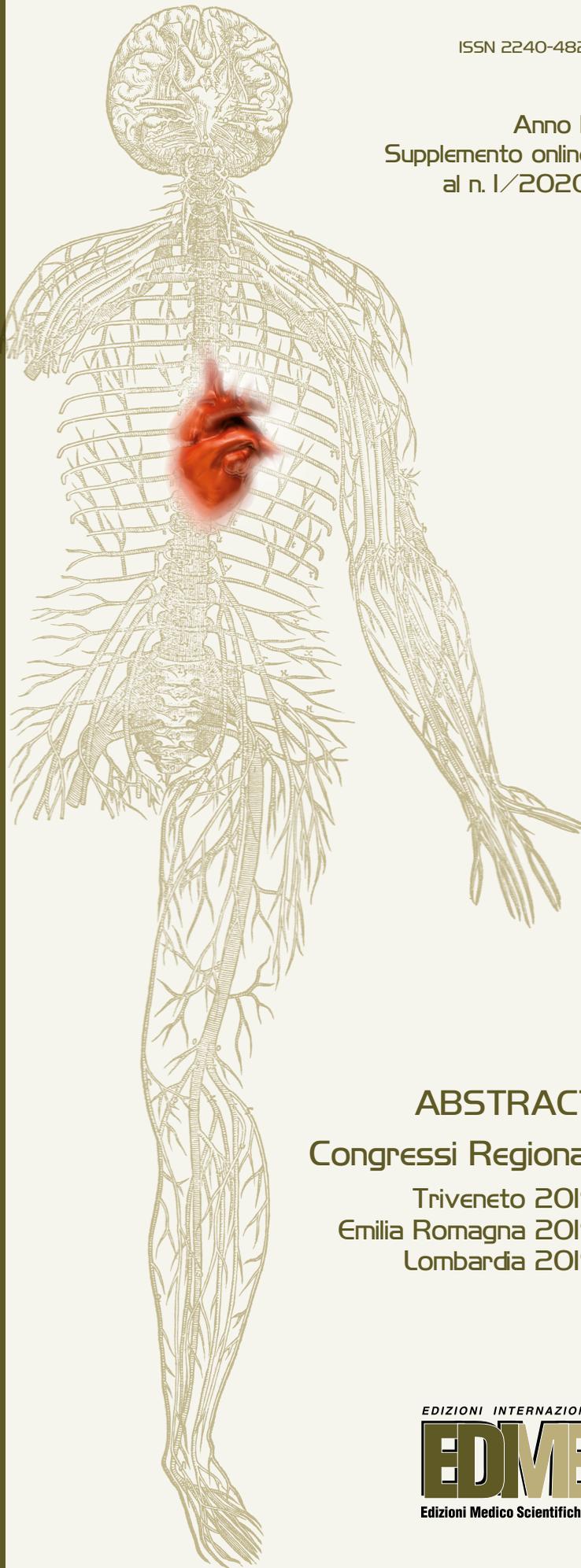


GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI



ISSN 2240-4821

Anno II
Supplemento online
al n. 1/2020

ABSTRACT

Congressi Regionali

Triveneto 2019

Emilia Romagna 2019

Lombardia 2019

EDIZIONI INTERNAZIONALI s.r.l.

EDMES

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELLA ATEROSCLEROSI (SISA)

XX Congresso della Sezione Triveneto

Padova, 11 Maggio 2019

Il XX Congresso della Sezione Triveneto della Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi (S.I.S.A.) tenuto a Padova, in data 11 maggio 2019, ha dedicato suoi lavori all'aterosclerosi dalla prevenzione alla terapia.

Il programma del congresso ha permesso di spaziare dalla prevenzione alla terapia con relazioni riguardanti le principali strategie terapeutiche finalizzate ad ottimizzare la correzione dei principali fattori di rischio cardiovascolare.

Nelle varie sessioni, infatti, non si è trattato solo delle alterazioni dell'assetto lipidico con le strategie di intervento terapeutico calibrate per classe di rischio cardiovascolare, ma anche di altri fattori di rischio come ipertensione arteriosa, diabete mellito, obesità e non ultimo come importanza l'infiammazione. Una sessione del programma è stata dedicata al trattamento delle complicanze multiorgano dell'aterosclerosi.

Trattare l'aterosclerosi, argomento trasversale di interesse multidisciplinare e multiprofessionale, ha permesso il coinvolgimento di numerose società scientifiche (SIMI, SIAPAV, ANMCO, ARCA).

Inoltre, era previsto un dibattito, data la necessità di sinergia tra i vari attori coinvolti nel trattamento dell'aterosclerosi, sulla necessità di elaborare un PDTA per le dislipidemie, strumento di clinical governance per ottimizzare la prestazione erogata.

Una sessione è stata dedicata alle comunicazioni orali dei nostri giovani ricercatori, anima vitale e risorsa importante della società su cui tutti noi investiamo per mantenere attiva la ricerca sull'aterosclerosi nelle generazioni future.

COMUNICAZIONI ORALI

GLI XANTOMI TENDINEI SI ASSOCIANO AGLI EVENTI CARDIOVASCOLARI IN SOGGETTI CON IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE: UNO STUDIO PILOTA

M. Biolo, P. Scarinzi, P. Bigolin, C. Panzavolta, M.V. Rabuini, R. Marin, D. Vianello, S. Bertocco, F. Fabris, E. Manzato, S. Zambon, L. Previato, A. Zambon
Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Padova

Background. Gli xantomati al tendine d'Achille (ATX) sono segni patognomici di ipercolesterolemia familiare (FH), inclusi nei criteri clinici diagnostici di malattia. I pazienti con FH hanno un rischio *lifetime* di malattia cardiovascolare (CVD) molto alto dovuto agli elevati livelli plasmatici di colesterolo LDL (LDL-C).

Obiettivi. Analizzare il significato clinico degli ATX nei soggetti con FH, in particolare valutare la possibile associazione con gli eventi cardiovascolari.

Materiali e Metodi. Sono stati inclusi 95 soggetti con diagnosi di FH, confermata geneticamente in 83 pazienti e definita solo su base clinica (DLCN score >8) nei restanti 12 casi. Per tutti sono stati registrati l'anamnesi familiare e personale (ipertensione arteriosa, abitudine al fumo, diabete mellito ed eventi cardiovascolari, includendo sindrome coronarica acuta, angina, rivascolarizzazione coronarica, stroke, arteriopatia periferica carotidea e/o degli arti inferiori), esame obiettivo, profilo lipidico basale e dopo trattamento. La presenza di ATX è stata valutata anche mediante ecografia del tendine d'Achille, definita positiva per uno spessore di diametro massimo anteroposteriore >6,0 mm (Sensibilità 72%, Specificità 70%) e/o presenza di formazioni ipocogene.

Risultati. 71 pazienti (M=26, F=45) equivalenti al 74,7% del campione selezionato presentavano ATX, i quali rispetto al gruppo privo di ATX avevano un'età mediamente maggiore (48,1±14,8 vs 40,3±16,7 anni; $p<0,05$) e livelli di LDL-C basali più elevati (320,9±107,5 vs 235,9±50,7 mg/dl; $p<0,05$), spiegando anche un DLCN score più alto (9,1±4,6 vs 5,0±2,7; $p<0,05$) e un tempo di trattamento più prolungato (88,8±92,5 vs 35,8±57,5 mesi; $p<0,05$). Non è risultata significativamente diversa la distribuzione dei classici fattori di rischio per CVD tra i due gruppi. All'analisi logistica multivariata, nel modello corretto per età, sesso, fattori di rischio cardiovascolare e LDL-C basale, usando come variabile dipendente la presenza di CVD, lo spessore tendineo è risultato il parametro più significativamente associato alla presenza di eventi cardiovascolari (OR 1,39; I.C. 95% 1,10-1,75; $p<0,05$).

Conclusioni. In questo studio pilota i risultati sembrano indicare un'associazione tra eventi cardiovascolari e l'ispessimento tendineo in soggetti con FH, in maniera indipendente rispetto ai tradizionali fattori di rischio per CVD. Questo attribuirebbe un significato aggiunto allo studio degli xantomati tendinei nell'ambito della ricerca del rischio cardiovascolare residuo nei malati di FH.

“MODICUS CIBI, MEDICUS SIBI” DIETOTERAPIA PER I MALATI DI CUORE DI PRIMO NOVECENTO

A. Cozza¹, P. Marson², G. Thiene³, M. Ripa Bonati¹
¹Sezione di Medicina Umanistica, Dipartimento di Scienze Cardio-Toraco-Vascolari e Sanità Pubblica, Università di Padova;
²UOC Immunotrasfusionale e Aferesi terapeutica, Azienda Ospedaliera di Padova; ³UOC Patologia Cardiovascolare, Dipartimento di Scienze Cardio-Toraco-Vascolari e Sanità Pubblica, Università di Padova

L'osservanza di una corretta alimentazione rappresenta al giorno d'oggi, come è noto, uno dei cardini per il mantenimento di una buona salute. Il binomio cibo e salute risulta, inoltre, quanto mai saldo se riferito alle patologie dell'apparato cardiovascolare.

La dietoterapia ha costituito per secoli uno degli approcci terapeutici basilari dell'agire medico per molteplici patologie. Non sono mancate, altresì, indicazioni sui regimi alimentari per pazienti cardiopatici e/o con affezioni a carico dell'apparato cardio-vascolare. In questo caso specifico, proponiamo alcuni concetti sulla dieta del “cardiaco” così come indicati dai medici di inizio Novecento, epoca in cui sorse, a nostro avviso, l'alba dell'attuale Medicina cardiovascolare. Gli intenti terapeutici indirizzati verso i pazienti cardiopatici dell'epoca erano volti a scongiurare lo stato di “asistolia” (qui da intendersi più propriamente come una difficoltà e una alterazione della contrazione più che la sua assenza e sovrapponibile allo scompenso cardiaco). Il regime alimentare nelle patologie cardiovascolari veniva definito in base allo stato delle affezioni, queste suddivise in affezioni compensate e non compensate. In merito a lesioni valvolari, miocarditi e pericarditi in fase di compenso era proposto un “regime latte-ovo-vegetariano ipoclorurato” che prospettava un'alimentazione a base di latte e formaggi freschi, uova, legumi vari e insalata, cereali e derivati, riso, patate, frutta cruda e cotta. Si poteva aggiungere un po' di carne bianca o rossa e di pesce. Gli alimenti sarebbero, inoltre, dovuti essere “poco salati” per un ammontare di 5-6 grammi di sale al giorno. Non concesse erano le carni nere, la selvaggina (soprattutto quella stagionata), conserve di carne e pesce, brodi ed estratti di carne, carni marinate o in salamoia, formaggi stagionati, crostacei e molluschi, spezie e salse forti. L'acqua pura era la principale bevanda alla quale si poteva affiancare, rigorosamente in quantità contenute, un po' di birra o sidro o vino (rosso o bianco). I pasti, frazionati in tre-quattro al giorno, dovevano essere poco abbondanti. Un analogo regime era prospettato nelle affezioni cardio-arteriose e nelle aortiti sempre in fase di compenso, ma questo doveva essere più stringente e severo.

In caso di cardiopatie non compensate e di “crisi di asistolia” (scompenso cardiaco acuto n.d.a.) si prescriveva una “dieta idrica pura” o, ancor meglio “l'acqua lattosata al 50%”. Dopo somministrazione di digitale e una volta ristabilita la diuresi, si aumentava moderatamente le quantità di latte fino all'indicazione del “regime latte-vegetariano declorurato”. Instaurato il compenso, il paziente poteva nuovamente seguire la dieta latte-ovo-vegetariana ipoclorurata.

Alcune indicazioni alimentari specifiche erano, inoltre, previste per pazienti con angiosclerosi e/o aterosclerosi. La dieta dell'angioscleroso era costituita da “regime misto, a predominanza latte-ovo-vegetariano, con pochissima carne e poco sale”. La dietoterapia per l'ateromatoso (e per gli individui predisposti) richiedeva delle indicazioni speciali ritenute necessarie a causa delle particolarità dell'ateroma definito come “una lesione caratterizzata essenzialmente da una degenerazione grassosa e da un'infiltrazione calcarea”. I pazienti ateromatosi avrebbero dovuto limitare i cosiddetti

“alimenti ricchi in calce” a cui appartenevano anche latte e legumi. Tuttavia era ritenuto un errore eliminare dalla dieta latte e legumi cosicché se ne proponeva piuttosto una loro maggior moderazione nella dieta la quale doveva configurarsi a regime misto e a predominanza latte-ovo-vegetariana: “si autorizzerà dunque il latte in dose moderata, e si indicheranno, fra i vegetali, quelli che contengono la minor quantità di calce”.

Labbé M. *Regimi alimentari, Collana “Biblioteca di terapia Gilbert e Carnot”, Vallardi, Milano. 1914; 413-421.*

Mariani F. *La moderna terapia, Vallardi, Milano. 1911; 82-83.*

Mozaffarian D. *Nutrizione e Malattie Cardiovascolari, in R.O. Bonow, D.L. Mann, D.P. Zipes, P. Libby, Malattie del Cuore di Braunwald Trattato di Medicina Cardiovascolare, Elsevier, Milano. 2012; 1031-1046.*

PCSK9 FACILITATES VASCULAR CALCIFICATION UNDER UREMIC CONDITION: IN VITRO AND IN VIVO EVIDENCES

M.G. Lupo¹, P. Poggio², M. Camera^{2,3}, E. Faggini⁴, M. Rattazzi^{4,5}, N. Ferri¹

¹Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Scienze del Farmaco, Padova; ²Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milano; ³Università degli Studi di Milano, Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Milano;

⁴Department of Medicine, University of Padova; ^{4,5}Medicina Generale P, Ca' Foncello Hospital, Treviso

Introduction. Vascular calcification represents a main risk factor of cardiovascular events in patients with chronic kidney disease (CKD). Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) levels correlates with the presence of calcific aortic valve stenosis and carriers of the PCSK9 R46L loss-of-function variant have a low calcific aortic valve stenosis.

Aim. We investigated a possible role of PCSK9 on aortic calcification by using a uremic rat model of vascular calcification and *in vitro* cultured human smooth muscle cells (hSMCs) overexpressing PCSK9.

Results. Sprague-Dawley rats were fed a standard diet (n=10) or uremic diet containing 0.5% adenine (n=10) for 6 weeks. The uremic condition was documented by increased urine volume (26 ml/day vs 58 ml/day), plasma creatinine (25.7 μM vs 208 μM) and phosphate levels (2.64 μM vs 6.11 μM). High phosphate concentration was associated to aortic calcification determined by measuring aorta Ca²⁺ concentrations (0.34 mg/g tissue vs 2.48 mg/g tissue) and by von Kossa staining. This pathological condition was associated to a significant increase of total cholesterol (from 75.3 mg/dL to 107.6 mg/dL) and PCSK9 levels (from 40.1 ng/ml to 109.7 ng/ml). Higher expression of PCSK9 was also observed in kidney (+4.8 fold) and liver (+1.5 fold). The overexpression of PCSK9 in hSMCs (from 0.02 ng/ml to 11.3 ng/ml) induced a significant increase of extracellular calcification in response to 5 days exposure to 2.4 mM PO⁴ (+39% compared to control hSMCs), while PO⁴ reduced the release of PCSK9 from hSMCs (-33.6%) and the mRNA expression levels (-43%).

Conclusions. The present study indicates a direct role of PCSK9 on vascular calcification associated to a CKD condition. Further analysis will attempt to identify the molecular mechanism of this action and to study the effect of monoclonal antibodies anti PCSK9.

