelli che nelle ultime due decadi sono stati e continuano ad essere sviluppati e validati. Un esempio di tale score è riportato nella *Tabella 3*. In questa figura è ipotizzato l'uso di un pannello di varianti polimorfiche che negli studi di associazione genome-wide (GWAS) sono stati trovati correlati con il rischio CV. Tali geni appartengono a diversi cluster che sono legati fisiopatologicamente alla malattia cardiovascolare di natura aterosclerotica: geni del metabolismo lipoproteico, della trombosi/coagulazione, stress ossidativo, sistema endocrino, pressione arteriosa/funzione endoteliale, infiammazione e geni la cui funzione è ancora sconosciuta ma fortemente associati al rischio CV.

La prevalenza di Ipercolesterolemia severa è maggiore della prevalenza stimata di FH

Nella popolazione generale la curva gaussiana di distribuzione dei livelli di LDL-C (*Figura 1*) ci permette di identificare tre aree: la coda di sinistra ($<5^\circ$ percentile) rappresentata dai soggetti con valori bassi di LDL-C, l'area centrale dove è rappresentata la maggior parte della popolazione con livelli di LDL-C la cui severità dipende dal profilo di rischio individuale e la coda di destra ($>95^\circ$ percentile) (>190 mg/dl) dove sono rappresentati i soggetti con Ipercolesterolemia severa. In accordo con il Copenhagen General Population Study (4) la prevalenza attesa di FH è di 4:1000 individui. I dati italiani (16) mostrano

come circa il 7% della popolazione italiana nella fascia di età compresa tra 35 e 79 anni, presenta valori di LDL-C >190 mg/dl. I dati ISTAT aggiornati al 1° gennaio 2018 indicano per questa fascia di età in Italia una numerosità di 35.668.573 individui. In accordo alla precedente prevalenza, i soggetti con ipercolesterolemia severa sono un numero largamente superiore alla frequenza attesa di FH. Lo stesso dato è stato rilevato nel Ventimiglia Heart Study (17) dove il 95° percentile della distribuzione dei livelli plasmatici di LDL-C è di circa 190 mg/dl con 83 individui con ipercolesterolemia severa contro i circa 8 FH attesi. Khera AV et al. hanno chiaramente dimostrato come in una grande coorte di oltre 20000 soggetti il 6,7% avevano livelli di LDL-C >190 mg/dl e con il semplice approccio della sequenza dei tre geni candidati (LDLR, APOB e PCSK9) solo circa il 2% erano carriers di FH monogenica (18).

La nuova architettura genetica della Ipercolesterolemia severa

I principali geni candidati responsabili della Ipercolesterolemia familiare autosomica dominante sono, come già descritto, i geni che codificano per LDL recettore (LDLR), per apolipoproteina B (APOB) e per (PCSK9). Tuttavia quando viene condotta una analisi genetica con strategie tradizionali che analizzano soltanto i tre geni candidati, il risultato non è sempre univoco. In *figura 2* sono descritti gli scenari possibili. È possibile fare diagnosi di Ipercolesterolemia monogenica se viene identificata la variante patogenetica in uno dei tre geni candidati e questo avviene nel 50% dei casi; si possono però identificare varianti il cui significato patogenetico non è certo: le cosiddette VUS (varianti di significato incerto - Variant of Uncertain Significance -).

Nel caso di assenza di varianti nei tre geni candidati è necessario valutare il così detto carico poligenico. Nel 2013 Talmud PJ (19) dimostrò come livelli di LDL-C sovrapponibili a quelli dei soggetti con ipercolesterolemia monogenica potevano essere spiegati dal contributo additivo di 12 varianti funzionali in altrettanti geni che contribuivano ciascuno ad un piccolo aumento di LDL-C. È quindi possibile analizzare le 12 varianti (*Tabella 3*) (20) o il pannello ridotto di 6 varianti (21) che performa altrettanto bene, per accertare la etiologia poligenica della Ipercolesterolemia severa. Tuttavia in una certa percentuale di casi (fino al 30%) non è possibile determinare la presenza di una etiologia né monogenica né poligenica; queste forme orfane potrebbero essere spiegate da altri geni ancora sconosciuti, ma prima di definirle orfane bisogna escludere i casi di ipercolesterolemia da aumenti di Lp(a) e di beta sitosterolemia (20).

I risultati del lavoro di Tada H (22) hanno introdotto un nuovo livello di complessità genetica. In una coorte di 500 soggetti con Ipercolesterolemia severa, l'analisi genetica ha permesso di identificare 5 gruppi:

1. Individui senza mutazioni;
2. Individui con mutazioni nei geni accessori (ABCG5, ABCG8, APOE, and LDLRAP1);
3. Individui con causa monogenica e cioè con mutazioni nei tre geni candidati (LDLR, PCSK9, e APOB);
4. Individui con causa oligogenica e cioè con mutazioni sia nei tre geni candidati (LDLR, PCSK9, e APOB) che in 4 geni accessori (ABCG5, ABCG8, APOE, and LDLRAP1);
5. Soggetti omozigoti.

Il dato più interessante riguarda i livelli di LDL-C che sono più alti come atteso negli omozigoti, ma i casi oligogenici etero-

rozigoti mostravano una media di LDL-C superiore ai monogenici eterozigoti con un rischio di malattia coronarica superiore negli oligogenici.

Prevalenza delle forme poligeniche-studi di coorte

Balder et al. (23) hanno utilizzato un database olandese "lifelines" dove erano arruolate 27958 donne di età compresa tra 25 e 40 anni e hanno selezionato un campione di 121 soggetti con LDL-C >190 mg/dl ed un campione controllo. Nel 24% delle donne con LDL-C >190 mg/dl sono state trovate varianti nei tre geni candidati mentre il 21% era portatore di un carico poligenico responsabile della Ipercolesterolemia severa. Degno di nota il fatto che nel 55% del campione non è stata trovata una causa genetica dell'Ipercolesterolemia severa, ma gli elevati livelli di LDL-C erano associati ad uno stile di vita sfavorevole. I risultati di questo lavoro confermano la complessità dell'architettura genetica dell'Ipercolesterolemia severa e sottolineano l'impatto del *lifestyle* come fattore responsabile in una proporzione di soggetti con livelli estremi di LDL-C.

Wang J et al. (24) hanno applicato delle tecniche di sequenziamento di nuova generazione (next generation sequencing-NGS) in una coorte di 313 soggetti con ipercolesterolemia severa (LDL-C >194 mg/dl). Il 54% dei soggetti era portatore di una causa monogenica di Ipercolesterolemia severa, il 13% di una causa poligenica e nel 33% non è stato possibile identificare alcun determinante genetico. Tuttavia se il campione veniva stratificato sulla base dei livelli di LDL-C, nel quartile con valori superiori a 310 mg/dl, la maggior parte dei soggetti (88%) era portatore di una causa monogenica attribuibile essenzialmente a mutazioni nel gene LDLR. Quindi è

possibile a priori prevedere una etiologia poligenica che decresce come prevalenza all'aumentare dei valori di LDL-C da >190 mg/dl a > 310 mg/dl. Come spiegare il 33% di soggetti con ipercolesterolemia severa senza una apparente causa genetica? È possibile che non conosciamo geni che potrebbero dare un contributo monogenico o poligenico, oppure che determinanti genetici non mendeliani (genoma mitocondriale o fattori epigenetici) possano contribuire all'aumento di LDL-C; infine fattori ambientali (es. *lifestyle*) da soli o con interazioni genetiche potrebbero determinare la comparsa del fenotipo "Ipercolesterolemia severa". L'identificazione dei soggetti con Ipercolesterolemia severa a etiologia monogenica e poligenica ha anche delle importanti implicazioni cliniche; Sharifi et al. (25) hanno dimostrato in una piccola coorte di monogenici e poligenici come l'aterosclerosi subclinica carotidea e coronarica sia più rappresentata negli ipercolesterolemici severi monogenici. La spiegazione potrebbe risiedere nel fatto che i monogenici hanno un "lifetime LDL-C burden" più alto perché l'accumulo di LDL inizia alla nascita mentre i poligenici possono raggiungere gli stessi livelli di LDL-C più tardivamente nella loro vita.