EFFETTI DELL'IPERINSULINEMIA SUI LIVELLI CIRCOLANTI DI PCSK9 IN PAZIENTI AFFETTI DA GRAVE OBESITÀ CANDIDATI ALLA CHIRURGIA BARIATRICA

C. Maneschi¹, A. Altomari¹, S. Galvan¹, M. Aventaggiato¹, D. Sandri¹, G. Targher¹, M.G. Lupo², M.G. Zenti¹, N. Ferri²

¹UOC Endocrinologia, Diabetologia e Metabolismo, AOUI Verona e Università di Verona; ²Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università di Padova

Introduzione. La proproteina convertasi subtilisina/kexina di tipo 9 (PCSK9) è coinvolta non solo nel metabolismo lipidico, ma anche nell'omeostasi glucidica. Studi condotti nei topi hanno dimostrato che l'insulina stimola la trascrizione di PCSK9, ma i dati nell'uomo sono ancora controversi. Fra i pochi studi che hanno utilizzato il clamp euglicemico iperinsulinemico per indagare la relazione fra PCSK9 e l'omeostasi glucidica, alcuni hanno evidenziato una significativa riduzione di PCSK9, mentre altri, sia nei soggetti sani, sia in pazienti con diabete mellito di tipo 2, non hanno osservato cambiamenti significativi dei livelli circolanti di PCSK9.

Scopo. Valutare l'effetto dell'insulinemia sui livelli circolanti di PCSK9 in pazienti affetti da grave obesità utilizzando due modelli di iperinsulinemia: il carico orale di glucosio (OGTT) e il clamp euglicemico iperinsulinemico.

Materiali e metodi. Vengono presentati i dati preliminari di uno studio osservazionale, non randomizzato, tuttora in corso, di 11 pazienti (M/F = 3/8; età 41±11 anni, BMI 43,5± 7,6 kg/m²) candidati ad intervento di chirurgia bariatrica (Sleeve gastrectomy o bypass gastrico). Tutti i pazienti reclutati sono stati sottoposti a curva da carico orale di glucosio (OGTT) ed a clamp euglicemico iperinsulinemico con dosaggio dei livelli sierici di glucosio, insulina e PCSK9 durante entrambe le indagini.

Risultati. I livelli plasmatici di PCSK9 hanno mostrato una significativa riduzione durante OGTT (PCSK9 basale: 305,9±53 ng/ml, a 60 min 269,6±62 ng/ml, a 120 min 257,5±62 ng/ml, e a 180 min 298,6±76 ng/ml; *p*=0,007 test ANOVA per misure ripetute). In modo simile, l'iperinsulinemia acuta degli ultimo 30 minuti del clamp euglicemico iperinsulinemico ha determinato una significativa riduzione dei livelli plasmatici dell'enzima (PCSK9 basale 292,0±74 ng/ml, PCSK9 a 100 min 262,3±64 ng/ml, PCSK9 a 110 min 265,5±38 ng/ml, PCSK9 a 120 min 266,8±62 ng/ml; *p*=0,003). Con entrambi i test si è osservata una riduzione dei livelli circolanti di PCSK9 del 15-20%.

Conclusioni. I nostri dati suggeriscono che in pazienti con grave obesità, l'iperinsulinemia indotta con due differenti test (OGTT e clamp euglicemico) abbia un'azione inibitoria sui livelli plasmatici di PCSK9. Si tratta di dati preliminari che dovranno trovare conferma in una più ampia casistica di pazienti che verranno valutati anche dopo il calo ponderale ottenuto con la chirurgia bariatrica.

MANCATA RISPOSTA AI PCSK9 INIBITORI IN PAZIENTE CON IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE

V. Sanga¹, A. Baldassare Cefalù², R. Spina², V. Ingrassia², E. Bonora¹, M.G. Zenti¹

¹UOC Endocrinologia, Diabetologia e Malattie del Metabolismo, AOUI Verona e Università di Verona; ²Promozione della Salute, Materno Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro", Università di Palermo

Riportiamo il caso di un uomo di 49 anni, afferente ai nostri ambulatori da marzo 2017 per ipercolesterolemia nota dall'adolescenza e intolleranza alle statine. Alla prima visita riferiva familiarità per ipercolesterolemia in entrambi i genitori e in due sorelle su tre, e per malattia cardiovascolare (nonno paterno). Istruttore in palestra, aveva fatto uso in passato di sostanze dopanti. Non fumatore. La terapia con atorvastatina era stata sospesa dopo pochi giorni di trattamento per mialgie, senza eseguire dosaggio di CK. All'esame obiettivo il paziente presentava xantomi ai gomiti, xantelasma e arco corneale. Il profilo lipidico, in assenza di trattamento ipolipemizzante, mostrava valori di colesterolo-LDL di 326 mg/dl. Gli accertamenti di screening cardiovascolare (ecocardiogramma, test da sforzo al cicloergometro, ecodoppler tronchi sovra-aortici) erano risultati nella norma.

Veniva avviata terapia con ezetimibe, ben tollerata, ma senza un apprezzabile effetto ipolipemizzante (LDL 318 mg/dl; $\Delta\%$ -2.4%). Venivano quindi proposte diverse strategie terapeutiche (rosuvastatina 5 mg, fluvastatina 80 mg, pravastatina 20 mg, fenofibrato 145 mg), tutte sospese dopo pochi giorni per mialgie agli arti inferiori. La terapia con alirocumab 150 mg in associazione all'ezetimibe risultava ben tollerata ma senza effetto sui livelli di LDL-colesterolo (valori basali, a 3 e 6 mesi rispettivamente di 318 → 345 → 340 mg/dl). Il paziente è risultato non responder anche al successivo trattamento con evolocumab 140 mg.

L'analisi genetica condotta nell'ambito dello studio Lipigen, non ha riscontrato mutazioni nei geni valutati (LDLR, APOB, PCSK9, LDLRAP1, STAP1, LIPA e APOE).

L'ulteriore analisi molecolare, eseguita a Palermo, ha individuato mutazioni del gene ABCG8 in eterozigosi (esone 13 c.2022A>T, p.Ter674Cys), di incerto significato clinico, e mutazione del gene ABCG8 in omozigosi (esone 13 c.1895T/C, p.Val632Ala) il cui effetto viene codificato come benefico.

Nel sospetto di sitosterolemia veniva avviata per alcune settimane dieta priva di steroli vegetali, senza ottenere una riduzione apprezzabile dei livelli di colesterolo.

Conclusioni. I dati genetici e l'assenza di risposta all'ezetimibe ci portano ad escludere la sitosterolemia. La storia familiare del paziente (entrambi i genitori con ipercolesterolemia), la comparsa in età adolescenziale di xantomi e xantelasma, e la mancata risposta agli inibitori di PCSK9 potrebbe suggerire una ipercolesterolemia familiare omozigote che al momento non ha trovato una conferma genetica. Poiché in questo paziente manca tuttora il dato dell'entità della risposta ipolipemizzante alle statine come stima della funzione del recettore LDL, abbiamo proposto un nuovo tentativo di trattamento con assunzione regolare di simvastatina 20 mg per alcune settimane per verificarne l'effetto ipolipemizzante. Riteniamo che acquisire questa informazione sia essenziale per procedere con nuove possibili strategie terapeutiche (lomitapide, acido bempedoico, aferesi lipoproteica).

Tuttavia va anche considerato che l'assenza di attività recettoriale non è il solo meccanismo di mancata risposta ai PCSK9inibitori, una ulteriore ipotesi può essere una alterazione nel sito di legame di PCSK9 per alirocumab o evolocumab. In letteratura ci sono al-

cune segnalazioni di non responder ai PCSK9inibitori, in molti casi senza una chiara interpretazione di un fenomeno che dovrebbe essere approfondito con progetti di ricerca dedicati.

ASSOCIATION BETWEEN PLASMA CERAMIDES AND SEVERITY OF CORONARY-ARTERY STENOSIS IN PATIENTS WITH CLINICAL INDICATIONS FOR CORONARY ANGIOGRAPHY

A. Mantovani¹, S. Bonapace², G. Lunardi³, G. Targher¹

¹Section of Endocrinology, Diabetes and Metabolism, Department of Medicine, University and Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata of Verona; ²Division of Cardiology, "IRCCS Sacro Cuore - Don Calabria" Hospital, Negrar, Verona; ³Division of Medical Oncology, "IRCCS Sacro Cuore - Don Calabria" Hospital, Negrar, Verona

Objective. Recent prospective studies have identified specific plasma ceramides as strong predictors of major adverse cardiovascular outcomes in patients with established or suspected coronary artery disease (CAD). Presently, it is unknown whether higher circulating levels of specific ceramides are also associated with a greater angiographic severity of coronary-artery stenoses in this high-risk patient population.

Approach and Results. We measured six previously identified high-risk plasma ceramide molecules [Cer(d18:1/16:0), Cer(d18:1/18:0), Cer(d18:1/20:0), Cer(d18:1/22:0), Cer(d18:1/24:0) and Cer(d18:1/24:1)] in 167 consecutive patients with established or suspected CAD, who underwent urgent or elective coronary angiography. Approximately 60% of these patients had significant coronary stenosis ($\geq 50\%$) at the level of left anterior descending (LAD) artery. Of the six measured plasma ceramides, higher circulating levels of Cer(d18:1/20:0) (adjusted-odds ratio 1.39, 95% CI 1.0-1.99), Cer(d18:1/22:0) (adjusted-odds ratio 1.57, 95% CI 1.08-2.29) and Cer(d18:1/24:0) (adjusted-odds ratio 1.59, 95% CI 1.08-2.32) were significantly associated with the presence of LAD stenosis $\geq 50\%$ after adjustment for age, sex, smoking, pre-existing CAD, hypertension, diabetes, dyslipidemia, estimated glomerular filtration rate and plasma C-reactive protein levels. Similar results were found after excluding patients (n=30) undergoing urgent coronary angiography.

Conclusion. This cross-sectional study shows for the first time that higher circulating levels of specific ceramides are independently associated with a greater angiographic severity of coronary-artery stenoses in patients with suspected or established CAD referred for clinically indicated coronary angiography.

EFFETTO DEL TRATTAMENTO CON PCSK9INIBITORI SUI LIVELLI DI LIPOPROTEINA(A) IN PAZIENTI AD ALTO RISCHIO CON IPER-LIPOPROTEINEMIA(A)

E. Paiola, V. Sanga, C. Conforti, C. Maneschi, D. Travia, E. Bonora, M.G. Zenti.
UOC Endocrinologia, Diabetologia e Metabolismo, AOUI Verona

Background. La lipoproteina(a) [Lp(a)], è una lipoproteina a bassa densità (LDL), la cui componente proteica, apoB, è legata con un legame disolfuro all'apoproteina(a). Per la sua peculiare composizione, Lp(a) è coinvolta nei processi di danno vascolare e studi epidemiologici retrospettivi, prospettici e genetici hanno mostrato una associazione fra elevati livelli di Lp(a) e rischio cardiovascolare (CV). I livelli di Lp(a) non possono essere modulati con interventi sullo stile di vita e non esiste ancora un trattamento farmacologico specificamente approvato per la Lp(a)iperlipoproteinemia. I documenti di consenso dell'EAS a partire dal 2010 raccomandano di misurare Lp(a) in pazienti a rischio intermedio/elevato e con malattia CV prematura, suggerendo valori desiderabili di Lp(a) <50 mg/dl. L'afesi lipoproteica determina una riduzione di Lp(a) del 60-80% con una singola seduta di trattamento, e ha dimostrato di ridurre il rischio CV in soggetti con Lp(a)iperlipoproteinemia regolarmente trattati. Tra i farmaci di recente introduzione, gli inibitori di PCSK9, hanno dimostrato di ridurre Lp(a) del 20-30%, ma non ci sono ancora studi che abbiano valutato il loro impatto in pazienti con Iperlipoproteinemia(a).

Obiettivo. L'obiettivo del nostro studio è stato valutare l'effetto del trattamento con alirocumab ed evolocumab sulle concentrazioni plasmatiche di Lp(a) in pazienti ad alto rischio CV e con iperlipoproteina(a).

Metodi. Studio di coorte, osservazionale monocentrico su 60 pazienti in terapia con inibitori di PCSK9 afferenti agli ambulatori dedicati alle dislipidemie dell'Ospedale di Borgo Trento di Verona. Per tutti i pazienti stati raccolti parametri antropometrici, storia di malattia cardiovascolare, presenza di forme familiari di ipercolesterolemia, storia di intolleranza alle statine, ed è stato monitorato il profilo lipidico in corso di trattamento con PCSK9inibitori.

Risultati. L'intera coorte era costituita da 60 pazienti (28 F e 32 M), età 63±10 anni (media±DS). 17 pazienti erano trattati con alirocumab 75 mg, 16 con alirocumab 150 mg e 21 con evolocumab 140 mg. I pazienti erano tutti ad alto rischio CV: il 66,7% dei pazienti presentava storia di malattia CV, il 66,7% una vasculopatia periferica, 21 soggetti (35%) erano affetti da ipercolesterolemia familiare (HeFH da mutazione LDLR). L'intolleranza alle statine era presente nel 45% dei soggetti, 5 erano diabetici (8,3%) e 12 presentavano alterata glicemia a digiuno (20%). Al basale il Colesterolo LDL era di 158±64 mg/dl, e la mediana di Lp(a) era di 58 mg/dl [range interquartile 13-91]. 31 soggetti presentavano Lp(a) basale <30 mg/dl, 4 pazienti avevano valori di Lp(a) compresi fra 30 e 59 mg/dl, 8 pazienti con Lp(a) compresa fra 60 e 99 mg/dl e 6 pazienti con Lp(a) ≥100 mg/dl. Nei 29 soggetti con Lp(a) basale >30 mg/dl, la mediana di Lp(a) basale era di 85,3 mg/dl [range interquartile 61-121], a tre mesi di 95 mg/dl [range interquartile 59-126], a 6 mesi di 102 mg/dl [range interquartile 72-107], a 12 mesi di 114 mg/dl [range interquartile 59-146]. Solo nei 4 pazienti con valori basali di Lp(a) compresi fra 30 e 59 mg/dl la terapia con PCSK9-inibitori ha determinato il raggiungimento di valori di Lp(a) <50 mg/dl.

Discussione. Nella nostra esperienza la terapia con PCSK9inibitori ha determinato la riduzione di Lp(a) al di sotto dei 50 mg/dl solo nei pazienti con Lp(a) basale <60 mg/dl. In base a questi dati, per i pazienti ad alto rischio cardiovascolare con Lp(a) >60 mg/dl dovrebbe essere considerato il trattamento con afesi lipoproteica.

LO XANTOMA TENDINEO NELL'IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE: DALLA CLINICA ALL'ECOGRAFIA

P. Scarinzi, M. Biolo, P. Bigolin, C. Panzavolta, M.V. Rabuini, R. Marin, D. Vianello, S. Bertocco, F. Fabris, E. Manzato, S. Zambon, L. Previato, A. Zambon
Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Padova

Introduzione. Gli xantomi tendinei nei pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare sono il risultato dell'accumulo di colesterolo all'interno del tendine, così come avviene a livello vascolare, con progressivo ispessimento dello stesso. L'esame clinico nell'identificazione degli xantomi a livello tendineo risulta utile soltanto nelle fasi più avanzate della malattia. Il ruolo dell'ecografia tendinea nell'identificazione degli xantomi tendinei in pazienti con ipercolesterolemia familiare non è stato ancora ben definito.