La gestione clinica del paziente con Ipercolesterolemia severa

Le linee guida europee e i documenti di consenso dell'European Atherosclerosis Society (1, 26) per la Ipercolesterolemia severa, che viene considerata sinonimo di FH, hanno mutuato gli stessi goal di LDL-C validi per la popolazione generale. Per la popolazione pediatrica <135 mg/dl, per gli adulti <100 mg/dl in prevenzione primaria e <70 mg/dl in prevenzione secondaria. Per i soggetti FH quindi, in assenza di evidenze derivate da trial specificamen-

te disegnati per tale categoria, vengono estese le evidenze prodotte dai trial controllati condotti in popolazioni non FH. Viene quindi assunto che anche per questi soggetti la riduzione del rischio cardiovascolare è proporzionale alla riduzione dei livelli di LDL-C con gli stessi parametri: riduzione di 1 mmol/L di LDL-C induce una riduzione del 22% del rischio relativo di mortalità cardiovascolare e del 12% della mortalità totale in 5 anni (27). I soggetti FH e quindi con Ipercolesterolemia severa da cause genetiche si considerano ad alto rischio sin dall'età giovane-adulta per la durata dell'esposizione agli alti livelli del fattore causale LDL-C.

Le linee guida raccomandano le norme di *lifestyle* come primo approccio con particolare attenzione all'astensione dal fumo, all'aderenza alla dieta e all'attività fisica.

Lo scopo dei consigli nutrizionali è quello di evitare il sovrappeso e ridurre l'introito di colesterolo, grassi saturi e trans. L'attività fisica dovrebbe essere preceduta da una valutazione della *fitness* cardiorespiratoria. Tuttavia una volta diagnostica l'Ipercolesterolemia è raccomandato l'inizio della terapia farmacologica sia nei

Key points

- L'ipercolesterolemia severa (IS) è caratterizzata dalla presenza di livelli di LDL-C > 190 mg/dl
- La prevalenza di IS così definita è largamente maggiore della prevalenza attesa di Ipercolesterolemia Familiare
- L'architettura genetica della IS è complessa per la presenza di determinanti monogenici, poligenici, oligogenici e di interazione gene-ambiente
- Per una migliore identificazione della IS un cut-off di LDL-C > 190 mg/dl sarebbe preferibile al Dutch Lipid Clinic Network Score

bambini FH, a partire dagli 8-10 anni, sia negli adulti. Per i casi più gravi, come gli FH omozigoti, la terapia di prima linea è rappresentata dalla aferesi lipoproteica, quando disponibile, dalla terapia di combinazione statina + ezetimibe ed è oggi possibile trattare questi soggetti con lomitapide, farmaco che inibisce la proteina di trasferimento microsomiale dei trigliceridi (MTP), interferendo nell'assemblaggio epatico e nella secrezione delle VLDL, dal momento che questa proteina è fondamentale per il trasferimento dei trigliceridi sull'apolipoproteina B. Nei soggetti con FH omozigote in sola dieta, la riduzione massima ottenuta con lomitapide è stata del 51% per il colesterolo LDL, del 79% per il colesterolo VLDL, del 65% per i trigliceridi, del 56% per l'apolipoproteina B e del 15% per Lp(a); tuttavia sono frequenti steatosi epatica ed effetti collaterali gastrointestinali (28). L'esperienza italiana con lomitapide (29) dimostra come l'aggiunta in media di 19 mg/die del farmaco ha ridotto LDL-C del 68,2% e al nadir del 76,5%. Il 60% degli FH omozigoti avevano raggiunto il goal di LDL-C di <100 mg/dl, il 46,6% di <70 mg/dl, mentre l'80% (8 su 10 pazienti) in trattamento aferetico fu in grado di interrompere tale trattamento.

Recenti documenti di consenso dell'American College of Cardiology (ACC) (30) e della EAS (31) suggeriscono la possibilità di utilizzare un monoclonale anti PCSK9-evolocumab- che negli omozigoti con funzione recettoriale residua ha dimostrato di poter ridurre LDL-C di circa il 30%.

La terapia con statine degli FH ha prodotto una rilevante riduzione degli eventi cardiovascolari e l'esperienza olandese dimostra come le statine siano in grado di garantire una sopravvivenza libera da eventi sovrapponibile a quella dei soggetti non FH (5). L'analisi a lungo termine (20 anni) della coorte del Woscops study (32)

ha dimostrato nei pazienti con Ipercolesterolemia severa (LDL-C >190 mg/dl) un beneficio superiore a quello ottenuto nei primi 5 anni del trial in termini di riduzione dei MACE (eventi cardiovascolari maggiori) (HR 0,79 vs 0,63), della mortalità cardiovascolare e soprattutto per tutte le cause. Tali risultati sottolineano l'importanza della durata del trattamento. Per tale motivo le recenti linee guida americane (33) raccomandano nei soggetti con Ipercolesterolemia severa di non calcolare il rischio a 10 anni e trattare per raggiungere il goal di LDL-C <100 mg/dl con statina ad alta efficacia, associando eventualmente ezetimibe e, se necessario, inibitori della PCSK9. Esiste tuttavia un gap nella pratica clinica poiché solo il 20% dei soggetti con Ipercolesterolemia severa raggiunge il goal di LDL-C per il mancato uso delle terapie più efficaci e per la mancata titolazione della terapia. Nonostante l'uso delle terapie di combinazione più efficaci molti soggetti con Ipercolesterolemia severa non raggiungono i goal perché i livelli basali di LDL-C sono superiori a quel 50-60% che è la riduzione massima ottenibile con tali terapie; in questi casi le raccomandazioni delle società scientifiche americane ed europee suggeriscono la terapia addizionale con inibitori di PCSK9 (30, 31). Tali farmaci nel *setting* dell'Ipercolesterolemia severa hanno dimostrato di ottenere una riduzione additiva di LDL-C del 40-50%. Inoltre gli inibitori di PCSK9 rappresentano una valida opzione nei soggetti con Ipercolesterolemia severa, veri intolleranti alle statine, in aggiunta alla monoterapia con ezetimibe.