Obiettivi. Analizzare, in soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare, il valore diagnostico dell'ecografia nell'identificazione degli xantomi tendinei rispetto al solo esame clinico.

Materiali e Metodi. Tra Febbraio 2016 e Luglio 2019 sono stati reclutati 121 soggetti sottoposti ad analisi genetica per sospetta Ipercolesterolemia Familiare. Sono stati raccolti l'anamnesi, l'esame obiettivo, il profilo lipidico completo e il Dutch Lipid Clinic Network (DLCN) score di ciascun paziente. Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad ecografia del tendine di Achille bilateralmente volta alla valutazione dello spessore anteroposteriore, dell'ecostruttura e della presenza di formazioni ipoecogene all'interno del tendine. Sono stati esclusi dallo studio soggetti con pregresse rotture tendinee.

Risultati. Sono stati valutati 46 maschi e 75 femmine con un'età media di 46,9 anni di cui 84 affetti da Ipercolesterolemia Familiare sulla base dell'analisi genetica e 37 soggetti affetti da ipercolesterolemia ma analisi genetica risultata negativa o normocolesterolemici. Soltanto l'11,6% dei soggetti presentava xantomi tendinei apprezzabili all'esame clinico mentre ben il 56% rispettava i criteri per una diagnosi ecografica di xantoma tendineo. Inoltre i soggetti con xantomi clinicamente evidenti presentavano un'età media più avanzata rispetto ai soggetti con riscontro ecografico (56,4 vs 49,4 anni). L'esame clinico e l'esame ecografico presentavano rispettivamente una sensibilità del 16,7% e del 67,8% oltre ad una specificità del 100% e del 70,2%. L'ecografia tendinea presentava quindi un buon rapporto di verosimiglianza positivo (LR+=2,27) delineandosi quindi come test di conferma diagnostica piuttosto che di esclusione.

Conclusioni. Seppur patognomoni di Ipercolesterolemia Familiare gli xantomi tendinei apprezzabili all'esame clinico possono essere riscontrati solo in una bassa percentuale di soggetti e in un'età più avanzata. L'esame ecografico, pur perdendo di specificità, migliora l'identificazione degli xantomi permettendo, se associato ad un'accurata anamnesi e ad un esame obiettivo completo, una diagnosi sempre più precoce di Ipercolesterolemia Familiare.

ATTIVAZIONE DEI NEUTROFILI E RISCHIO DI EVENTI CARDIOVASCOLARI. STUDIO SU PAZIENTI CON MALATTIA ATERTROMBOTICA ACUTA

L. Tonon¹, E. Faggin¹, C. Nardin¹, M. Tiepolo¹, C. Cernetti², M. Fusaro³, M. Rattazzi¹

¹Medicina Generale 1, Azienda ULSS2 Marca Trevigiana, Dipartimento di Medicina - DIMED, Università degli Studi di Padova; ²UOC di Cardiologia, Azienda ULSS2 Marca Trevigiana; ³UOC di Radiologia, Azienda ULSS2 Marca Trevigiana

Introduzione. I neutrofilii sono stati recentemente implicati nella patogenesi dell'aterosclerosi e nell'insorgenza della sindrome coronarica acuta (ACS) attraverso molteplici meccanismi, compreso il rilascio di Neutrophil Extracellular Traps (NETs), ovvero fibre extracellulari formate da DNA, istoni e proteine ad azione antimicrobica.

Scopo. Lo scopo del nostro studio è quello di valutare lo stato di attivazione dei Neutrofilii e dei meccanismi di NETosi in pazienti affetti da ACS (STEMI/NSTEMI) rispetto a pazienti senza evidenza di malattia aterotrombotica acuta.

Metodi. Sono stati reclutati 200 pazienti sottoposti a studio Angio-TC coronarica di cui 86 con evidenza di malattia aterosclerotica non complicata (CAD, lesioni non critiche <50%) e 114 pazienti con assenza di lesioni coronariche (NO-CAD), oltre a 27 pazienti con ACS.

Per ogni paziente sono stati raccolti dati antropometrici e clinici ed è stato eseguito un prelievo ematico per valutare i livelli circolanti di alcuni markers di attivazione dei neutrofilii e NETosi, quali la Lattoferrina (LF), la Proteinasi-PR3, l'Elastasi Neutrofila (PMN) e la Lipocaina Neutrofila Gelatinasi-Associata (NGAL). I livelli circolanti di questi marcatori, insieme ad altri parametri ematochimici di routine, sono stati confrontati fra i tre gruppi di pazienti.

Risultati. L'analisi ha evidenziato un incremento significativo dei livelli di NGAL e PMN nella popolazione ACS sia rispetto ai soggetti senza coronaropatia (rispettivamente $p=0.005$ e $p=0.009$), che rispetto ai pazienti con CAD non complicata (rispettivamente $p=0.002$ e $p=0.010$). Un aumento significativo dei livelli sierici di LF è stato osservato nella popolazione CAD rispetto ai soggetti NO-CAD ($p=0.014$) mentre nessuna differenza statisticamente significativa è stata documentata per PR3. Dopo aggiustamento per fattori di rischio tradizionali i livelli plasmatici di NGAL, ma non di PMN, risultano indipendentemente associati alla presenza di ACS ($p=0.013$).

Conclusioni. Abbiamo evidenziato un aumento significativo dei livelli circolanti di alcuni marcatori di attivazione dei neutrofilii in soggetti affetti da ACS, suggerendo un ruolo per questo tipo cellulare nelle complicanze aterotrombotiche acute dell'aterosclerosi.

SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELLA ATEROSCLEROSI (SISA)

XIX Congresso della Sezione Emilia Romagna

Bologna, 28 Settembre 2019

Il Congresso della Società Italiana dell'Aterosclerosi sezione Emilia Romagna, ha affrontato temi di ricerca sia di base che clinica.

In particolare ha trattato della gestione dei pazienti a differente rischio cardiovascolare, dai soggetti a basso rischio a quelli ad altissimo rischio, e per ogni tipologia di soggetti si è individuata la terapia specifica.

Si è analizzato l'argomento microbiota intestinale e del ruolo che gioca nell'insorgenza e progressione dei processi aterosclerotici.

Ci sono state due sessioni in cui è stato dato spazio ai giovani ricercatori di illustrare le proprie ricerche sia in temi di ricerca di base che di ricerca clinica. Che ha dimostrato l'attività dei nostri giovani ricercatori in vari campi, con spunti innovativi e di grande interesse.

Nel simposio congiunto SISA Siset si sono trattati temi legati alla stabilità della placca aterosclerotica, alla relazione tra trombofilia e aterosclerosi. Inoltre si è discusso di lipoproteina (a) alla luce delle nuove acquisizioni sul tema e delle nuove prospettive farmacologiche.

Il congresso si è chiuso con un dibattito aperto su quanto influenzi la componente infiammatoria e la componente lipidica la genesi e la progressione dell'aterosclerosi.

COMUNICAZIONI ORALI

PREVALENZA ED ASSOCIAZIONE DELLA STEATOSI EPATICA CON LA MALATTIA CARDIOVASCOLARE ATROSCLEROTICA NEI PAZIENTI CON IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE

A. Cavicchioli, S. Lugari, P. Vita, A. Mondelli, S. Bursi, G. Onfiani, E. Pellegrini, F. Carubbi, F. Nascimbeni
Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia;
U.O. di Medicina Interna ad Indirizzo Metabolico-Nutrizionistico,
Ospedale Civile, A.O.U. di Modena

Obiettivi. I pazienti con ipercolesterolemia familiare (FH) presentano un rischio cardiovascolare (CV) nettamente superiore a quello della popolazione generale; tuttavia la stratificazione del rischio CV è molto complessa a causa dell'eterogeneità genotipica e fenotipica della malattia. La steatosi epatica, condizione molto comune nella popolazione generale, è associata ad un aumentato rischio di malattia cardiovascolare aterosclerotica (ASCVD). Questo studio ha lo scopo di determinare la prevalenza della steatosi epatica e valutare la sua associazione con la ASCVD nei pazienti FH.

Materiali e Metodi. 110 pazienti consecutivi (uomini/donne 54/56; età 53 [18-92] anni) con diagnosi clinica e/o genetica di FH certa sono stati arruolati nel Centro Lipigen dell'Ospedale Civile dell'AOU di Modena. La presenza di steatosi epatica è stata determinata mediante metodica ecografica, mentre la presenza di ASCVD clinica, intesa come malattia aterosclerotica coronarica, cerebrovascolare e/o periferica, è stata valutata con la storia anamnestica del paziente.

Risultati. La prevalenza di steatosi epatica era del 40% (n=44). I pazienti FH con steatosi epatica erano con maggior frequenza uomini (p=0.036), sovrappeso o obesi (p<0.001), diabetici (p=0.013), ipertesi (p=0.004) e con sindrome metabolica (Mets) (p=0.002) rispetto al gruppo di soggetti FH senza steatosi epatica. Inoltre, i pazienti FH con steatosi epatica presentavano valori significativamente maggiori di BMI (p<0.001), circonferenza vita (p<0.001), trigliceridemia (p<0.001), glicemia (p=0.001) ed enzimi epatici [ALT (p=0.008) e γ -GT (p=0.001)], mentre presentavano valori inferiori di colesterolemia HDL (HDL-c) (p=0.001). La prevalenza di steatosi epatica aumentava all'aumentare del numero di fattori della Mets (p for trend <0.001). 21 pazienti FH (19%) avevano una storia di ASCVD clinica, prevalentemente a livello coronarico (CHD). I pazienti FH con steatosi epatica presentavano una prevalenza significativamente maggiore di ASCVD (29.5% vs 12.1%; p=0.023) e di CHD (29.5% vs 10.6%; p=0.012) rispetto al gruppo di pazienti FH senza steatosi epatica. All'analisi di regressione logistica univariata, la steatosi epatica risultava significativamente associata ad ASCVD (OR:3.0, 95%CI:1.1-8.1; p=0.027) ed a CHD (OR:3.5, 95%CI:1.3-9.8; p=0.015). Inoltre, anche il sesso maschile (p=0.039), l'età (p=0.002), l'abitudine tabagica (p=0.002), la circonferenza vita (p=0.003), l'ipertensione arteriosa (p<0.001), la glicemia (p=0.024), l'HDL-c (p=0.043), la colesterolemia LDL (LDL-c) (p<0.001) e la Mets (p=0.021) risultavano significativamente associati a CHD. L'associazione tra steatosi epatica e CHD si manteneva significativa anche dopo correzione per sesso, età, abitudine tabagica, LDL-c e Mets (adjusted OR:4.8, 95%CI:1.1-21.7; p=0.040).

Conclusioni. La steatosi epatica, attribuibile prevalentemente ad epatopatia steatosica non-alcolica (NAFLD), è una condizione

molto comune nei pazienti con FH ed è associata ad una maggiore prevalenza di ASCVD e nello specifico di CHD. Sono necessari ulteriori studi prospettici su ampie casistiche per valutare se l'identificazione della NAFLD consenta una migliore stratificazione del rischio CV nei pazienti FH.

EFFICACIA E SICUREZZA DEL TRATTAMENTO CON ACIDO BEMPEDOICO: I RISULTATI DELLA META-ANALISI DEGLI STUDI CLINICI DI FASE 2 E DI FASE 3

F. Fogacci¹, M. Banach², A.V. Hernandez³, A.F.G. Cicero¹
¹Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Ospedale Universitario Sant'Orsola Malpighi, Gruppo di Ricerca in Dislipidemie ed Aterosclerosi, Bologna; ²Department of Hypertension, Chair of Nephrology and Hypertension, Medical University of Lodz, Lodz, Poland; ³Health Outcomes, Policy, and Evidence Synthesis (HOPES) Group, University of Connecticut/Hartford Hospital Evidence-based Practice Center, Hartford, CT, USA

Obiettivo. Valutare il profilo di efficacia e sicurezza dell'acido bempedoico (ETC-1002) attraverso una revisione sistematica della letteratura ed una meta-analisi degli studi clinici di fase 2 e di fase 3 disponibili.

Materiali e Metodi. La revisione sistematica della letteratura è stata condotta sui database SCOPUS, PubMed-Medline, ISI Web of Science e Google Scholar e limitata agli articoli pubblicati al 5 Agosto 2019. La meta-analisi ha incluso tutti gli studi clinici pubblicati che valutavano l'effetto del trattamento con acido bempedoico sull'assetto lipidico e i livelli di proteina C reattiva (PCR) e sui parametri di tollerabilità e sicurezza.

Risultati. Nella meta-analisi sono stati inclusi 10 studi clinici randomizzati, comprendenti 26 bracci di trattamento e 3786 pazienti in totale (2460 nel braccio attivo e 1326 in quello di controllo).

La meta-analisi dei dati ha suggerito come il trattamento cronico con ETC-1002 riduca significativamente i livelli plasmatici di colesterolo totale (-14.94%, 95%CI: -17.31, -12.57, p<0.001), colesterolo HDL (-5.83%, 95%CI: -6.14, -5.52, p<0.001), colesterolo non HDL (-18.17%, 95%CI: -21.14, -15.19, p<0.001), colesterolo LDL (-22.94%, 95%CI: -26.63, -19.25, p<0.001), apolipoproteina B (-15.18%, 95%CI: -17.41, -12.95, p<0.001), numero di particelle LDL (-20.67%, 95%CI: -23.84, -17.48, p<0.001), numero di particelle HDL (-3.21%, 95%CI: -6.40, -0.02, p=0.049), e PCR (-27.03%, 95%CI: -31.42, -22.64, p<0.001), senza modificare significativamente i livelli plasmatici di trigliceridi (-1.51%, 95%CI: -3.75, 0.74, p=0.189), apolipoproteina A-1 (-1.83%, 95%CI: -5.23, 1.56, p=0.290) ed il numero di particelle VLDL (3.79%, 95%CI: -9.81, 17.39, p=0.585). D'altro canto, il trattamento con ETC-1002 risulta essere associato ad un aumentato tasso di interruzione (OR: 1.37, 95%CI: 1.06, 1.76, p<0.05), ad un aumento dei livelli sierici di acido urico (OR: 3.55, 95%CI: 1.03, 12.27, p<0.05), degli enzimi epatici (OR: 4.28, 95%CI: 1.34, 13.71, p<0.05), e della creatinofosfochinasi (OR: 3.79, 95%CI: 1.06, 13.51, p<0.05), pur essendo protettivo verso l'insorgenza del diabete (OR: 0.59, 95%CI: 0.39, 0.90, p=0.01).

Conclusioni. Il trattamento con ETC-1002 ha effetti positivi sul profilo lipidico e sui livelli di PCR. Comunque, sono necessari ulteriori studi clinici per valutare il profilo di sicurezza del farmaco sul lungo termine.

EFFETTO DI ENDURANCE TRAINING E HIGH INTENSITY INTERVAL TRAINING SU COMPOSIZIONE CORPOREA E FATTORI DI RISCHIO CARDIO-METABOLICO IN UNA POPOLAZIONE DI ADULTI OBESI: UN TRIAL RANDOMIZZATO E CONTROLLATO

A. D'Amuri¹, J.M. Sanz¹, F. Vaccari², S. Lazzar², E. Capatti¹, F. Di Vece¹, E. Dalla Nora¹, G. Zuliani³, A. Passaro¹

¹Dipartimento di Scienze Mediche, Sezione di Medicina Interna e Cardiorespiratoria, Università degli Studi di Ferrara;

²Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Udine;

³Dipartimento di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Sezione di Medicina Interna e Cardiorespiratoria, Università degli Studi di Ferrara

Obiettivo. La prevalenza dell'obesità nella popolazione è in continuo aumento ed il cardine della terapia resta l'associazione di dieta ed esercizio fisico. Le linee guida raccomandano l'esecuzione di 250-400 min/sett di esercizio aerobico continuo di intensità moderata (Endurance Training, ET) ma la compliance a tale indicazione resta molto bassa. L'High Intensity Interval Training (HIIT) è un protocollo di allenamento che permette sedute equi-energetiche più brevi rispetto ad ET. Il suo ruolo nel trattamento dell'obesità resta però poco conosciuto. Lo scopo di questo studio è analizzare gli effetti di due diversi protocolli di esercizio fisico (ET vs HIIT) sui parametri antropometrici ed i principali fattori di rischio cardiovascolare in una popolazione di soggetti obesi.

Pazienti e Metodi. Sono stati arruolati 32 soggetti obesi (età 18-45 anni) senza storia di patologia cardiovascolare, respiratoria, o diabete. I soggetti sono stati randomizzati in due bracci di esercizio iso-energetico (3 volte/settimana per 16 settimane): ET (allenamento al 60%VO₂MAX) ed HIIT (3-7 serie di ripetute di 3 min al 100%VO₂MAX intervallate da 1,5 min al 50% del VO₂MAX). Prima e dopo l'intervento sono state valutati: pressione arteriosa (sistolica e diastolica), parametri antropometrici (peso, BMI, circonferenza vita e fianchi), composizione corporea tramite BIA, metabolismo lipoproteico (C-Totale, C-LDL, C-HDL, Trigliceridi, ApoB100) metabolismo glucidico (glicemia ed insulinemia a digiuno, HOMA IR Index).

Risultati. In entrambi i bracci si assisteva ad una riduzione statisticamente significativa ($p < 0.05$) di pressione arteriosa diastolica (-5,6 mmHg), peso (-5,9 kg), circonferenza vita (uomini -11,4 cm; donne -17,8 cm) e fianchi (uomini -3 cm; donne -6,6 cm). La BIA dimostrava una riduzione della FM (-3,2%) ed un incremento FFM (+3,3%). Vi era una riduzione di C-totale (-15 mg/dL), di C-LDL (-17,8 mg/dL) ed ApoB100 (-7,3 mg/dl). Non vi erano variazioni del C-HDL, trigliceridi, glicemia, insulinemia o HOMA IR index. Negli uomini, la circonferenza addominale si riduceva maggiormente con HIIT rispetto ET (-8,5 cm vs -1,8 cm; $p = 0,039$). La durata media delle sessioni ET è risultata maggiore che nell'HIIT (44,3 vs 33,6 min; $p < 0.001$).

Conclusioni. HIIT è efficace almeno quanto ET nel trattamento dell'obesità e dei fattori di rischio cardiovascolari ad essa associati, nonostante richieda volumi di esercizio minori. Ciò potrebbe tradursi in una maggiore compliance da parte del paziente obeso. L'HIIT potrebbe essere più efficace nel determinare una riduzione del tessuto adiposo viscerale.

IL METABOLISMO E LA FUNZIONALITÀ DELLE LIPOPROTEINE SONO SPECIFICAMENTE ALTERATI IN PAZIENTI CON ANEURISMA DELL'AORTA ADDOMINALE

C. Marchi¹, M.P. Adorni¹, F. Zimetti¹, F. Bernini¹, I. Hollan², J. Moláček³, V. Treska³, N. Ronda¹

¹Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco, Università di Parma, Parma, Italia; ²Lillehammer Hospital for Rheumatic Diseases, Lillehammer, Norway and Brigham and Women's Hospital, Cardiology Division, Boston, USA;

³Department of Vascular Surgery, Faculty of Medicine and University Hospital in Pilsen, Charles University, Plzen, Czech Republic

Obiettivo. La fisiopatologia dell'aneurisma dell'aorta addominale (AAA) è ancora poco chiara e non sono attualmente disponibili strumenti efficaci per la prevenzione, la diagnosi e il trattamento precoce di tale patologia. Le lipoproteine sieriche svolgono diverse funzioni regolatorie nei tessuti oltre a promuovere il trasporto lipidico. In particolare, le lipoproteine ad alta densità (HDL) rappresentano una famiglia di particelle soggette a un complesso metabolismo, note per il loro ruolo ateroprotettivo attraverso il controllo del contenuto di colesterolo cellulare e l'attivazione di meccanismi di signaling intracellulare. Questo studio ha lo scopo di valutare la funzionalità e il metabolismo delle lipoproteine in pazienti con AAA, indipendentemente dal processo aterosclerotico.

Materiali e Metodi. Sono stati reclutati 30 pazienti con AAA e 21 pazienti controllo che presentavano gli stessi fattori di rischio cardiovascolare e le stesse comorbidità. La capacità delle HDL di promuovere l'efflusso di colesterolo (CEC) tramite specifici trasportatori è stata valutata mediante una tecnica radioisotopica. La capacità del siero di promuovere l'accumulo intracellulare di colesterolo è stata valutata nei macrofagi mediante una tecnica fluorimetrica. L'attività di CETP e LCAT nel siero è stata analizzata mediante saggi enzimatici funzionali.

Risultati. Nei pazienti con AAA, la capacità delle HDL di promuovere l'efflusso di colesterolo mediante il trasportatore ABCG1 è risultata ridotta (-16%; $p < 0,001$) mentre per ABCA1 è aumentata (+31,7%; $p < 0,0001$). La stratificazione dei pazienti con AAA tra fumatori e non fumatori mostra come il fumo contribuisca alle variazioni osservate. Inoltre, è stata riscontrata un'alterazione del metabolismo delle HDL come evidenziato da un'aumentata attività di LCAT (+23%; $p < 0,0001$) e CETP (+49%; $p < 0,0001$) nei sieri dei pazienti con AAA. La capacità del siero di promuovere l'accumulo intracellulare di colesterolo non ha mostrato differenze significative tra i due gruppi. Tuttavia, la correlazione di questo parametro sia con la CEC che con l'attività di CETP riscontrata solo nei pazienti con AAA conferma l'importanza delle modificazioni delle HDL in questa condizione.

Conclusione. Le specifiche alterazioni del metabolismo e della funzionalità delle lipoproteine sieriche riscontrate nell'AAA potrebbero essere coinvolte nell'infiammazione tissutale e nel danno della parete aortica generate durante la formazione dell'aneurisma.

I nostri dati potrebbero rappresentare un punto di partenza per studi futuri volti a validare nuovi parametri diagnostici e target terapeutici per la gestione precoce dei pazienti con AAA.

L'ATTIVITÀ ATEROPROTETTIVA DELLA SFINGOSINA 1-FOSFATO (S1P) E DEI SUOI RECETTORI S1P1 E S1P3 NELLA MODULAZIONE DEL TRASPORTO INVERSO DEL COLESTEROLO

B. Papotti¹, I. Zanotti¹, E. Scalera¹, D. Greco¹, S. Battista¹, F. Bernini¹, J.-R. Nofer², M. Simoni³, F. Poti⁴

¹Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco, Università di Parma; ²Center for Laboratory Medicine, University Hospital of Münster, Münster, Germany; ³Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Università di Modena and Reggio Emilia; ⁴Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Unità di Neuroscienze, Università di Parma

Obiettivi. La Sfingosina 1-Fosfato (S1P) è un lisosfingolipide bioattivo che agisce legandosi a specifici recettori di membrana, di cui esistono 5 differenti isoforme, tutti accoppiati a proteine G. S1P è veicolata nel plasma dalle HDL, di cui è responsabile di svariati effetti ateroprotettivi. Ad oggi, non ci sono evidenze dirette di un coinvolgimento di S1P endogena nella modulazione del metabolismo del colesterolo. Questo studio è volto a chiarire il ruolo svolto da S1P nella patogenesi dell'aterosclerosi attraverso la modulazione del trasporto inverso del colesterolo (RCT).

Materiali e Metodi. Il ruolo di S1P e dei suoi recettori S1P1 e S1P3 è stato analizzato in un modello animale transgenico sovraesprimente il recettore S1P1 o S1P3 nella linea mieloide (S1P1-Lyz o S1P3-Lyz, rispettivamente). L'espressione genica e proteica dei trasportatori ABCA1 e ABCG1 è stata analizzata tramite RT-qPCR e Western Blot. L'efflusso di colesterolo ABCA1- e ABCG1- mediato è stato valutato in macrofagi peritoneali murini (MPM) controllo (C57BL/6J) e S1P1-Lyz o S1P3-Lyz tramite una metodica radioisotopica, utilizzando ApoA-I (10µg/ml), HDL (12,5µg/ml) e plasma (0,5%v/v) come accettori lipidici. L'RCT è stato misurato tramite una tecnica radioisotopica volta a quantificare il colesterolo mobilizzato da MPM isolati da S1P1-Lyz o S1P3-Lyz ed i relativi controlli, arricchiti con acLDL e 3[H]-colesterolo ed infine iniettati in topi riceventi del ceppo C57BL/6J.

Risultati. Gli MPM S1P1-Lyz sono caratterizzati da una aumentata espressione di ABCA1 rispetto ai controlli, a fronte di una simile espressione di ABCG1. In presenza di ApoA-I l'efflusso di colesterolo è maggiore negli MPM S1P1-Lyz rispetto ai controlli, mentre in seguito all'esposizione ad HDL e plasma non sono state rilevate differenze significative tra i gruppi sperimentali in analisi. La valutazione dell'RCT in vivo ha evidenziato un aumento dell'escrezione fecale di colesterolo radioattivo nei topi iniettati con MPM isolati da S1P1-Lyz rispetto ai controlli, mentre non sono state rilevate differenze nella radioattività plasmatica ed epatica. Al contrario, gli MPM S1P3-Lyz sono caratterizzati da una aumentata espressione di ABCG1 rispetto ai controlli, che si riflette in un aumentato efflusso di colesterolo ad HDL e plasma ABCG1-mediato. La valutazione dell'RCT in vivo ha evidenziato un aumento della quantità di 3[H]-colesterolo ritrovata nel plasma, fegato e feci di topi a cui sono stati iniettati MPM S1P3-Lyz rispetto ai controlli.

Conclusioni. S1P endogena, attraverso l'interazione con i recettori S1P1 e S1P3 sui macrofagi, è in grado di stimolare il trasporto inverso del colesterolo sia in vitro che in vivo, esercitando una attività ateroprotettiva.

APPROCCIO ALLA GESTIONE DEL RISCHIO CARDIOVASCOLARE CON UNA COMBINAZIONE DI NUTRACEUTICI CONTENENTE IL PROBIOTICO BIFIDOBACTERIUM LONGUM BB536 E ESTRATTO DI RISO ROSSO. STUDIO CLINICO RANDOMIZZATO

M. Ruscica¹, L. Silvestri², C. Pavanello^{1,3}, S. Gandini⁴, C. Macchi¹, M. Botta¹, D. Dell'Orto¹, M. Del Puppo⁵, M. Bertolotti², R. Bosisio⁶, G. Mombelli⁶, C.R. Sirtori⁶, L. Calabresi^{1,3}, P. Magni¹
¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ²Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena; ³Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Milano Bicocca, Monza; ⁴Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Centro E. Grossi Paoletti, Università degli Studi di Milano; ⁵Divisione di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Oncologico Europeo, Milano; ⁶Centro Dislipidemie, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

Obiettivo. In soggetti con ipercolesterolemia di grado moderato, probiotici incorporati all'interno di derivati del latte sono in grado di ridurre la colesterolemia totale (TC) e -LDL (LDL-C). Probiotici che presentano un'elevata attività di idrolasi dei sali biliari, come *Bifidobacterium longum* BB536, diminuiscono TC e LDL-C riducendo l'assorbimento intestinale di colesterolo e, in combinazione con altri nutraceutici, possono rivelarsi utili nella gestione dell'ipercolesterolemia in soggetti con basso rischio cardiovascolare (CV). Obiettivo di questo studio è valutare efficacia e sicurezza di una combinazione nutraceutica contenente *Bifidobacterium longum* BB536, estratto di lievito di riso rosso (RYR) (10 mg/die monacolina K), niacina, e coenzima Q10 (Lactoflorene Colesterolo®). Fra gli end-points valutati vi erano le alterazioni dei marcatori lipidici di rischio CV (LDL-C, TC, non-HDL-colesterolo (HDL-C), trigliceridi (TG), apolipoproteina B (ApoB), HDL-C, apolipoproteina AI (ApoAI), lipoproteina(a) (Lp(a)), proprotein convertase subtilisin/kexin type9 (PCSK9) e una serie di idrossisteroli coinvolti nel metabolismo del colesterolo.

Pazienti e Metodi. Disegno dello studio: studio randomizzato, parallelo, in doppio cieco, controllato con placebo; durata dell'intervento: 12 settimane. ClinicalTrials.gov n° NCT02689934. Sono stati studiati 33 soggetti (età 18-70 anni) in prevenzione CV primaria con rischio CV non elevato (SCORE: 0-1 in 24 e 2-4% in 9) e valori di LDL-C 130-200 mg/dl, randomizzati a ricevere il prodotto nutraceutico (N=16) o placebo (N=17). Sono stati dosati i principali indici lipidici; gli idrossisteroli coinvolti nel metabolismo del colesterolo sono stati analizzati mediante GC-MS.

Risultati. Il trattamento a 12 settimane della combinazione nutraceutica, se confrontato con placebo, si è associato a una significativa riduzione di TC (-17%, p<0.0001), LDL-C (-26%, p<0.0001), ApoB (-17%, p=0.003) e non-HDL-C (-24%, p<0.0001). Le variazioni di TG, HDL-C, ApoAI, Lp(a) e PCSK9 non sono risultate significative. Il rapporto latosterolo:TC è stato ridotto in modo significativo dalla combinazione sperimentale, mentre il rapporto campesterolo:TC e sitosterolo:TC non si è modificato. Non si sono verificati eventi avversi e si è osservata una compliance del 97%.

Conclusioni. Un trattamento di 12 settimane con una combinazione nutraceutica contenente il probiotico *Bifidobacterium longum* BB536, estratti di RYR, niacina e coenzima Q10 in pazienti con rischio CV non elevato è stata ben tollerata, e si è associata ad un significativo miglioramento del profilo lipidico proaterogeno. Il dato è verosimilmente in rapporto ad una riduzione della sintesi endogena di colesterolo.

SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELLA ATEROSCLEROSI (SISA)

In collaborazione con SITeCS - Società Italiana di Terapia Clinica e Sperimentale

XVIII Congresso della Sezione Lombardia

Milano, 24-26 ottobre 2019

Nei giorni 24-25 ottobre 2019 si è tenuto a Milano il 13° Congresso Nazionale della Società di Terapia Clinica e Sperimentale (SITeCS). Come oramai consuetudine, anche il Congresso di questo anno è stato organizzato in collaborazione con SISA (Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi) Regione Lombardia, alternando letture di aggiornamento nell'ambito dell'aterosclerosi, le presentazioni di lavori scientifici di giovani ricercatori e il simposio congiunto AMD (Associazione Medici Diabetologi), SID (Società Italiana di Diabetologia), SISA, SITeCS.