Commento

I dati a nostra disposizione dimostrano che la semplice identificazione con i criteri clinici del Dutch Lipid Clinic Net-

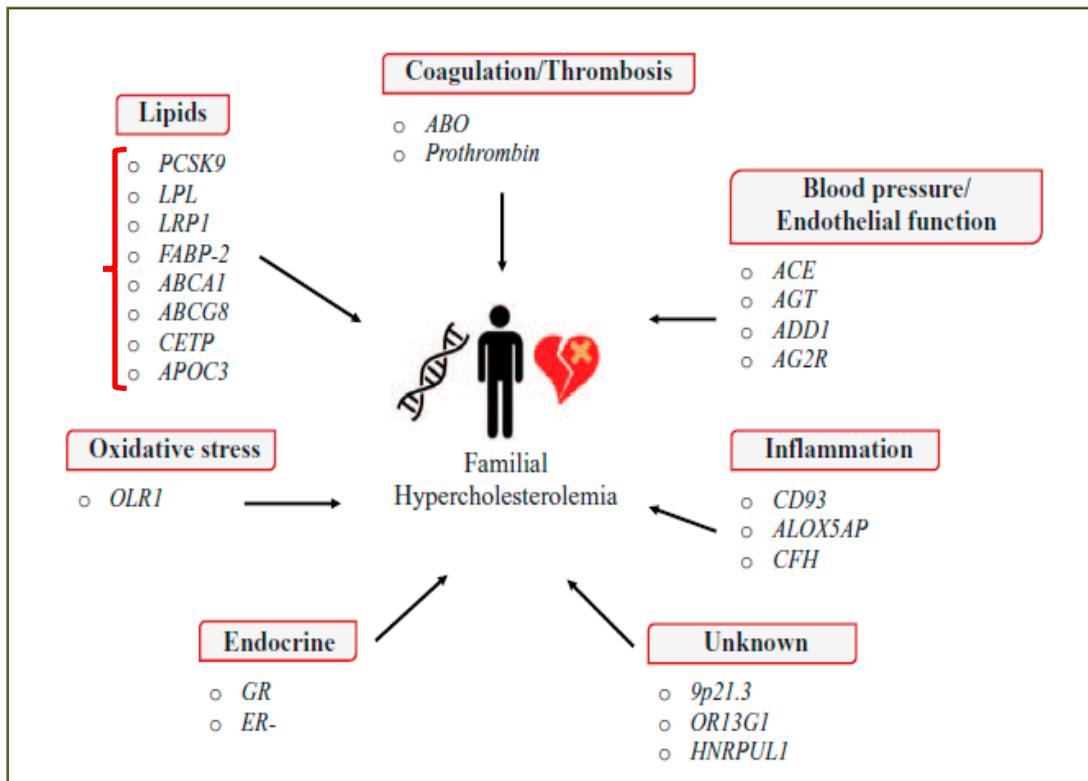


Figura 3 - Score di suscettibilità poligenica alle malattie cardiovascolari nella Ipercolesterolemia Familiare.

work (DLCN) dei pazienti FH, la cui prevalenza nella popolazione generale è di 1:250 (4) non risolve in modo esauriente il problema della Ipercolesterolemia severa (LDL-C >190 mg/dl), che è largamente più rappresentata nella coda di destra della distribuzione dei livelli di LDL-C in una data popolazione (Figura 1). D'altra parte se è vero che i soggetti FH per il loro peculiare "lifetime LDL-C burden" hanno un carico di malattia coronarica maggiore dei non FH (18), è pur vero che i soggetti con livelli di LDL-C >190 mg/dl, se portatori di altre condizioni di rischio, possono essere considerati a rischio CV molto alto e meritano pertanto la stessa attenzione clinica dei soggetti FH e cioè vanno identificati e trattati precocemente senza necessariamente valutare il profilo di rischio a 10 anni (10,33) (Figura 3). Nel

Box 2 sono elencate le tipologie di pazienti con Ipercolesterolemia severa (FH e non-FH). D'altra parte le nuove strategie di sequenziamento (NGS) hanno fatto luce sulla complessità dell'architettura genetica dell'Ipercolesterolemia severa, permettendoci di scoprire nuove etiologie oltre la

Box 2 - Chi sono i pazienti con Ipercolesterolemia severa?

- Pazienti HoFH
- Pazienti IS/FH con precedenti manifestazioni cardiovascolari di natura aterosclerotica
- Pazienti IS/FH con aterosclerosi subclinica avanzata
- Pazienti IS/FH con livelli di LDL-C >400 mg/dl
- Pazienti IS/FH con livelli di LDL-C >310 mg/dl + 1 FR
- Pazienti IS/FH con livelli di LDL-C >190 mg/dl + 2 high risk conditions

IS=Ipercolesterolemia severa; FH=Ipercolesterolemia Familiare

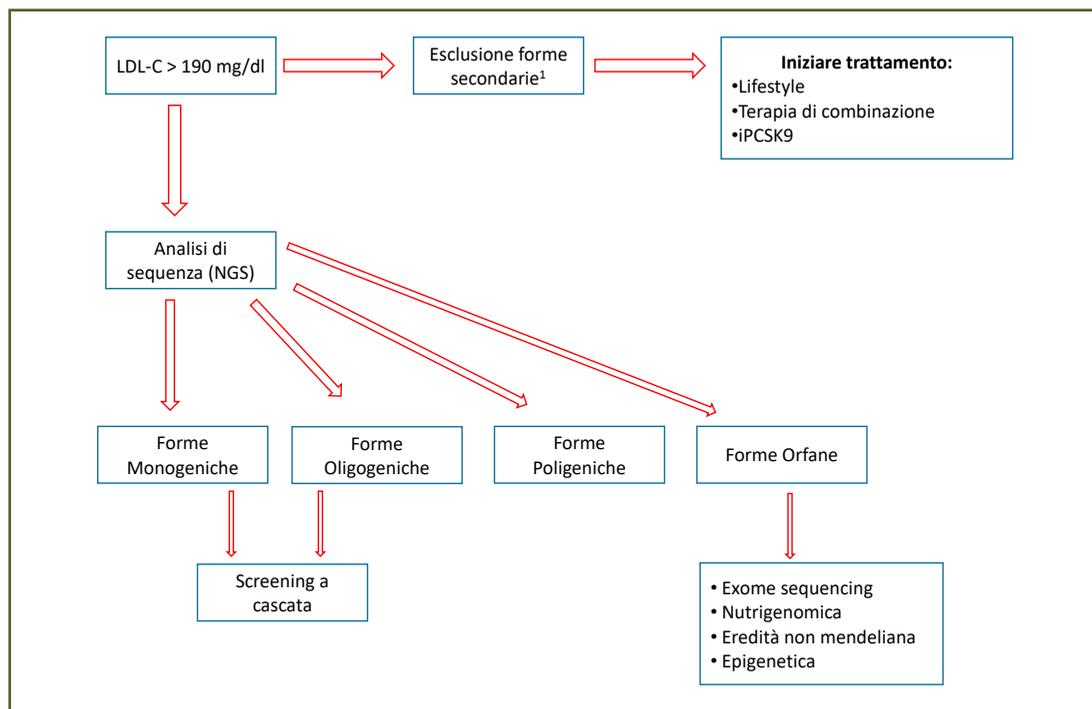


Figura 4 - Algoritmo per la gestione diagnostico-terapeutica dell'Ipercolesterolemia severa¹. Ipotiroidismo, colestasi, ipersurrenalismo, diabete, sindrome nefrosica, obesità viscerale, iperLp(a) genetica, terapia steroidea, ciclosporina, anticoncezionali, derivati vitamina A ed altro.

¹Ipotiroidismo, colestasi, ipersurrenalismo, diabete, sindrome nefrosica, obesità viscerale, iperLp(a) genetica, terapia steroidea, ciclosporina, anticoncezionali, derivati vitamina A ed altro.

monogenica, poligenica, oligogenica) ed in futuro ci faranno comprendere le interazioni geni-ambiente e le influenze epigenetiche per spiegare quella parte ancora percentualmente rilevante di Ipercoleste-

rolemia severa negativa all'analisi genetica attuale. L'algoritmo proposto in *figura 7* racchiude tutte le considerazioni finora fatte, necessita però di una validazione scientifica formale e con studi di *real life*.