Tra gli argomenti di quest'anno, sono stati presentati gli aggiornamenti delle linee guida delle società europee in tema di dislipidemie, ipertensione e diabete. Le raccomandazioni più recenti hanno rivisto criticamente la stratificazione del rischio cardiovascolare (CV) nei soggetti affetti da queste patologie, hanno ridefinito gli obiettivi terapeutici e hanno incorporato le ultime evidenze in termini di nuove opzioni farmacologiche.

Inoltre, sono stati affrontati alcuni temi chiave di particolare attualità. Tra questi, il rischio CV residuo associato ad elevati livelli di lipoproteine ricche in trigliceridi e il ruolo della Lp(a) come marker o fattore di rischio CV e come target terapeutico.

Le sessioni condivise con SISA Lombardia hanno riguardato il paziente ad alto rischio CV. In particolare, sono stati discussi alcuni scenari specifici, quali il rischio CV del paziente nefropatico o con malattia vascolare periferica. Si è approfondito il ruolo delle evidenze emerse da diversi strumenti, dai trial clinici ai registri di patologia. Inoltre, si è affrontata la problematica dell'impatto clinico ed economico del mancato controllo dei fattori di rischio CV in questi pazienti.

Infine, il simposio congiunto con le società di diabetologia ha affrontato la tematica dei trial su outcome cardiovascolari richiesti per i farmaci antidiabetici di recente introduzione, quali i farmaci incretino-mimetici (agonisti del recettore delle incretine GLP-1) e le gliflozine (inibitori del trasportatore Sodio-Glucosio di tipo 2).

COMUNICAZIONI ORALI

GRUPPO LIPIGEN PEDIATRICO: CARATTERIZZAZIONE DI BAMBINI E ADOLESCENTI AFFETTI DA IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE IN ITALIA

M. Gazzotti¹, M. Casula^{1,2}, A.L. Catapano^{1,2}, E. Olmastroni¹, F. Bonaiti¹, M.E. Capra³, C. Pederiva⁴, on behalf of the LIPIGEN Paediatric Group*

¹Servizio di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ²IRCCS MultiMedica, Sesto S. Giovanni, Milano; ³Centro Dislipidemie in Età Evolutiva U.O. Pediatria e Neonatologia, Ospedale G. da Saliceto, Piacenza; ⁴U.O. Clinica Pediatrica, Servizio Clinico Dislipidemie per

Lo Studio e La Prevenzione dell'Aterosclerosi in Età Pediatrica, Ospedale San Paolo, Milano

Background. L'ipercolesterolemia familiare (FH) è un disordine genetico comune caratterizzato da elevati livelli di colesterolo LDL (c-LDL) fin dalla nascita, che predispongono ad un aumentato rischio di malattia coronaria prematura (CHD). L'identificazione precoce e l'inizio del trattamento nei bambini/adolescenti, ove necessario, è fondamentale per garantire loro una normale aspettativa di vita.

Scopo e Metodi. Nel 2018, all'interno del Network LIPIGEN è stato costituito il gruppo LIPIGEN pediatrico volto a implementare l'identificazione, la diagnosi e la gestione di pazienti FH pediatrici. Per questa analisi preliminare, sono stati selezionati i soggetti LIPIGEN di età inferiore a 18 anni al fine di valutarne le caratteristiche cliniche, i parametri biochimici e il profilo genetico.

Risultati. Le analisi sono state condotte su 1200 soggetti LIPIGEN (47,3% maschi), che presentavano la maggior parte delle informazioni complete nella scheda di raccolta dati. Alla prima visita, la popolazione in studio era così composta: 16,6% di soggetti con età 0-5 anni, 41,7% con 6-10 anni, 24,7% con 11-13 anni e 17,0% con 14-17 anni. L'età media alla diagnosi era 9,0±3,7 anni. Escludendo i soggetti con i dati mancanti, la storia familiare di una CHD prematura era positiva nel 12,5% dei casi mentre la prevalenza di livelli di c-LDL >190 mg/dL tra i familiari di primo grado era del 68,1%. Stratificando per le quattro classi di età, i livelli medi di c-LDL tra i soggetti non trattati (N=1116) erano rispettivamente 205,5±77,5, 175,9±71,7, 166,8±59,5 e 192,4±59,2 mg/dL. Tra i soggetti sottoposti ad analisi genetica (N=1023), il 53,6% presentava una diagnosi positiva di FH: 95,8 % eterozigoti per mutazioni a carico del gene che codifica per il recettore delle LDL e un soggetto omozigote (c-LDL 877 mg/dL all'età di 2 anni).

Conclusioni. Questa analisi preliminare fornisce una panoramica dei dati relativi alla popolazione pediatrica raccolti finora all'interno dello studio LIPIGEN, permettendone una caratterizzazione clinica e genetica. Queste evidenze, già in elaborazione, forniscono i presupposti per poter pianificare gli step successivi e migliorare la raccolta dei dati per una definizione più specifica di tale popolazione, una maggiore possibilità di diagnosi e di follow-up.

*Responsabili dei centri del gruppo LIPIGEN pediatrico Francesco Angelico (Roma), Marcello Arca (Roma), Maurizio Averna (Palermo), Andrea Bartuli (Roma), Giacomo Biasucci (Piacenza), Claudio Borghi (Bologna), Paolo Calabrò (Napoli), Francesca Carubbi

(Modena), Francesco Cipollone (Chieti), Nadia Citroni (Trento), Giuliana Fortunato (Napoli), Ornella Guardamagna (Torino), Arcangelo Iannuzzi (Napoli), Lorenzo Iughetti (Modena), Graziana Lupattelli (Perugia), Giuseppe Mandraffino (Messina), Lorenzo Maroni (Varese), Giuliana Mombelli (Milano), Sandro Muntoni (Cagliari), Cristina Pederiva (Milano), Fabio Pellegatta (Sesto San Giovanni (MI)), Livia Pisciotto (Genova), Arturo Pujia (Catanzaro), Francesco Purrello (Catania), Paolo Rubba (Napoli), Carlo Sabbà (Bari), Riccardo Sarzani (Ancona), Giovanni Battista Vigna (Ferrara), Josè Pablo Werba (Milano), Sabina Zambon (Padova), Maria Grazia Zenti (Verona).

LIPIGEN Steering Committee: Marcello Arca (Roma), Maurizio Averna (Palermo), Stefano Bertolini (Genova), Sebastiano Calandra (Modena), Alberico Catapano (Milano), Patrizia Tarugi (Modena) Laboratorio centralizzato: Veronica Zampoleri (Cinisello Balsamo (MI))

DEFICIT DI LECITINA: COLESTEROLO ACILTRANSFERASI (LCAT) IN ITALIA

M. Turri, A. Ossoli, S. Simonelli, C. Pavanello, L. Calabresi Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

La Lecitina:colesterolo aciltransferasi (LCAT) è l'unico enzima nell'uomo in grado di esterificare il colesterolo nel plasma. Il deficit di LCAT è una patologia rara recessiva, causata da mutazioni "loss-of-function" del gene *LCAT*. Ad oggi sono state descritte più di 90 mutazioni del gene *LCAT*, che portano a due differenti manifestazioni fenotipiche, deficit familiare di LCAT (FLD, OMIM #245900) e fish-eye disease (FED, OMIM #136120). La diagnosi di FLD e FED si basa sulla misura di parametri biochimici: nei soggetti FLD, LCAT perde completamente la sua attività; nei soggetti FED invece, LCAT perde la capacità di esterificare il colesterolo sulle HDL, ma la mantiene sulle LDL. I soggetti affetti da deficit di LCAT mostrano un profilo lipidico e lipoproteico caratteristico, con livelli di HDL-colesterolo ridotti, livelli di trigliceridi elevati e presenza in circolo di HDL piccole, discoidali e non mature, chiamate preβ-HDL. Le manifestazioni cliniche sono differenti nei soggetti FLD e FED: tutti e due manifestano opacità corneale, mentre anemia e insufficienza renale, maggior causa di morbilità e mortalità, sono riscontrate solo nei soggetti FLD. Non è ad oggi disponibile una cura, l'attuale approccio terapeutico mira a correggere i sintomi e controllare le complicanze, nei casi più gravi si ricorre a dialisi e trapianto renale.

Ad oggi sono state identificate 33 famiglie italiane, non imparentate, di portatori di mutazioni del gene *LCAT*. L'analisi genetica condotta su 126 (75M/54F, età 45±4) soggetti evidenzia la presenza di 23 portatori di due alleli mutati di *LCAT*, di cui 16 con diagnosi di FLD e 7 di FED. I portatori di un allele mutato sono 65 e 38 i non portatori. I livelli plasmatici di HDL-colesterolo, di apoA-I e apoA-II nei portatori sono ridotti rispetto ai non portatori, con un effetto gene-dose dipendente, mentre il rapporto FC/TC è aumentato. Tra i portatori di due alleli mutati 23 mostrano opacità corneale. Di questi 15 presentano malattia renale, l'anemia è presente in 18 casi. Lo studio condotto su queste famiglie ha reso possibile una migliore comprensione del rapporto genotipo/fenotipo di questa rara patologia.

ACCUMULO DI PRE β -HDL NEL DEFICIT GENETICO DI LCAT: MECCANISMO DI DANNO RENALE IN CELLULE TUBULARI E PODOCITI

A. Strazzella¹, A. Ossoli¹, M. Ruscica², C. Macchi², L. Calabresi¹
¹Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ²Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

Il deficit genetico di LCAT è una malattia rara causata da mutazioni nel gene *LCAT*, che codifica per l'unico enzima umano in grado di esterificare il colesterolo nel plasma e di consentire la maturazione delle HDL. Il profilo lipidico dei soggetti affetti è caratterizzato da concentrazioni ridotte di HDL-C e il profilo lipoproteico risulta alterato, con comparsa di LpX e accumulo di HDL piccole, native e discoidali, chiamate pre β -HDL. Il ruolo di queste ultime nello sviluppo della malattia renale, che rappresenta la principale causa di morbilità e mortalità nei soggetti affetti, è ancora sconosciuto, e, pertanto, lo scopo del lavoro è stato quello di valutare l'impatto di queste particelle nell'insorgenza del danno renale.

Metodi. Le lipoproteine sono state separate per ultracentrifugazione dal plasma di portatori omozigoti e soggetti controllo o sintetizzate e usate per incubare podociti e cellule tubulari. La produzione di specie reattive dell'ossigeno, l'espressione della podocina e l'espressione dei complessi mitocondriali sono stati valutati.

Risultati. L'incubazione di podociti e cellule tubulari con le HDL isolate dai portatori omozigoti induce un significativo aumento della produzione di ROS (+53,2%, $p < 0.05$ vs HDL controllo; +28,57%, $p < 0.05$ vs HDL controllo rispettivamente). Il risultato è stato confermato incubando le cellule renali con pre β HDL sintetiche, comparabili per forma e dimensione alle particelle endogene (podociti 39,5% $p < 0.01$ vs HDL controllo; tubulari 34% $p < 0.05$ vs HDL controllo), e tale aumento risulta in linea con l'incremento dell'espressione proteica dei complessi mitocondriali coinvolti nella fosforilazione ossidativa valutata nel tubulo (Complesso I +315,6% $p = 0.02$ vs HDL controllo; Complesso II +168,9% $p = 0.02$ vs HDL controllo; Complesso III +222,9% $p = 0.021$ vs HDL controllo; Complesso IV +160,8% $p < 0.01$ vs HDL controllo; Complesso V +188,7% $p < 0.01$ vs HDL controllo). Infine, l'espressione genica della podocina nelle cellule podocitarie risulta ridotta significativamente sia previa incubazione con HDL che con la frazione contenente LDL e LpX dei soggetti omozigoti (-56% $p < 0.05$ vs HDL controllo; -72,3% $p < 0.05$ vs HDL controllo, rispettivamente).

Conclusioni. L'accumulo di pre β -HDL nel deficit di LCAT è coinvolto nella patogenesi del danno renale, compromettendo l'integrità delle cellule podocitarie e incrementando lo stress ossidativo sia nei podociti che nelle cellule tubulari.

PREVALENCE OF FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLAEMIA (FH) IN ITALIAN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE: LO STUDIO POSTER

V. Zampoleri^{1,2}, M. Casula³, D. Lucci⁴, G. Fabbri⁴, MG. Abrignani⁵, M. Averna⁶, S. Calandra⁷, F. Colivicchi⁸, MM. Gulizia^{4,9}, AP. Maggioni⁴, AL. Catapano^{1,10}
 on behalf of POSTER Investigators

¹Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Università degli Studi di Milano; ²SISA Center for the Study of Atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello Balsamo; ³Epidemiology and Preventive Pharmacology Centre (SEFAP), Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences (DiSfEB), University of Milan; ⁴ANMCO Research Center of the Heart Care Foundation, Florence; ⁵Operative Unit of Cardiology, S. Antonio Abate Hospital, ASP Trapani; ⁶Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica (Di.Bi.Mi.S), Policlinico "Paolo Giaccone", Università di Palermo; ⁷Department of Biomedical, Metabolic and Neural Sciences, University of Modena and Reggio Emilia, Modena; ⁸Division of Cardiology, San Filippo Neri Hospital, Rome; ⁹Cardiology Division, Ospedale Garibaldi-Nesima, Azienda di Rilievo Nazionale e Alta Specializzazione "Garibaldi" Catania; ¹⁰IRCCS MultiMedica, Sesto S. Giovanni, Milano

Scopo. L'ipercolesterolemia familiare (FH) è uno dei principali fattori di rischio cardiovascolare. Elevati livelli plasmatici di colesterolo LDL (LDL-C) fin dalla nascita, contribuiscono all'instaurarsi della malattia aterosclerotica, che a sua volta è correlata all'insorgenza di gravi malattie cardio e cerebro vascolari. Nel mondo circa una persona ogni 250 ha un'alterazione genetica che causa FH; pertanto essa dovrebbe essere maggiormente rappresentata tra i soggetti con una diagnosi documentata di malattia coronarica (CAD). Lo studio POSTER ha valutato la prevalenza di FH in pazienti italiani con recente evento cardiovascolare.

Metodi. Ottantadue centri di cardiologia hanno arruolato pazienti con un evento coronarico documentato; sono stati raccolti il profilo di rischio cardiovascolare, la terapia farmacologica e i parametri biochimici. I pazienti con un Dutch Lipid Clinic Network (DUTCH) score ≥ 6 sono stati sottoposti a test genetico basato sul sequenziamento completo dei geni coinvolti nella patologia (LDLR, APOB, PCSK9, LDLRAP1, LIPA, STAP1 e APOE).

Risultati. Complessivamente, sono stati arruolati 5415 pazienti e il principale evento indice era una sindrome coronarica acuta, un infarto del miocardio con o senza elevazione della ST o una recente rivascolarizzazione coronarica (rispettivamente 34,8%, 37,2% e 28%). L'età media era di 66 \pm 11 anni, gli uomini erano il 78%; circa il 40% dei pazienti era in trattamento con statine, percentuale aumentata dopo l'evento acuto (96,5%). Sulla base del DUTCH score, la prevalenza di potenziale FH (score ≥ 6) era del 5,1%, lo 0,9% aveva una diagnosi di FH certa (score > 8). Questi pazienti erano più giovani dei pazienti con uno score < 6 (56 \pm 10 vs 66 \pm 11, $p < 0,001$) e i livelli di LDL-C erano nella maggior parte di essi (~87%) > 190 mg/dL. Il test genetico è stato eseguito su 259 pazienti: 37 di questi (14,29%) sono risultati positivi per la diagnosi di FH. Inoltre altri 63 pazienti (24,3%) presentano una mutazione sui geni candidati, con una diagnosi di tipo inconclusiva.