RIASSUNTO

La definizione di Ipercolesterolemia severa può essere diversa in relazione al contesto clinico cui si riferisce, ad esempio, in un infartuato una colesterolemia LDL lontana dall'obiettivo terapeutico deve essere considerata severa anche in presenza di livelli plasmatici non particolarmente elevati. D'altra parte, i criteri del Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) dei pazienti FH non risolvono in modo esauriente il problema dell'Ipercolesterolemia severa, se è vero che i soggetti con livelli di LDL-C >190 mg/dl, portatori di altri fattori di rischio, devono essere considerati a rischio molto alto e meritano la stessa attenzione clinica dei soggetti FH. Le nuove strategie di sequenziamento genico hanno permesso di identificare nuove forme oltre la monogenica (poligenica, oligogenica) e, in futuro, ci faranno comprendere le interazioni geni-ambiente e le influenze epigenetiche per spiegare quella parte percentualmente rilevante di Ipercolesterolemia severa, ancora negativa all'analisi genetica.

Parole chiave: Ipercolesterolemia severa, FH, forme poligeniche, epidemiologia, genetica, gestione clinica.

Bibliografia

1. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. ESC Scientific Document Group. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016; 37: 2999-3058.
2. Goldstein JK, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic & molecular bases of inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill. 2001; 2863-2913.
3. Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a Huge prevalence review. *Am J Epidemiol*. 2004; 160: 407-420.
4. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Familial hypercholesterolemia in the danish general population: prevalence, coronary artery disease, and cholesterol-lowering medication. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97: 3956-3964.
5. Versmissen J, Oosterveer DM, Yazdanpanah M, Defesche JC, Basart DC, Liem AH, et al. Efficacy of statins in familial hypercholesterolemia: a long term cohort study. *BMJ*. 2008; 337: a2423.
6. Zuliani G, Arca M, Signore A, Bader G, Fazio S, Chianelli M, Bellosta S, et al. Characterization of a new form of inherited hypercholesterolemia: familial recessive hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999; 19: 802-809.
7. Garcia CK, Wilund K, Arca M, Zuliani G, Fellin R, Maioli M, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutations in a putative LDL receptor adaptor protein. *Science*. 2001; 292: 1394-1398.
8. Jarauta E, Junyent M, Gilabert R, Plana N, Mateo-Gallego R, de GE, Cenarro A, et al. Sonographic evaluation of Achilles tendons and carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2009; 204: 345-347.
9. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Boren J, Catapano AL, et al. Triglyceride-rich lipoproteins and high density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J*. 2011; 32: 1345-1361.
10. Santos RD, et al. International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016; 4: 850-861.
11. Sniderman AD, et al. The Severe Hypercholesterolemia Phenotype Clinical Diagnosis, Management, and Emerging Therapies. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014; 63: n. 19.
12. Pérez de Isla L, Alonso R, Mata N, Saltijeral A, Muñoz O, Rubio-Marin P, et al. Coronary Heart Disease, Peripheral Arterial Disease, and Stroke in Familial Hypercholesterolemia Insights From the SAFEHEART Registry (Spanish Familial Hypercholesterolemia Cohort Study for the SAFEHEART Investigators; *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016; 36: 2004-2010.
13. Khera Amit V, Chaffin M, Aragam KG, Haas ME, Roselli C, Hoan S, et al. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations; *Nat Genet*. 2018; 50: 1219-1224.
14. Bertolini S, et al. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 20: E41-52.
15. Paquette M, Dufour R, Baass A. The Montreal-FH-SCORE: A new score to predict cardiovascular events in familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol*. 2017; 11: 80-86.
16. Giampaoli S, et al. Cardiovascular health in Italy. Ten-year surveillance of cardiovascular diseases and risk factors: Health Examination Survey 1998-2012. *Eur J Prev Cardiol*. 2015; 22 (Suppl. 2): 9-37.
17. Barbagallo CM, Cavera G, Sapienza M, Noto D, Cefalù AB, Pagano M, Montalto G, Notarbartolo A, Averna MR. Prevalence of overweight and obesity in a rural southern Italy population and relationships with total and cardiovascular mortality: the Ventimiglia di Sicilia project. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001; 25: 185-190.
18. Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM5, Deng X, et al. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67: 2578-2589.
19. Talmud PJ, et al. Use of low-density lipoprotein cholesterol gene score to distinguish patients with polygenic and monogenic familial hypercholesterolemia: a case-control study. *Lancet*. 2013; 381: 1293-1301.
20. Berberich AJ, Hegele RA. The complex molecular genetics of familial hypercholesterolemia. *Nat Rev Cardiol*. 2019; 16: 9-2.
21. M. Futema, S. Shah, J.A. Cooper, et al., Refinement of variant selection for the LDL cholesterol genetic risk score in the diagnosis of the polygenic form of clinical familial hypercholesterolemia and replication in samples from 6 countries, *Clin. Chem*. 2015; 61: 231-223.
22. Tada H, Kawashiri MA, Nomura A, Teramoto R, Hosomichi K, Nohara A, Inazu A, Mabuchi

- H, Tajima A, Yamagishi M. Oligogenic familial hypercholesterolemia, LDL cholesterol, and coronary artery disease; *J Clin Lipidol*. 2018; 1436-1444.
23. Balder JW, Rimbert A, Zhang X, Viel M, Kanniga R, van Dijk F, et al. Genetics, Lifestyle, and Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Young and Apparently Healthy Women, *Circulation*. 2018; 137: 820-831.
 24. Wang J, Dron JS., Ban MR., Robinson JF, McIntyre AD, et al. Polygenic Versus Monogenic Causes of Hypercholesterolemia Ascertained Clinically *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016; 36: 2439-2445.
 25. Sharifi M, Higginson E, Bos S, Gallivan A, Ka Wah Li D Harvey, et al. Greater preclinical atherosclerosis in treated monogenic familial hypercholesterolemia vs polygenic hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2017; 263: 405-411.
 26. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J*. 2013; 34: 3478-3490.
 27. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhalra N, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010; 376: 1670-1681.
 28. Cuchel M, Bloedon LT, Szapary PO, Kolansky DM, Wolfe ML, Sarkis A, et al. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2007; 356: 148-156.
 29. D'Erasmo L, Cefalù AB, Noto D, Giammanco A, Averna M, Pintus P, et al. Efficacy of Lomitapide in the Treatment of Familial Homozygous Hypercholesterolemia: Results of a Real-World Clinical Experience in Italy. *Adv Ther*. 2017; 34: 1200-1210.
 30. Lloyd-Jones DM, Morris PB, Ballantyne CM, Birtcher KK, Daly DD Jr, DePalma SM, et al. ACC expert consensus decision pathway on the role of non-statin therapies for LDL-cholesterol lowering in the management of atherosclerotic cardiovascular disease risk: a report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 68: 92-125.
 31. Landmesser U, John Chapman M, Farnier M, Gencer B, Gielen S, Hovingh GK, et al. European Society of Cardiology/European Atherosclerosis Society Task Force consensus statement on proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitors: practical guidance for use in patients at very high cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2017; 38: 2245-225530
 32. Vallejo-Vaz AJ, Robertson M, Catapano AL, Watts GF, Kastelein JJ, Packard CJ, et al. Low-Density Lipoprotein Cholesterol Lowering for the Primary Prevention of Cardiovascular Disease Among Men With Primary Elevations of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels of 190 mg/dl or Above: Analyses From the WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) 5.
 33. Grundy SM, et al. AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary *Circulation*. 2018.

MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ

BASAGLIA RACCONTATO A TEATRO

La vera storia di un'impensabile liberazione

Basaglia told in the theater

The true story of an unthinkable liberation



PEPPE DELL'ACQUA

Già direttore del Dipartimento di Salute Mentale di Trieste

Quando il direttore del Teatro Stabile del Friuli Venezia Giulia, Franco Però, ha proposto a Massimo Cirri, conduttore radiofonico, psicologo e amico mio carissimo, a Erika Rossi, giovane regista triestina e a me di fare qualcosa in occasione dei 40 anni della legge 180, ho pensato che scherzasse. Per più di un mese ho tenuto lontano anche il pensiero di quell'improbabile avventura. Temevo che, specie a Trieste, lo spettacolo potesse avere scarsa partecipazione dal momento che i triestini *sanno già tutto* e da decenni sono partecipi di questa storia e poi temevo potesse far riemergere contrasti feroci che sempre ci hanno accompagnato.

Erika e Massimo, invece, erano entusiasti. Durante l'estate abbiamo cominciato a pensare a cosa e come raccontare. Non era solo l'orrore del manicomio l'oggetto delle nostre chiacchierate. Non voleva essere l'oggetto del nostro narrare soltanto "la distruzione dell'ospedale psichiatrico

come luogo di istituzionalizzazione". Bisognava cercare di andare alle radici della "rivoluzione". Il tema avrebbe dovuto essere: Basaglia non solo chiude i manicomi, restituisce diritto, dignità, soggettività. Bisognava raccontare la *vera storia*. "Messa tra parentesi la malattia..." L'ingresso di Basaglia a Gorizia l'inizio del canovaccio¹.

È il 16 novembre 1961 quando Franco Basaglia entra come direttore nel manicomio di Gorizia, ai confini del mondo, nel cuore della guerra fredda.

Tutto comincia qui. Lo scenario che si presenta al giovane medico è un mondo di sofferenza, di violenza, di annientamento, gli uomini e le donne non ci sono più, soltanto internati senza volto né storia. È stato mandato via dalla Clinica delle malattie nervose e mentali dall'università di Padova dal *barone* Giovanni Belloni che

¹Lo spettacolo teatrale utilizza quattro libri della Collana 180 – Archivio critico della salute mentale delle Edizioni Alpha Beta Verlag di Merano come canovaccio:

"L'Istituzione Inventata." di Franco Rotelli

"All'ombra dei ciliegi giapponesi. Gorizia 1961." di Antonio Slavich

"Non ho l'arma che uccide il leone" di Peppe Dell'Acqua

"Il pensiero lungo. Franco Basaglia e la Costituzione" di Daniele Piccione

Indirizzo per la corrispondenza

Peppe Dell'Acqua

E-mail: peppedellacquats@gmail.com

considera eretico il suo allievo. Lo chiama "el filosofo". Lo sa impegnato in letture filosofiche. Basaglia, con altri giovani, denuncia l'assenza dell'umano, del soggetto, dell'altro nel linguaggio e nelle pratiche della psichiatria. Niente di meglio che il manicomio può convincerlo della giustezza della sua ricerca.

È impensabile in quel luogo poter incontrare l'altro. Per farlo deve mettere in un angolo la malattia, la diagnosi, la maschera pesante dell'internamento: *mettere tra parentesi la malattia*. Gli internati cominciano così ad avere un nome, diventano storie singolari, persone, cittadini: il malato non la malattia. Basaglia deve interrogarsi, mentre incontra quel desolante paesaggio, sulla natura della malattia mentale, su una disciplina, la psichiatria, dalle radici quanto mai fragili e nebulose, che esercita un potere smisurato che opprime e nega l'esistenza a milioni di persone. Una disciplina che per farsi deve ridurre l'altro a oggetto. "Che cos'è la psichiatria?" sarà l'interrogativo sempre attuale e angosciato che dovrà accompagnarci negli anni a venire. La presenza delle persone, finalmente, non può che far crescere l'urgenza del cambiamento: si aprono le porte, si aboliscono tutte le forme di contenzione, i trattamenti più crudeli. Prende avvio il lento e progressivo smontaggio dell'istituzione manicomiale. Le grandi imprese hanno spesso un inizio modesto, quasi minimalista: incontrare e ascoltare le persone e riconoscere i loro bisogni. Giorno dopo giorno azioni minime: muri ridipinti, uniformi sostituite da vestiti, incontri, giri in Cinquecento per chi era salito solo su un'ambulanza per arrivare legato in manicomio. In quel deserto immobile e squallido ogni gesto irrituale, ogni piccola azione che contribuiva a scalfire almeno un po' la superficie della piattezza istituzionale sembrava già una riforma.

Divenne questa la traccia su cui lavorare. In scena una panchina rossa, Massimo e io a conversare, alle spalle le immagini degli uomini e delle donne che faticosamente procedono verso la loro liberazione.

Come si capisce è stato per me un andare indietro. Le storie che ogni sera raccontavamo muovevano passioni, interrogativi, memoria di sconfitte brucianti. Emozioni che non mi hanno mai lasciato. Ci sentivamo, noi ragazzi venuti da mezza Italia, nel cuore di una storia impensabile che accadeva davanti ai nostri occhi. Contribuire allo smontamento della grande e secolare istituzione manicomiale era come vivere nell'urgenza di un capovolgimento epocale che non poteva fare a meno della nostra passione. Affrontavamo rischi, amori, conflitti nella vertigine di orizzonti sconosciuti.

Durante le numerose repliche dello spettacolo, più di trenta, 4.300 spettatori, non c'è stata una sola volta che, in alcuni passaggi cruciali, non abbia avvertito un'emozione tanto profonda da non riuscire a dominarmi. Le parole venivano fuori svelando i sentimenti che stavo provando. Ogni sera dovevo prendere il mio rassicurante confettino di trinitrina con un'angina sempre in agguato.

Non potevo non riandare agli anni dell'università e vivere con stupore la presenza attenta delle persone che senti palpitarne nel buio della sala.

Avevo sentito parlare di Gorizia quando ero studente all'Università di Napoli. Basaglia era lontanissimo. È stato nelle assemblee e nelle occupazioni del '68. Sentivo parlare della medicina come serva dei poteri politici ed economici; i manicomi si presentavano per la prima volta ai miei occhi come il luogo di sottomissione e di asservimento. Sembrò, a me e ad alcuni compagni, che il manicomio di cui sentiva-

mo solo ora parlare, doveva essere il punto di massima concretizzazione del rapporto di sudditanza della medicina. O meglio della psichiatria e del gigantesco apparato del positivismo scientifico a sostegno di ogni forma di potere. È così che con alcuni compagni decidemmo di andare a fare l'internato proprio nell'Istituto delle Malattie nervose e mentali, governata con mano ferma dal *barone* Vito Longo.

Gli esempi di quella medicina li avevamo davanti ai nostri occhi.