Conclusioni. I risultati sottolineano una prevalenza di FH in pazienti con CAD recente. Pertanto, un'identificazione precoce di questi soggetti può aiutare a migliorare il loro alto rischio cardiovascolare.

CONTRIBUTO DI LDL OSSIDATE SUL FENOTIPO DELLA CARDIOMIOPATIA ARITMOGENA

I. Stadiotti¹, E. Sommariva¹, M. Casella², V. Catto², A. Dello Russo², L. Arnaboldi², A. Scopece¹, E. König⁴, L. Turnu¹, M. Camera³, A. Corsini³, A. Rossini⁴, C. Tondo², G. Pompilio¹

¹Unità di Biologia Vascolare e Medicina Rigenerativa, Centro Cardiologico Monzino IRCCS; ²Unità di Aritmologia, Centro Cardiologico Monzino IRCCS; ³Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano; ⁴Istituto di Biomedicina, Eurac Research

La Cardiomiopatia Aritmogena (ACM) è una patologia genetica caratterizzata da aritmie e sostituzione cardiaca fibro-adiposa, che può portare a morte improvvisa, soprattutto in giovani e atleti. Ad oggi, non esistono terapie capaci di rallentare la progressione della malattia.

Le mutazioni causative provocano il differenziamento adipogenico delle cellule mesenchimali stromali cardiache (C-MSC), attraverso l'aumento di PPAR γ , il principale mediatore del processo adipogenico. Penetranza ed espressività variabili suggeriscono, però, il coinvolgimento di altri cofattori.

A tal proposito, il ruolo di modulatori di PPAR γ non è mai stato investigato. L'acido 13-idrossi-octadecadienoico (13HODE) è un attivatore diretto di PPAR γ ed è un componente delle LDL ossidate (oxLDL). In altre patologie, il 13HODE crea un circolo vizioso che porta all'aumento dei livelli di PPAR γ e di CD36, recettore delle oxLDL, causando ulteriore entrata di 13HODE nelle cellule e stimolandole all'adipogenesi.

L'obiettivo di questo progetto è di investigare il ruolo delle oxLDL e di attivatori di PPAR γ nel processo adipogenico ACM.

I nostri risultati dimostrano più elevati livelli plasmatici di oxLDL nei pazienti ACM, sia se paragonati a controlli sani sia ai loro familiari mutati ma asintomatici. Inoltre, nel tessuto cardiaco ACM, lo stress ossidativo e l'espressione di CD36 sono risultati maggiori.

In vitro, le C-MSC ACM sono caratterizzate da elevato stress ossidativo, alta espressione di PPAR γ e un trend di maggiore espressione di CD36, se comparate a cellule di controllo. Stimolando le C-MSC a differenziare in senso adipogenico, abbiamo ottenuto un parallelo aumento di CD36 e accumulo lipidico, soprattutto nelle cellule ACM. Il trattamento di C-MSC ACM con oxLDL o 13HODE provoca un aumento di accumulo lipidico che è invece prevenuto dal trattamento con l'antiossidante N-acetilcisteina. Inoltre, silenziando l'espressione di CD36 nelle cellule ACM, si osserva minore accumulo lipidico, rispetto a cellule non silenziate.

Il modello murino di ACM (topi *Pkp2+/-*) non accumula spontaneamente adipociti nel cuore, ma le C-MSC isolate da questi topi accumulano più lipidi *in vitro* rispetto alle cellule controllo. In accordo con la nostra ipotesi, i topi hanno basse oxLDL plasmatiche e stress ossidativo cardiaco. Inducendo l'aumento di colesterolo e stress ossidativo con una dieta al alto contenuto di grassi, abbiamo osservato sostituzione adiposa nel cuore dei topi ACM.

In conclusione, i dati ottenuti dimostrano il contributo di stress ossidativo e lipidi ossidati nell'adipogenesi cardiaca ACM, aprendo prospettive per nuove terapie per i pazienti.

GLI ENHANCER REGOLANO LA GLICOLISI ANAEROBICA NEI CARDIOMIOCITI DI CUORI ANZIANI

R. Papait^{1,2,3}, S. Serio², P. Carullo^{2,3}, C. Pagiatakis², N. Corrado³, G. Condorelli^{2,3,4}

¹Dipartimento di Biotecnologie e Scienze della Vita (DBSV), Università dell'Insubria, Varese; ²Dipartimento di Medicina Cardiovascolare, Humanitas IRCCS, Rozzano, Milano; ³Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica del CNR, Rozzano, Milano; ⁴Humanitas University, Rozzano, Milano

Lo scompenso cardiaco è una malattia tipica del soggetto anziano caratterizzata da alti tassi di mortalità e morbilità. Una delle principali cause di questa malattia è un profondo cambiamento metabolico del miocardio che induce i cardiomiociti ad usare, come principale fonte di energia, la glicolisi anaerobica a discapito della fosforilazione ossidativa. Tuttavia, i meccanismi molecolari responsabili di questi cambiamenti metabolici non sono ancora stati investigati. Gli enhancers sono elementi genetici che hanno un ruolo importante nel definire il programma trascrizionale che accompagna lo sviluppo e l'attività del miocardio. Abbiamo ipotizzato che un'anomala attività degli enhancers nel corso dell'invecchiamento possa essere responsabile dei cambiamenti trascrizionali alla base del rimodellamento metabolico. Per valutare questa ipotesi abbiamo studiato come varia lo stato di attivazione degli enhancers nel corso dell'invecchiamento cardiaco e l'abbiamo messo in relazione con i cambiamenti trascrizionali e metabolici che avvengono nello stesso periodo. A questo scopo abbiamo integrato i dati metabolici con quelli trascrizionali (RNA-seq) e epigenetici (ChIP-seq per gli istoni H3K27ac e H3K27me3 (due marcatori istonici che definiscono rispettivamente se un enhancer è in uno stato attivo o represso) ottenuti da cardiomiociti purificati dal cuore di topi giovani (2 mesi di età), adulti (6 mesi di età) e vecchi (18 mesi di età). I risultati ottenuti mostrano come un gran numero di enhancers cambino il loro stato attivatorio e possano essere raggruppati in due categorie. La prima include enhancers che passano da uno stato inattivo ad uno stato attivo e comprende principalmente gli enhancers di geni coinvolti nel regolare l'espressione dei geni della glicolisi, ipertrofia e cardiomiopatia dilatativa. Il secondo gruppo include enhancers che, al contrario, passano da uno stato attivo ad uno inattivo; in questo gruppo sono presenti, ad esempio, gli enhancers coinvolti nel regolare l'espressione di geni del citoscheletro. Inoltre, dalla comparazione dei dati ottenuti sugli enhancer con i profili metabolomici, abbiamo trovato come l'attivazione degli enhancers associati a geni della glicolisi sia accompagnata da un aumento dei metaboliti appartenenti alla glicolisi anaerobica. Questi risultati dimostrano come gli enhancers siano coinvolti nel promuovere i cambiamenti trascrizionali alla base del rimodellamento metabolico che avviene durante l'invecchiamento del cuore. Inoltre, suggeriscono la possibilità di migliorare la funzione cardiaca nel cuore anziani, modulando l'attività degli enhancers con farmaci epigenetici.

CATENE LEGGERE IMMUNOGLOBULINICHE ED AMILOIDOSI CARDIACA: IDENTIFICAZIONE DI CARATTERISTICHE STRUTTURALI E BIOFISICHE LEGATE ALL'AMILOIDOGENICITÀ

G. Mazzini¹, M. Maritan², P. Rognoni¹, R. Russo², M. Tasaki¹, L. Oberti², P. Swuec², S. Ricagno², F. Lavatelli¹

¹Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo e Università di Pavia; ²Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

Introduzione. L'amiloidosi AL è una patologia sistemica causata dall'aggregazione di catene leggere (CL) immunoglobuliniche monoclonali nei tessuti bersaglio, con disfunzione degli organi coinvolti. Presenza e severità del coinvolgimento cardiaco sono i fattori prognostici più importanti. Nell'ambito di questo progetto abbiamo dimostrato come una combinazione di ridotta stabilità di folding ed aumentata flessibilità conformazionale correlino con la tossicità, ed abbiamo definito, mediante crio-microscopia elettronica, la prima struttura di fibrille cardiache AL. Gli studi in corso mirano ad approfondire la relazione tra struttura primaria e cardio-tossicità, e ad elucidare la composizione molecolare delle fibrille amiloidi cardiache naturali.

Metodi. La sequenza aminoacidica della CL amiloidogena cardiotropica rappresentativa H6 è stata modificata, mediante mutagenesi sito specifica, a livello di regioni strutturalmente distintive. Le caratteristiche biofisiche del mutante (stabilità di folding, flessibilità conformazionale, struttura) sono state caratterizzate mediante approcci biofisici e proteolisi limitata, e ne è stata valutata la tossicità in colture di fibroblasti cardiaci umani (hCF) e in *C. elegans*. Le modificazioni post-traduzionali delle CL depositate come fibrille (in tessuto miocardico ottenuto da due pazienti) sono in corso di studio mediante proteomica (elettroforesi bidimensionale e spettrometria di massa).

Risultati. Il mutante della CL cardiotropica (H6mut) è risultato possedere una tossicità significativamente inferiore nei confronti sia di hCF che di *C. elegans*. Da un punto di vista biofisico, l'introduzione delle mutazioni si traduce in ridotta flessibilità e aumentata stabilità, comparabili con le caratteristiche delle CL non amiloidogeniche. Mediante proteomica abbiamo caratterizzato l'eterogenea popolazione di frammenti N- e C-terminali delle CL precursori depositate come fibrille, e ne abbiamo definito i siti di frammentazione.

Conclusioni. Il nostro studio supporta l'ipotesi che la tossicità delle CL amiloidogeniche cardiotropiche sia legata in modo causale con specifiche caratteristiche strutturali. La caratterizzazione delle proteoforme di CL depositate come fibrille ha fornito importanti nuovi dettagli, funzionali alla comprensione del processo di fibrillazione in vivo.

L'ESERCIZIO FISICO MIGLIORA IL PROFILO DEL TESSUTO ADIPOSO E PREVIENE LA TROMBOSI ARTERIOSA IN TOPI RECANTI IL POLIMORFISMO BDNFVAL66MET

L. Sandrini^{1,2}, A. Ieraci², P. Amadio¹, N. Mitro², F.S. Lee³, E. Tremoli¹, S.S. Barbieri¹

¹Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milano; ²Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ³Weill Cornell Medical College, New York, NY, USA

Stato dell'arte. L'obesità rappresenta uno dei fattori di rischio modificabili con maggiore impatto sulle malattie cardiovascolari. Il trattamento dell'obesità e delle malattie cardiometaboliche ad essa associate risultano di difficile trattamento farmacologico e le linee guida suggeriscono di adottare un cambiamento nello stile di vita, in particolare riguardo la dieta e l'attività fisica. A tal proposito, le recenti European Guidelines on cardiovascular disease raccomandano l'attività fisica regolare come una strategia per la prevenzione e la gestione delle malattie cardiovascolari, in particolare quando associate a disfunzioni metaboliche ed obesità. Nell'uomo è stato osservato come l'aploinsufficienza di brain-derived neurotrophic factor (BDNF) a livello ippocampale, riscontrabile ad esempio in presenza del polimorfismo BDNFVal66Met, sia associata ad un alterato metabolismo e ad alterazioni del peso corporeo. Inoltre pazienti recanti questo polimorfismo hanno una maggiore propensione alla trombosi arteriosa associata ad infarto acuto del miocardio.

Metodi. In questo studio è stato analizzato il tessuto adiposo del modello murino recante la mutazione umana BDNFVal66Met, sia dal punto di vista morfologico che da quello genetico, con particolare attenzione al profilo infiammatorio. Inoltre è stato valutato se 4 settimane di esercizio fisico volontario possano risultare sufficienti a determinare cambiamenti nel tessuto adiposo e a ridurre la predisposizione alla trombosi arteriosa.

Risultati. Il tessuto adiposo di topi recanti la mutazione in omozigosi (BDNF^{Met/Met}) ha un'alterata morfologia con un arricchimento negli adipociti di piccole dimensioni. Questo è accompagnato da un'alterazione nei livelli di trascritto di geni coinvolti nell'adipogenesi. Inoltre il tessuto adiposo dei topi BDNF^{Met/Met} mostra un elevato profilo infiammatorio, con un aumento di geni associati a mediatori dell'infiammazione e una maggior presenza di macrofagi M1. L'esercizio fisico è in grado di modificare positivamente la distribuzione dimensionale degli adipociti e di revertire il fenotipo pro-infiammatorio del tessuto adiposo con una concomitante reversione del fenotipo pro-trombotico presente *per se* nei topi BDNF^{Met/Met}.

Conclusioni. In conclusione questi dati mostrano il forte impatto dello stile di vita, ed in particolare l'effetto positivo dell'esercizio fisico, nella gestione della trombosi arteriosa e dell'infiammazione associate all'obesità in relazione alla mutazione del gene BDNF. Studi su pazienti recanti il polimorfismo saranno necessari al fine di sostenere la validità di questi dati e comprendere come l'esercizio fisico possa entrare nella pratica clinica per la gestione del rischio cardiometabolico.

RELAZIONE TRA ATEROSCLEROSI CAROTIDEA E VOLUMI CEREBRALI IN PAZIENTI CON ATEROCLEROSI CAROTIDEA SUBCRITICA

F. Moroni, E. Ammirati, M. Magnoni, M.A. Rocca, L. Cacciaguerra, N. Anzalone, C. De Filippis, I. Scotti, F. Besana, P. Spagnolo, O. E Rimoldi, R. Chiesa, A. Falini, M. Filippi, P.G. Camici
IRCCS Ospedale San Raffaele e Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

La presenza e l'estensione dell'aterosclerosi, pur in stadi subclinici, sono state associate alla perdita di parenchima cerebrale in soggetti peraltro sani. Nel presente studio abbiamo pertanto cercato di valutare la relazione tra caratteristiche di placca carotidea e riduzione di volumi cerebrali in soggetti con aterosclerosi carotidea non critica. Sono stati valutati 235 pazienti consecutivi riferiti per la valutazione dell'aterosclerosi carotidea per stratificazione del rischio cardiovascolare. Di questi, 64 pazienti sono stati selezionati in quanto affetti da aterosclerosi carotidea subcritica e privi di eventuali fattori confondenti, in quanto associati ad alterazioni parenchimali cerebrali (e.g. fibrillazione atriale o malattie neurodegenerative). Tali soggetti sono stati sottoposti a valutazione ecoDoppler, ecocontrastografica e tomografia computerizzata del collo per valutazione dell'estensione e delle caratteristiche dell'aterosclerosi carotidea. Ogni paziente è stato sottoposto a risonanza magnetica cerebrale al basale e dopo 20 mesi allo scopo di valutare volume cerebrale, volume della sostanza bianca e volume della sostanza grigia. Nella valutazione basale, età e presenza di placche fibrocalcifiche sono risultate associate a ridotti volumi cerebrali totali (p multivariata <0.05). Per quanto riguarda la materia grigia, solo la presenza di placche fibrocalcifiche è risultata associata a ridotti volumi (p multivariata <0.05), mentre ridotti volumi di materia bianca sono risultati essere associati a età e volume di aterosclerosi totale (p multivariata <0.05). Il follow up completo è stato ottenuto in 48/64 soggetti. La riduzione mediana di volumi è risultata essere dello 0.58% per il volume totale, dello 0.46% per la materia grigia e dello 0.70% per la materia bianca (tutte p<0.001). Nessun parametro di placca è risultato associato alla riduzione dei volumi cerebrali a 20 mesi di follow up. Nella popolazione con placca carotidea subcritica analizzata, l'età, la presenza di placche fibrocalcifiche e l'estensione dell'aterosclerosi carotidea sono risultate associate a ridotti volumi cerebrali al basale. Dopo 20 mesi di follow up, nessun parametro di placca è risultato associato alla perdita di parenchima cerebrale. È importante sottolineare come nella popolazione analizzata la perdita annua di volume cerebrale sia stata inferiore rispetto a quella attesa secondo dati di letteratura. Questo fatto può sicuramente aver influenzato sul potere statistico dello studio, ma conforta sul fatto che in una popolazione altrimenti sana al giorno d'oggi la perdita di volume cerebrale nel tempo è contenuta.