I bassi del quartiere Porto, di Spaccanapoli nella città vecchia intorno al Policlinico, ospitavano i laboratori dei guantai. Le neuropatie da collanti nelle giovani lavoranti erano frequentissime. Queste giovani donne arrivavano nell'istituto delle malattie nervose e mentali, dove intanto ero diventato interno e frequentavo il reparto di psichiatria. La medicina rattoppava quei danni così compromettenti ma nessuno si occupava delle condizioni di lavoro insalubri, dell'aria irrespirabile di quei luoghi angusti, dello sfruttamento fuori da ogni immaginazione che queste persone subivano. Noi studenti interni, con gli assistenti giovani, cercavamo di incontrare in altro modo i pazienti. Portavamo da casa una camicia, un pantalone, un pullover. Piccole trasgressioni molto rudimentali. Uscivamo di nascosto per un caffè, un pezzo di pizza, una chiacchierata passeggiando. Il professore veniva a sapere ogni cosa e così sempre quando veniva al piano della psichiatria, ogni giovedì, puntava su di noi l'indice e con grazioso accento siciliano: "... e ricordatevi - minacciava - che nella mia clinica non si deve ba-sa-gliare!"

Fu così che decisi di andare a trovare Basaglia che, dopo Gorizia, aveva cominciato a lavorare nell'Ospedale Psichiatrico di Colorno/Parma. L'incontro fu sorprendente, ciò che accadde non potevo neanche immaginarlo. Un giovane medico

napoletano che lavorava con Basaglia mi fissò un appuntamento. Era un giorno di aprile quando sono arrivato a Colorno e sono entrato, nascondendo la mia paura e il mio disgusto, nel Manicomio/Palazzo Ducale che fu di Maria Luigia.

Entravo per la prima volta in un manicomio. Mi condussero nella stanza dove erano riuniti i medici e infermieri. Appena entrato, Basaglia si alzò e mi venne incontro stringendomi la mano, parlandomi con affabilità. Mi propose subito, di andare a Trieste con lui e gli altri. Avrebbe lasciato Colorno di lì a poco per andare a Trieste. Era questa la sua urgenza in quel momento. Io avrei dovuto laurearmi a giugno di quell'anno e glielo dissi e lui sembrò ancora più contento: "Benissimo, allora puoi venire in luglio!"

Non potevo capire quell'offerta e quell'urgenza. Capiro tutto dopo. Basaglia stava reclutando giovani come me per formare una squadra che lo avrebbe accompagnato a Trieste. Che io non fossi ancora laureato e non avessi mai frequentato i luoghi delle psichiatrie, così come nessuno dei giovani che stava reclutando, era ciò che andava cercando dopo l'esperienza goriziana. In seguito dirà: "Non basterebbe la mia intera vita per cambiare la testa ai vecchi psichiatri!". Stava preparando una squadra di giovani da formare per realizzare il cambiamento che aveva in mente.

Tornai a Colorno in luglio per cercare di capire. I rapporti tra le persone, malgrado i lugubri camminamenti del palazzo ducale, erano accoglienti e generosi. Non un camice bianco, scomparso l'assetto gerarchico al quale mi ero assuefatto alla clinica psichiatrica. Noi studenti, a Napoli, eravamo in fondo alla fila, rigorosamente in camice bianco quando il professore faceva il giro nel reparto di psichiatria (!) il giovedì mattina. Capii allora che non sarei mai più tornato a Napoli.

Negli anni che seguirono, il rapporto con Basaglia è stato sempre intensissimo. La riunione delle cinque, così detta, alla fine della giornata di lavoro nell'O.P.P., fu il momento più ricco per la mia formazione. Basaglia riusciva sempre a farci vedere le cose da un'altra angolatura, a capovolgere i problemi, a rassicurarci ma anche a mostrare tutto il suo disappunto quando doveva sottolineare le nostre leggerezze, i residui delle ideologie movimentiste, i comportamenti imprudenti o al contrario eccessivamente cauti. Il richiamo alla responsabilità è stato una costante. Anche di fronte agli immancabili "incidenti" ci esortava a tenere *aperte le porte*, ad aprirle ancora di più, e sempre ci richiamava con rigore, con durezza, alla responsabilità. L'imperativo era esserci, con i pazienti, con gli infermieri, con i parenti, nelle assemblee, nella città. E così è stato per tutti gli anni che seguirono.

Non posso proprio dire che me ne rendessi conto, anzi a volte mi sentivo perduto. Che si stesse trasformando la vita nel manicomio era evidente, ma avere consapevolezza di quanto questo avesse poi potuto cambiare radicalmente quel mondo, non era alla mia portata. Era l'entusiasmo che ci teneva uniti nell'impresa. Era "il sogno di una cosa migliore". Venivamo tutti dalle recenti esperienze universitarie, il lavoro con Basaglia ci permetteva di continuare a pensare alla "rivoluzione". Dopo la laurea eravamo alla ricerca di uno sbocco professionale che potesse assicurare una qualche continuità tra le utopie che lasciamo e la professione medica alla quale ci stavamo avviando. Avevamo la consapevolezza che sarebbe cominciata una vita professionale che ci avrebbe costretto a scegliere: da un lato essere medici dentro le istituzioni, la carriera, l'accademia e di-

stanti dalla concretezza della vita delle persone; dall'altro l'impegno politico, quello che restava degli anni caldi dell'Università. Tanti *compagni* delle lotte universitarie si stavano già perdendo nel carrierismo esasperato o al contrario in scelte politiche rigide e senza sbocco.

Con Basaglia, senza accorgercene, stavamo trovando la nostra strada, senza separazioni, senza dissociazioni: la "lunga marcia attraverso le istituzioni" e il lavoro quotidiano, instancabile. Un'incredibile fortuna.

Ogni sera a teatro ho raccontato di me e delle cose meravigliose e ruvide che accadevano intorno. Ho rivissuto i dieci anni forse più importanti della mia vita, la frequentazione preziosa di un gruppo di lavoro che di anno in anno diventava sempre più coeso e stimolante. Ci rendevamo conto che raccontare delle origini, delle parentesi e della frattura insanabile che Basaglia ha provocato nel corpo della psichiatria era il rischio di non essere compresi e la certezza di un *vergognoso fallimento*, diceva Massimo per farmi coraggio.

Il successo è stato ancora più inaspettato. Ogni sera a Trieste e poi a Milano, a Torino, a Ferrara, a Udine, a Codroipo e Cervignano tutto esaurito! Le persone manifestavano la loro partecipazione, ci facevano avvertire la loro emozione. Gli applausi a scena aperta ci stupivano e mettevano ancora di più in crisi la mia fragile tenuta. Credo che a Trieste come negli altri teatri, ma a Trieste soprattutto, il nostro narrare ha fatto sì che le persone potessero finalmente appropriarsi di una storia che ha cambiato il modo di vedere l'altro. Di interrogarsi sulla natura della malattia mentale. Un desiderio di appartenere. Cosa di meglio potevo attendermi!

NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI**ACC 2019**

Nello scorso mese di marzo si è tenuto a New Orleans il meeting annuale dell'American College of Cardiology (ACC). Tra gli argomenti discussi durante il congresso ricordiamo l'aggiornamento delle raccomandazioni in termini di prevenzione cardiovascolare e le recenti evidenze dagli studi clinici.

TAVI in alternativa all'intervento chirurgico in pazienti a basso rischio

Grande rilievo ha avuto la presentazione dei risultati positivi di due trial clinici che hanno testato la sostituzione transcateretere della valvola aortica (TAVI) in pazienti con stenosi aortica a basso rischio rispetto alla chirurgia. Finora, la TAVI era riservata a pazienti con stenosi grave e rischio intermedio/alto, ma questi risultati aprono la possibilità del suo utilizzo a una popolazione molto più ampia di pazienti a basso rischio. I risultati dei trial PARTNER 3 ed EVOLUT hanno testato due sistemi diversi, che hanno portato a risultati simili. Il primo, utilizzando il sistema Sapien 3 su 1000 pazienti, ha mostrato un tasso significativamente inferiore dell'*end point* primario, un composito di morte, ictus e riospedalizzazione a 1 anno rispetto a pazienti trattati con chirurgia (8,5 vs 15,1%; $p < 0,001$ per non inferiorità; $p = 0,001$ per superiorità). Il tempo di ricovero era più breve (3 vs 7 giorni) e i soggetti trattati mostravano un più rapido miglioramento in termini di progressione dell'insufficienza

cardiaca, cardiomiopatia e ripresa della deambulazione. Il secondo, condotto su oltre 1400 pazienti utilizzando una valvola autoespandente (CoreValve/Evolut R/Evolut PRO, Medtronic), ha mostrato non inferiorità rispetto alla chirurgia in un'analisi bayesiana intermedia dell'*end point* primario (morte per qualsiasi causa o ictus invalidante a 24 mesi), che è risultato pari a 5,3% nel braccio TAVI e 6,7% nel braccio con chirurgia, così come tassi significativamente più bassi di ictus invalidante e ospedalizzazione per insufficienza cardiaca a 1 anno. Un'analisi di registro su dati raccolti in *real life* ha confermato il profilo favorevole in termini di sicurezza della TAVI, a sostegno del fatto che quest'ultima è un'alternativa ragionevole alla chirurgia per i pazienti con stenosi della bicuspidale, mostrando risultati simili a quanto ottenuto dalla TAVI nella stenosi tricuspide. Lo studio ha esaminato quasi 2700 pazienti con valvulopatia bicuspidale o tricuspide (appaiati per *propensity score*), sottoposti a TAVI con la valvola Sapien 3 nell'ambito del Registro TVT della *Society of Thoracic Surgeons* e dell'*American College of Cardiology* tra giugno 2015 e novembre 2018. Un

numero maggiore di pazienti nel braccio bicuspidale ha richiesto la conversione in chirurgia (0,9% vs 0,4%; $p=0,03$) e ha avuto più rotture anulari (0,3% vs 0%; $p=0,02$). A 30 giorni, non vi era differenza tra i gruppi di studio in termini di mortalità per tutte le cause, emorragia grave, complicanze vascolari maggiori e necessità di un nuovo intervento sulla valvola aortica. Nelle analisi corrispondenti a 1 anno non ci sono state differenze in termini di mortalità tra le coorti bicuspidale e tricuspide.

Doppia terapia con apixaban in pazienti con fibrillazione atriale dopo sindrome coronarica acuta: i risultati dello studio AUGUSTUS

Il problematico rapporto rischio-beneficio della terapia antitrombotica in pazienti con fibrillazione atriale (FA) e l'indicazione per la terapia con doppio antiaggregante (DAPT) può diventare meno scoraggiante in base ai risultati dello studio randomizzato AUGUSTUS. Nel trial, in persone con FA e sindromi coronariche acute recenti (ACS) o intervento coronarico percutaneo (PCI), tutti in trattamento con un inibitore del recettore P2Y12 (come clopidogrel), i rischi di sanguinamento maggiore e di morte o ospedalizzazione sono stati entrambi inferiori nel braccio trattato con il nuovo anticoagulante orale apixaban rispetto a un antagonista della vitamina K (VKA), come warfarin. Lo studio, con disegno fattoriale 2 x 2, è stato condotto su oltre 4000 pazienti tutti trattati con clopidogrel, randomizzati in aperto ad apixaban o a warfarin e, in una diversa randomizzazione in doppio cieco, ad aspirina (81 mg/die) o placebo. Un'altra analisi dello studio ha evidenziato come la DAPT potesse risultare non necessaria e persino più rischiosa in termini di sanguinamento maggiore rispetto a un inibitore P2Y12 da

solo nella maggior parte dei pazienti. L'integrazione dei due risultati indipendenti ha mostrato come il trattamento con apixaban in aggiunta a un inibitore P2Y12 riduca il rischio di sanguinamento e di eventi clinici. Tuttavia i risultati del trial suggeriscono come tale doppia terapia possa non essere sempre la migliore opzione per i pazienti con FA e ACS o PCI recenti, suggerendo che alcuni pazienti potrebbero comunque beneficiare dalla terapia tripla.

In conclusione, lo studio fattoriale AUGUSTUS ha, per la prima volta, consentito di testare in modo indipendente il ruolo di due regimi anticoagulanti e dell'aspirina rispetto a placebo in pazienti con FA ricoverati per SCA o PCI. I risultati supportano l'uso generalizzato di apixaban rispetto agli VKA in questa popolazione. Sebbene l'aspirina abbia aumentato in modo quantitativamente significativo i sanguinamenti, il suo utilizzo è stato associato ad una riduzione numerica di eventi ischemici, in particolare trombotosi da stent, che non ne giustifica una sospensione precoce e sistematica, in particolare nei pazienti ad alto rischio trombotico, come quelli con ACS e PCI.

Nuove linee guida AHA/ACC sulla prevenzione cardiovascolare primaria

Durante il meeting, l'*American College of Cardiology* (ACC) e l'*American Heart Association* (AHA) hanno presentato le nuove linee guida sulla prevenzione primaria delle malattie cardiovascolari, pubblicate il 17 marzo sul *Journal of American College of Cardiology* e su *Circulation*. Come atteso, uno dei principali cambiamenti è una raccomandazione contro l'ampio uso dell'aspirina nella prevenzione primaria, dopo che i risultati recentemente riportati degli studi ARRIVE,

ASCEND e ASPREE ne hanno definito il bilancio rischio-beneficio in diverse popolazioni. Il documento sottolinea come uno stile di vita sano sia il fattore più importante nella prevenzione durante l'intera vita, ma guarda anche alla prevenzione da una nuova prospettiva. In base delle evidenze scientifiche, solo il 10%-20% della salute è in realtà determinato dall'assistenza sanitaria ricevuta, mentre il 70-80% è influenzato da fattori sociali, tanto che il rischio di malattie cardiache e l'aspettativa di vita possono variare notevolmente anche tra persone che vivono a poca distanza. Per questo motivo, oltre alla valutazione routinaria dei fattori di rischio cardiovascolare tradizionali, gli adulti dovrebbero essere regolarmente valutati anche per fattori di stress psicosociale e supportati con una consulenza appropriata. Per i soggetti a rischio intermedio per CVD, i medici possono utilizzare fattori di "aumento del rischio" per indirizzare le decisioni sugli interventi preventivi. Questi fattori includono storia familiare di CVD, presenza di sindrome metabolica, di malattia renale cronica e ulteriori *marker* come la proteina C-reattiva, la lipoproteina(a) o l'apolipoproteina B.