DEPRESSIONE E PROPROTEINA CONVERTASI SUBTILISINA/KEXINA TIPO 9: EVIDENZE DALLA COORTE SPHERE

C. Macchi¹, C. Favero², M.F. Greco¹, A.C. Pesatori², L. Vigna³, A. Ceresa⁴, N. Ferri⁵, A. Corsini¹, C.R. Sirtori⁶, M. Buoli⁴, V. Bollati², M. Ruscica¹

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ²EPIGET Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università degli Studi di Milano; ³Fondazione Cà Granda, IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico; ⁴Dipartimento di Fisiopatologia Medico-Chirurgica e dei Trapianti, Università degli Studi di Milano; ⁵Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova; ⁶Centro Dislipidemie, A.S.S.T. Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

Introduzione/Scopo. Tra le condizioni cliniche associate al rischio cardiovascolare, l'ansia e la depressione sono fattori da considerare. I pazienti depressi, infatti, hanno maggiori probabilità di sviluppare malattie cardiovascolari, con un rischio di eventi che aumenta in base alla gravità della depressione. Studi epidemiologici hanno dimostrato come i soggetti obesi abbiano un aumentato rischio di sviluppare eventi depressivi. In tale contesto, la proproteina convertasi subtilisina/kexina di tipo 9 (PCSK9), principale regolatore del turnover dei recettori delle lipoproteine a bassa densità, potrebbe avere un ruolo diretto nell'ambito delle patologie cardiovascolari. Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare, in soggetti obesi, l'influenza della depressione sui livelli circolanti della proteina PCSK9 e sull'associazione di quest'ultima con il Framingham Risk Score (FRS), un algoritmo di stima a 10 anni del rischio cardiovascolare.

Metodi. In 310 soggetti obesi dello studio longitudinale SPHERE (Susceptibility to Particle Health Effects, miRNAs and Exosomes), la presenza e la severità della depressione sono state valutate mediante il Beck Depression Inventory II (BDI-II) e i livelli di PCSK9 mediante ELISA.

Risultati. Nelle donne si sono riscontrati valori di BDI-II più elevati, con un punteggio di 11,5 rispetto a 6,8 negli uomini. I livelli di PCSK9, con una distribuzione Gaussiana (254,4±78,7 ng/mL), sono risultati associati significativamente al BDI-II. Per ogni aumento unitario di BDI-II, i livelli circolanti di PCSK9 sono aumentati significativamente di 1,57 ng/mL ($\beta=1,57$; SE=0,80). Un andamento opposto è stato evidenziato in soggetti con una grave depressione, ovvero con punteggi BDI-II superiori a 20 ($\beta=-5,26$; SE=1,95). Il BDI-II è risultato significativamente associato alla proteina C reattiva ($\beta=0,015$; SE=0,006), all'interleuchina-10 ($\beta=0,699$; SE=0,322) e al TNF- α ($\beta=0,420$; SE=0,200). Infine, per un incremento di 100 ng/mL dei livelli di PCSK9 il FRS è aumentato del 20% ($\Delta=20,69$; 95%CI: 5,60-35,81; p=0,004); tale associazione è indipendentemente dal BDI-II e dall'indice di massa corporea, variabili che non si associano al FRS.

Conclusioni. In soggetti obesi, i livelli di PCSK9 aumentano in modo graduale fino a una certa severità del disturbo depressivo e rimangono un predittore indipendente del rischio cardiovascolare, valutato mediante FRS.

ALTERAZIONE DEI MECCANISMI DI RISPOSTA ALLO STRESS IN UN MODELLO SPERIMENTALE DI ANORESSIA NERVOSA

F. Mottarlini, F. Bonacina, F. Telese, P. Uboldi, G.D. Norata, F. Fumagalli, L. Caffino
 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,
 Università degli Studi di Milano

L'anoressia nervosa (AN) è una patologia psichiatrica complessa, multifattoriale, che colpisce prevalentemente adolescenti di sesso femminile, caratterizzata da ridotta assunzione di cibo, paura di acquisire peso ed intensa attività fisica. Nonostante l'eziologia della patologia è ancora in gran parte sconosciuta, le pazienti anoressiche mostrano una disregolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), il sistema responsabile per il mantenimento delle normali funzioni dei meccanismi responsivi allo stress e di numerose funzioni metaboliche.

Lo scopo del nostro lavoro è stato valutare se l'esposizione alla combinazione di restrizione calorica ed attività fisica fosse in grado di indurre un'alterazione periferica e centrale dell'asse HPA nel modello sperimentale di anoressia nervosa noto come ABA (*activity-based anorexia*).

Ratte femmine adolescenti sono state esposte dal giorno postnatale [PND] 38 al PND42 ad un programma nutrizionale restrittivo (2 ore al giorno per 5 giorni) ed accesso libero ad una ruota di attività. Un gruppo di animali è stato sacrificato al PND42 (fase acuta della patologia), mentre i rimanenti sono stati sacrificati dopo 7 giorni, al recupero del peso corporeo (PND 49).

Dopo tre giorni dall'induzione del fenotipo anoressico, il gruppo ABA mostra una riduzione del peso corporeo significativamente maggiore rispetto agli animali esposti alla sola restrizione calorica (FR). Inoltre, diversamente dagli animali esposti al solo esercizio fisico (EXE) che mostrano un'attività fisica costante, gli animali ABA aumentano gradualmente la distanza percorsa sulla ruota.

Nella fase acuta, le ratte ABA mostrano una marcata riduzione dei livelli di trigliceridi, colesterolo e leptina plasmatica, alterazione che viene recuperata al PND49.

Il gruppo ABA mostra un aumento dei livelli plasmatici di corticosterone in fase acuta, che sono invece ridotti quando misurati dopo il recupero del peso corporeo. In parallelo, in ipocampo il protocollo ABA altera la traslocazione del recettore dei glucocorticoidi verso il nucleo ad entrambi i tempi di sacrificio.

In conclusione, questi dati suggeriscono che la possibile connessione fra alterazioni molecolari a livello plasmatico e disfunzioni nella plasticità cerebrale indotte dal fenotipo anoressico sia in grado di ridurre la capacità delle ratte ABA di rispondere a stimoli esterni in maniera adeguata, contribuendo ad alterare l'omeostasi energetica e i meccanismi di ricompensa che alimentano il fenotipo anoressico.

Progetto Cariplo: 2017-0865. Unveiling the role of the Irisin-BDNF axis in controlling muscle to brain metabolic crosstalk in anorexia nervosa.

ESPOSIZIONE CUMULATIVA AI BIFOSFONATI E RISCHIO DI EVENTI CARDIO-CEREBROVASCOLARI: UNO STUDIO DI COORTE BASATO SULLA POPOLAZIONE

E. Olmastroni¹, M. Casula^{1,2}, F. Galimberti¹, E. Tragni¹, G. Corrao^{3,4}, L. Scotti⁵, A.L. Catapano^{1,2}

¹Servizio di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università di Milano; ²IRCCS MultiMedica, Sesto S. Giovanni, Milano; ³Centro Healthcare Research & Pharmacoepidemiology, Milano; ⁴Laboratorio Healthcare Research & Pharmacoepidemiology, Dipartimento di Statistica e Metodi Quantitativi, Università di Milano-Bicocca, Milano; ⁵Unità di Biostatistica, Epidemiologia e Salute Pubblica, Dipartimento di Statistica e Metodi Quantitativi, Università di Milano-Bicocca, Milano

Sebbene alcuni studi abbiano suggerito un beneficio cardiovascolare associato all'uso di bifosfonati, le evidenze di questo effetto sono contrastanti. Obiettivo di questa analisi è stato valutare l'effetto dei bifosfonati sull'incidenza di eventi cardio-cerebrovascolari su base aterosclerotica in una coorte di utilizzatori afferenti al servizio sanitario regionale della Lombardia.

È stato condotto uno studio di coorte retrospettivo selezionando dai database amministrativi della regione gli assistiti di età >40 anni con una prima prescrizione di bifosfonati (data indice) tra 01/01/2003 e il 31/12/2006. I soggetti selezionati sono stati seguiti dalla data indice fino alla prima ospedalizzazione per evento cardio-cerebrovascolare, fine della presenza nel database, fine della copertura del medesimo (31/12/2012), o decesso. L'esposizione ai bifosfonati è stata calcolata come dosi cumulative (proporzione di giorni coperti, PDC), e definita come bassa (PDC ≤40%), media (PDC 41% - 80%) o alta (PDC >80%). L'associazione tra l'esposizione tempo-dipendente ai bifosfonati e l'incidenza di eventi cardio-cerebrovascolari è stata stimata implementando un modello di Cox (*hazard ratio* [HR] e intervallo di confidenza [IC] al 95%), aggiustato per età, sesso, comorbilità e trattamenti concomitanti.

Degli 82.704 utilizzatori incidenti di bifosfonati arruolati (87% donne, età media±SD 70,7±10,6 anni), circa il 16% ha sperimentato un evento cardio-cerebrovascolare durante il follow-up, in media 3,5±2,3 anni dopo la data indice. Gli individui con una PDC compresa tra 41 e 80% o maggiore all'80% avevano un rischio ridotto rispettivamente del 5% (HR 0,95 [IC 95% 0,91-0,99]) e del 25% (HR 0,75 [IC 95% 0,71-0,81]) di sperimentare un evento, se confrontati a soggetti con PDC ≤40%. Una sotto-analisi per tipologia di evento ha confermato l'associazione della PDC >80% con la riduzione dell'incidenza di eventi sia cardiovascolari (HR 0,75 [IC 95% 0,68-0,83]) che cerebrovascolari (HR 0,76 [IC 95% 0,70-0,83]). L'effetto protettivo è stato inoltre confermato nelle analisi di sensibilità per sesso, classi di età e per periodi di esposizione pari a 1 e 3 anni.

Nonostante siano necessari ulteriori studi per confermare questo risultato e per capire i meccanismi biologici, riteniamo che l'esposizione ai bifosfonati, soprattutto se caratterizzata da una aderenza ottimale al trattamento, possa comportare un beneficio clinico rilevante in termini di prevenzione cardiovascolare.

STUDIO PLIC-CHIESA: STILI DI VITA E PROFILO CARDIO-METABOLICO IN UN VILLAGGIO ALPINO ISOLATO, CONFRONTO CON UNA COORTE URBANA (STUDIO PLIC)

S. Cicolari¹, A. Baragetti¹, M. Casula^{1,2}, L. Grigore^{2,3}, E. Olmastroni¹, F. Pellegatta^{2,3}, L. Redaelli³, C. Tidone³, V. Zampoleri³, E. Tragni¹, A.L. Catapano^{1,2}, P. Magni^{1,2}
¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ²IRCCS MultiMedica, Sesto S. Giovanni, Milano; ³S.I.S.A. Centro per lo studio dell'aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano

Introduzione. Nutrizione, attività fisica e stili di vita sono peculiari della regione geografica di ogni gruppo etnico e si associano a importanti differenze nel rischio e nella prevalenza delle patologie cronico-degenerative, con particolare attenzione a quelle cardiovascolari (CVD). Su questa base, abbiamo confrontato fattori di rischio e prevalenza di CVD nella popolazione di Chiesa in Valmalenco, un insediamento nelle Alpi italiane (studio PLIC-CHIESA) con i dati dello studio PLIC, condotto in un'area urbana (Milano).

Soggetti e Metodi. I soggetti afferenti ai due studi (studio PLIC-CHIESA e studio PLIC) sono stati arruolati su base volontaria. Il protocollo di studio ha compreso: prelievo di campioni di sangue venoso a digiuno, visita clinica completa, questionario dettagliato sullo stile di vita, valutazione dello score MEDAS-PREDIMED* e ultrasonografia carotidea (valutazione della presenza di placca aterosclerotica subclinica e calcolo del c-IMT). Ogni soggetto dello studio PLIC-CHIESA (n=680, 18-75 anni) è stato abbinato per età e sesso ad un soggetto dello studio PLIC (n=2141, >18 anni). Sono stati quindi valutati 354 soggetti (25-75 anni) per ogni studio. *A 14-point Mediterranean Diet Adherence Screener (MEDAS)-PREDIMED

Risultati. Rispetto ai soggetti PLIC, i soggetti del PLIC-CHIESA avevano punteggio PREDIMED (7.36(2.10) vs 8.34(1.65), p<0.001) e aderenza (punteggio <8): 54.1% vs 28.5% (p<0.001) inferiori. Erano più attivi fisicamente (75.6% vs 56.3%, p<0.001), erano più fumatori (20.1% vs 17.2%, p<0.001) e assumevano meno alcol (62.7% vs 72.3%, p=0.014). Prevalenza di sovrappeso/obesità, circonferenza vita, pressione sanguigna, colesterolo totale e trigliceridi non presentavano differenze. Nel PLIC-CHIESA, HDL-C (58(13) vs 62(16) mg/dL, p<0.001) era minore, LDL-C (131(31) vs 126(31) mg/dL, p=0.037), glicemia (98(15) vs 92(15) mg/dL, p<0.001) e acido urico (8.2(12) vs 4.8(1.2) mg/dL, p<0.001) erano maggiori. Inoltre, presentavano c-IMT inferiore (0.641(0.116) vs 0.703(0.167) mm, p<0.001), ridotte aterosclerosi carotidea (23.4% vs 31.4%, p=0.019) e CVD (9(2.5) % vs 27(7.6) %).

Conclusioni. L'analisi dimostra sostanziali differenze nello stile di vita e nei biomarker di CVD, con una ridotta prevalenza di aterosclerosi e CVD, una minor aderenza alla dieta mediterranea e una maggior attività fisica nella popolazione alpina (PLIC-CHIESA).

Ulteriori approfondimenti, inclusi potenziali aspetti genetici correlati con l'isolamento, verranno considerati al completamento dello studio PLIC-CHIESA.

SEPARAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI DIVERSE POPOLAZIONI DI VESCICOLE EXTRACELLULARI E DI NANOPARTICELLE NON MEMBRANOSE SECRETE DA UNA LINEA CELLULARE LINFONODALE METASTATICA DI MELANOMA UMANO

F.M. Accattatis¹, A. Granata¹, S. Mazza¹, E. Vergani³, M. Romano^{4,5}, A. Ridolfi^{5,6,7}, P. Bergese^{4,5}, A. Corsini^{1,2}, L. Arnaboldi¹

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari DiSFeB, Università Degli Studi di Milano; ²IRCCS MultiMedica, Milano; ³IRCCS Istituto Nazionale Tumori; Laboratorio di Immunoterapia dei Tumori Umani, Milano; ⁴Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi di Brescia; ⁵Consorzio Interuniversitario per lo Sviluppo dei Sistemi a Grande Interfase (CSGI), Firenze; ⁶CNR, Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati (CNR-ISMN), Bologna; ⁷Dipartimento di Chimica "Ugo Schiff", Università degli Studi di Firenze

Introduzione. Le vescicole extracellulari (EV) sono strutture secrete fisiologicamente dalle cellule, ma carenze nei metodi di separazione e caratterizzazione impediscono una comprensione esaustiva delle loro proprietà biologiche. Le EV sono classificate in piccoli (50-80nm), grandi (80-120nm) esosomi e microvescicole (120-1000 nm). Recentemente è emersa una nuova popolazione di nanoparticelle non membranose dette esomeri (<50 nm).