Nessun vantaggio per l'angiografia coronarica immediata rispetto a quella ritardata dopo arresto cardiaco: il trial COACT

L'angiografia coronarica immediata non offre alcun vantaggio in termini di sopravvivenza rispetto all'approccio ritardato negli adulti rianimati dopo un arresto cardiaco extra-ospedaliero, senza segni di infarto miocardico con sopraslivellamento del tratto ST (STEMI). Questo è il messaggio del trial COACT (*Coronary Angiography After Cardiac Arrest Trial*) su oltre 500 pazienti. L'incidenza dell'*end point* pri-

mario, la sopravvivenza a 90 giorni, era simile, pari a circa il 66% in entrambi i gruppi, e non vi era alcuna differenza significativa nell'*end point* secondario, lo stato neurologico alla dimissione della terapia intensiva. Inoltre, i dati suggeriscono un significativo ritardo del 16% nel tempo per raggiungere la temperatura corporea target durante l'ipotermia indotta in caso di angiografia immediata. Lo studio COACT rappresenta un importante passo in avanti nella cura dei pazienti dopo un arresto cardiaco e i risultati suggeriscono che, per la maggior parte dei pazienti in coma che hanno avuto un arresto cardiaco senza evidenza di STEMI, l'angiografia coronarica non deve essere eseguita immediatamente. Tuttavia, la maggior parte dei pazienti che hanno avuto un arresto cardiaco e sono stati sottoposti ad angiografia non ha avuto lesioni coronariche clinicamente significative, e quindi solo una piccola parte della popolazione in studio sarebbe stata influenzata dalla tempistica o dall'effettuazione dell'angiografia coronarica. Pertanto, i risultati dello studio dovrebbero essere interpretati con cautela.

Dimissioni precoci e trattamento domiciliare con rivaroxaban in pazienti con embolia polmonare a basso rischio: il trial HoT-PE

Lo studio *Home Treatment of Pulmonary Embolism* (HoT-PE) suggerisce che i pazienti a basso rischio con embolia polmonare (EP) acuta possono essere dimessi precocemente, eventualmente dopo una terapia parenterale limitata, e trattati in sicurezza a domicilio con rivaroxaban orale. L'obiettivo principale dello studio HoT-PE era infatti quello di determinare se la dimissione precoce e il trattamento fuori dall'ospedale con rivaroxaban in pazienti con EP acuta a basso rischio - con

particolare attenzione alla selezione dei pazienti - potessero essere efficaci, sicuri e, indirettamente, fattibili. L'*outcome* primario di efficacia, la tromboembolia venosa sintomatica ricorrente (TEV) o l'EP fatale entro 3 mesi, si è verificato in 3 pazienti su 525 (0,6%) nella popolazione *intention-to-treat*. Tutti e 3 i casi erano PE ricorrenti. Il tasso di efficacia era pari a un terzo della soglia dell'1,7%, stabilita dagli sperimentatori sulla base dei tassi di recidiva sintomatica a 3 mesi negli studi precedenti sul trattamento domiciliare e nello studio EINSTEIN PE.

I pazienti negli Stati Uniti sono tipicamente trattati con eparina in acuto più un anticoagulante orale diretto (DOAC), ma rimangono in ospedale per circa 5 giorni. I risultati di HoT-PE supportano la selezione di pazienti con PE per il trattamento ambulatoriale con un DOAC, contribuendo a ridurre le complicanze ospedaliere e razionalizzare l'uso delle risorse sanitarie. La durata mediana dell'ospedalizzazione nello studio era di 34 ore, con il 93,6% dei pazienti dimessi entro 48 ore.

I benefici derivati dalla MitraClip rispetto alle cure standard sono stati confermati in diversi sottogruppi: sottoanalisi dal trial COAPT

Un sottostudio ecocardiografico dello studio COAPT (*Cardiovascular Outcomes Assessment of the MitraClip Percutaneous Therapy for Heart Failure Patients With Functional Mitral Regurgitation*) non è riuscito a identificare alcuna caratteristica ecografica di base per differenziare i pazienti con insufficienza cardiaca (HF) e rigurgito mitralico secondario (MR) che potrebbero o meno beneficiare di MitraClip. MitraClip ha infatti fornito sostanziali benefici in termini di ospedalizzazione

per insufficienza cardiaca e morte in tutti i sottogruppi, indipendentemente dal grado di disfunzione ventricolare sinistra, dalle dimensioni del ventricolo sinistro, dall'ipertensione polmonare, dalla gravità del rigurgito tricuspide o da singoli parametri di rigurgito mitralico.

Lo scorso anno, i ricercatori del COAPT avevano riferito che il MitraClip aveva ridotto l'*end point* primario dei ricoveri per insufficienza cardiaca a 2 anni del 47% rispetto alla sola terapia medica orientata alle linee guida e aveva comportato una riduzione della mortalità del 38%. I risultati erano però in contrasto con quelli del trial francese MITRA-FR, che ha utilizzato lo stesso dispositivo ma non ha mostrato alcun beneficio aggiuntivo rispetto alla terapia medica per l'*end point* composito primario di morte per tutte le cause e ospedalizzazione non programmata a 1 anno. I ricercatori del COAPT hanno sottolineato la necessità di seguire i criteri di inclusione dello studio per replicare i risultati nella pratica clinica. Ciò anche alla luce della recente decisione della *Food and Drug Administration* americana di estendere l'indicazione di MitraClip per includere l'MR secondario o funzionale in base ai risultati COAPT.

Non inferiorità nel passaggio da terapia antibiotica endovenosa a orale in pazienti con endocardite rispetto al prolungamento del trattamento endovenoso: analisi esplorativa post hoc del trial POET

Il follow-up a lungo termine di pazienti con endocardite infettiva sinistra stabilizzati non mostra alcun fallimento nel trattamento con il passaggio precoce dalla terapia antibiotica endovenosa a quella orale, diminuendo il numero di settimane in ospedale. L'analisi esplorativa *post hoc* del-

lo studio POET (*Partial Oral Treatment of Endocarditis*) ha mostrato che la terapia endovenosa iniziale (IV), seguita dal passaggio a una terapia antibiotica orale, era non inferiore al trattamento con IV per l'end point composito primario di morte per tutte le cause, chirurgia cardiaca non programmata, eventi embolici o recidiva di batteriemia a 6 mesi. I risultati sono stati coerenti tra sottogruppi.

I farmaci per la terapia intensiva della pressione in pazienti anziani possono contribuire al controllo dell'ipertensione cerebrale: il trial INFINITY

La terapia farmacologica intensiva per abbassare la pressione arteriosa (BP), rispetto al trattamento con un obiettivo meno stringente, sembra rallentare la progressione delle lesioni cerebrali sottocorticali valutati mediante risonanza magnetica in pazienti di età pari o superiore a 75 anni. Tuttavia, ciò non ha comportato nessun miglioramento nei test cognitivi o nella mobilità. I risultati del trial INFINITY (*Intensive Versus Standard Blood Pressure*

Lowering to Prevent Functional Decline in Older People) sono coerenti con i risultati dello studio SPRINT e altre ricerche, che hanno dimostrato che gli obiettivi aggressivi della BP sono sicuri e clinicamente vantaggiosi rispetto agli obiettivi BP più conservativi nei pazienti anziani con ipertensione.

Lo studio, monocentrico e in aperto, ha randomizzato a gestione pressoria intensiva o convenzionale (obiettivi: 130 mmHg e 145 mmHg, rispettivamente) 199 pazienti di età ≥ 75 anni con normali funzioni cognitive e mobilità, ma evidenza di ipertensione e iperintensità periventricolari della materia bianca (*periventricular white-matter hyperintensities*, WMH). I pazienti nel gruppo sottoposto a controllo pressorio intensivo hanno mostrato una progressione del 40% in meno di WMH alla risonanza magnetica durante i tre anni di sperimentazione.

Questo studio si aggiunge ai dati che hanno generato la raccomandazione al trattamento di pazienti di età superiore ai 65 con obiettivi pressori di 130/80, supportando l'evidenza che definisce questo approccio come sicuro ed efficace.