Scopo. Separare, quantificare e caratterizzare (dimensioni, contenuto in lipidi/proteine, distribuzione) le diverse sottopopolazioni di EV.

Modulare farmacologicamente le vie del metabolismo lipidico coinvolte nella sintesi/secrezione delle EV.

Materiali e Metodi. Cellule di metastasi linfonodali di melanoma umano (LM-16) sono state coltivate in petri da 150mm e isolate per ultracentrifugazione differenziale secondo il metodo di Livshits. Le EV così ottenute sono state analizzate mediante microscopia a trasmissione elettronica (TEM), saggi colorimetrici nanoplasmatici (CONAN), microscopia a forza atomica (AFM), mentre i lipidi per mezzo di saggi colorimetrici, cromatografici e GLC.

Risultati. Abbiamo documentato un aumento relativo e continuo di acidi grassi saturi passando da microvescicole (35.89%) ad esomeri (65.27%), bilanciato da una diminuzione di quelli insaturi, da 51.07% (microvescicole) a 29.38% (esomeri) e da un incremento nei plasmalogeni dal 5.33% a 13.02%. La massa dei fosfolipidi (PL) e del colesterolo libero (FC) aumenta rispetto alle cellule parentali fino a 4 e 14 volte rispettivamente, così come si assiste a variazioni specifiche di FC/PL, suggerendo alterazioni in fluidità di membrana, scambi cellulari e resistenza fisica.

Per documentare purezza, distribuzione dimensionale e numero reale delle particelle, dati preliminari ottenuti con CONAN ed AFM suggeriscono una corrispondenza tra raggio sperimentale e calcolato, oltre a una buona purezza dei campioni. Stiamo caratterizzando le popolazioni mediante piattaforme di lipidomica e proteomica.

Scopi futuri. Somministrare le popolazioni di EV caratterizzate sia dal punto di vista lipidico sia proteico prodotte da cellule parentali naïve o trattate farmacologicamente

con molecole in grado di alterare il metabolismo lipidico (implicato sia nella genesi che nella secrezione delle EV), per documentare i loro effetti in saggi funzionali (e.g. proliferazione, apoptosi, migrazione, invasione) per contribuire a comprendere i loro ruoli fisiopatologici, alla ricerca di un possibile nuovo approccio farmacologico o per la scoperta di nuovi biomarcatori nella cura dei tumori.

DISSECTING TARGET-INDUCED MICRORNA DEGRADATION IN HUMAN CANCER

M.J. Marzi, I. Simeone, C. Rubolino, F. Nicassio
Center for genomic science of IIT@SEMM, Istituto Italiano di Tecnologia (IIT), Milan

I miRNA agiscono a livello post-trascrizionale modulando l'espressione di centinaia di geni, definendo l'identità e le proprietà cellulari e giocando un ruolo chiave nei processi di sviluppo e in molte patologie, tra cui i tumori. L'azione dei miRNA richiede l'interazione, basata su complementarità di sequenza, con i trascritti target, in regioni dei 3'UTR definite "elementi di responsabilità al miRNA" (MRE), causando la degradazione del target e/o l'inibizione della sintesi proteica. Alcuni gruppi di ricerca, tra cui il nostro, hanno recentemente dimostrato che questo meccanismo può essere talvolta rovesciato: i trascritti target che contengono MRE ad alta affinità inducono infatti la degradazione del miRNA a cui sono legati ("degradazione del miRNA dipendente da target" o TDMD). Il TDMD è stato dimostrato ad oggi con soli tre trascritti endogeni in cellule murine. La definizione dell'intero repertorio dei trascritti capaci di TDMD nell'uomo è dunque di grande importanza per svelare se il TDMD giochi un ruolo in ambito fisiopatologico. A tal fine, tramite un approccio di allineamento computazionale di trascritti e miRNA, abbiamo identificato tutti gli MRE umani che possiedono le caratteristiche di sequenza e di conservazione necessarie perché il TDMD sia possibile. Tra questi, ci siamo focalizzati sulle 1508 coppie target:miRNA con il migliore score, e abbiamo dimostrato tramite una rigorosa validazione biologica che più del 75% dei trascritti selezionati è capace di degradare il miRNA bersaglio. Abbiamo poi analizzato il possibile ruolo patologico di ciascuna di queste 1508 coppie nell'ambito di tumori umani. Una meta-analisi dei dati TCGA relativi a 21 differenti tumori ha identificato 104 interazioni che potrebbero giocare un ruolo oncogenico o di soppressione di tumori. Abbiamo poi validato il ruolo oncogenico di una di queste 104 coppie nel contesto del tumore alla mammella, dove il trascritto TDMD promuove chemo-resistenza ed un aumentato numero di cellule staminali tumorali tramite la degradazione di uno specifico miRNA. Allo scopo di validare tutte le rimanenti interazioni, abbiamo elaborato una strategia di screening basata sulla creazione di mutazioni degli MRE tramite CRISPR/Cas9 (che porta all'interruzione del meccanismo TDMD) e sulla analisi delle conseguenze trascrizionali tramite sequenziamento di RNA a singola cellula (10X genomics).

Progetto Cariplo: 2016-0615: "Study of target-induced microRNA degradation and competing endogenous RNA mechanism by CRISPR/Cas9 mediated deletion of high affinity target sites".

LE LIPOPROTEINE AD ALTA DENSITÀ INIBISCONO LA CRESCITA DELLE CELLULE TUMORALI PROSTATICHE ANDROGENO-INDIPENDENTI DOPO IL RIPRISTINO DELL'ESPRESSIONE DI ABCA1 CON IL BORTEZOMIB

E. Giorgio¹, L. Calabresi¹, M. Gomaschi¹
¹Centro Enrica Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

Il carcinoma prostatico (PCa) è il tumore più comunemente diagnosticato e la seconda causa di morte per cancro negli uomini. Dopo una risposta iniziale alla terapia di deprivazione androgenica, il PCa può evolvere in un fenotipo androgeno-indipendente (CRPC), per il quale le opzioni terapeutiche sono limitate e inefficaci. I meccanismi responsabili di questa transizione non sono noti e potrebbero essere legati ad alterazioni metaboliche. Infatti, le cellule tumorali hanno bisogno di colesterolo per proliferare, per l'integrità strutturale e funzionale delle membrane cellulari e come precursore della sintesi ormonale. Le lipoproteine ad alta densità sono ben note per la loro capacità di rimuovere il colesterolo cellulare, ma studi precedenti nel nostro laboratorio hanno dimostrato che nelle cellule PC-3, rappresentative del CRPC, l'efflusso di colesterolo tramite HDL è compromesso a causa di una ridotta espressione del trasportatore ATP-binding cassette A1 (ABCA1). Scopo dello studio è valutare nelle cellule PC-3: i meccanismi responsabili della down-regolazione ABCA1 e l'impatto del ripristino di ABCA1 sulla proliferazione cellulare.

Nelle PC-3 è stata osservata una significativa riduzione della proteina ABCA1, nonostante i livelli elevati di mRNA. Il gene ABCA1 è stato sequenziato, ma non è stata trovata alcuna mutazione. Pertanto, è stato studiato il possibile coinvolgimento dei sistemi di degradazione delle proteine utilizzando specifici inibitori. L'inibizione del proteasoma da parte del bortezomib ha determinato un aumento significativo dell'espressione di ABCA1, valutata mediante immunofluorescenza.

Nelle PC-3, le HDL non sono state in grado di promuovere l'efflusso di colesterolo dopo il caricamento con LDL; di conseguenza, le HDL non sono state in grado di prevenire la proliferazione indotta dalle LDL. Al contrario, quando le cellule sono state pretrattate con bortezomib, le HDL hanno causato una riduzione del 30% del contenuto di colesterolo cellulare e una riduzione del 20% della proliferazione indotta dalle LDL. L'effetto antiproliferativo della combinazione di HDL con bortezomib è di lunga durata, come dimostrato dai saggi di clonogenicità.

In un modello cellulare rappresentativo del carcinoma prostatico androgeno-indipendente, il ripristino dell'espressione di ABCA1 da parte dell'inibitore del proteasoma ha reso le cellule tumorali sensibili alla rimozione del colesterolo da parte delle HDL, con una conseguente inibizione della proliferazione cellulare.

SINDROME DELLA FRAGILITÀ DELL'ANZIANO: NUOVI MARCATORI PRECLINICI IN RELAZIONE ALLA MALATTIA VASCOLARE

M.T. Palano, E. Sangalli, R. Vono, O. Colpani, E. Tagliabue, P. Orlando, F. Carnelli, G. Spinetti, P. Madeddu
IRCCS MultiMedica

La fragilità rappresenta una sindrome caratterizzata da decadimento muscolo-scheletrico e cognitivo caratteristico di molte persone anziane. Molti sintomi di fragilità si riferiscono direttamente/indirettamente al midollo osseo, fonte principale di cellule rigenerative. La diminuzione di cellule rigenerative midollari CD34+ è associata a vulnerabilità cardiovascolare e mortalità. L'attività fisica e interventi nutrizionali ripristinano la disponibilità/funzionalità di tali cellule. Ci proponiamo quindi di studiare i meccanismi della fragilità dell'anziano e la relazione tra tale condizione ed una disfunzione del midollo osseo associata ad un deficit di cellule progenitrici rigenerative midollari CD34+ che potrebbe essere alla base della vulnerabilità degli organi periferici. In una coorte di 36 pazienti anziani (>65 anni) seguiti dall'UO di Ortopedia per coxoartrosi valuteremo la fragilità mediante lo score di Rockwood che raccoglie informazioni di forza muscolare e di capacità polmonare. L'abbondanza di cellule progenitrici ad attività angiogenica CD45dim/CD34+ e cellule endoteliali mature CD45-/CD34+ del midollo osseo e del sangue periferico viene misurata al citofluorimetro e correlata alla fragilità al tempo zero e ad un follow up di 8 mesi dall'intervento di protesi d'anca.

Sono stati arruolati ad oggi 34 dei 36 pazienti previsti (età media±SD: 75.09±5.6). L'indice di fragilità (FI) è risultato in media±SD pari a 9.27±3.77, quindi nel range (0.1-16) considerato lieve. Da una regressione lineare non risulta in questa coorte un'associazione significativa tra FI e cellule CD45dim/CD34+, ma si nota una associazione positiva tra FI e cellule endoteliali CD45-/CD34+ con significatività statistica (p=0.037). Un aumento di cellule endoteliali circolanti è stato osservato in soggetti con patologia vascolare e si ritiene rispecchi il rilascio in circolo di cellule dovuto al danno dell'endotelio. Inoltre dall'analisi preliminare dei dati raccolti durante il follow up (N=6) si osserva una riduzione dei valori di FI (p=0.036) in tutti i soggetti suggerendo un effetto dell'intervento e della riabilitazione motoria sulla fragilità. Se confermati, questi dati potrebbero aiutare nella definizione di un nuovo marcatore di fragilità preclinica correlata a malattia vascolare.

LAV-BPIFB4 SI ASSOCIA A UNA RIDOTTA FRAGILITÀ NELL'UOMO E IL TRATTAMENTO DI TOPI ANZIANI PREVIENE LA PROGRESSIONE DELLA FRAGILITÀ

M. Malavolta³, A. Ferrario¹, A. Maciag¹, A. Carrizzo², C. Vecchione², A.A. Puca^{1,2}
¹Gruppo Multimedia; ²Università di Salerno;
³IRCCS INRCA

C'è una crescente preoccupazione per la fragilità legata all'età a causa del crescente numero di anziani nella popolazione generale. La variante "Longevity Associated Variant (LAV)" del gene BPIFB4 è capace di migliorare la disfunzione endoteliale e prevenire la progressione dell'aterosclerosi, processi patologici che promuovono la fragilità. La variante "rare variant (RV)" di BPIFB4 invece induce disfunzione endoteliale, aumento della pressione arteriosa, e associa con ipertensione arteriosa. Pertanto, è presumibile che queste isoforme possano influenzare la fragilità.

Abbiamo quindi valutato se gli aplotipi di BPIFB4, LAV, wild-type (WT) e RV correlano con la fragilità in una coorte di 237 soggetti anziani della regione Calabria nel sud Italia. Inoltre, abbiamo studiato l'effetto del trasferimento sistemico del gene LAV-BPIFB4 mediato dal vettore adeno-associato sulla progressione della fragilità nei topi anziani.

Abbiamo trovato una correlazione inversa dell'aplotipo omozigote LAV-BPIFB4 con fragilità nei soggetti anziani. Al contrario, i portatori dell'aplotipo RV-BPIFB4 hanno mostrato un aumento dello stato di fragilità e del rischio di morte. Inoltre, nei topi vecchi, il trasferimento del gene LAV-BPIFB4 ha ritardato la progressione della fragilità. In conclusione, questi dati indicano come gli specifici aplotipi BPIFB4 possano rappresentare utili marcatori genetici di fragilità.

ZC3H10 CONTROLLA LA FUNZIONALITÀ MITOCONDRIALE E IL DIFFERENZIAMENTO NEGLI ADIPOCITI

S. Pedretti, M. Audano, S. Ligorio, M. Crestani, D. Caruso, E. De Fabiani e N. Mitro
 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,
 Università degli Studi di Milano

Introduzione. L'aumento dell'incidenza dell'obesità rappresenta uno dei principali problemi a livello mondiale. L'adipogenesi è controllata da una cascata di fattori di trascrizione fra cui peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ). Inoltre, numerosi studi dimostrano una correlazione tra obesità e disfunzione mitocondriale.

I mitocondri sono organelli essenziali per le funzioni cellulari fra cui la produzione di energia. Nel nostro laboratorio abbiamo isolato e identificato l'RNA binding protein Zinc finger CCCH-type containing 10 (Zc3h10) come nuovo regolatore mitocondriale e abbiamo validato il suo ruolo durante il processo di adipogenesi. Metodi: Cellule mesenchimali murine (CH3/10T1/2) sono state differenziate ad adipociti in presenza e in assenza di Zc3h10. La quantificazione dei metaboliti energetici è stata eseguita mediante cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa (LC-MS/MS) mentre per l'analisi del ciclo cellulare è stata utilizzata la citofluorimetria a flusso.

Risultati. Abbiamo osservato che i livelli della proteina Zc3h10 aumentano durante il differenziamento adipocitario. Il silenziamento di Zc3h10 (ShZc3h10) nelle fasi iniziali del differenziamento ha un effetto negativo sull'attività mitocondriale e sui livelli di metaboliti energetici. È stato inoltre osservato che il silenziamento di Zc3h10 ha un effetto negativo sia sulla proliferazione (conta cellulare, Scramble: 18851 ± 1543 vs ShZc3h10: 7259 ± 630 , $p < 0,001$) sia sul ciclo cellulare degli adipociti durante il differenziamento. Dall'analisi del ciclo cellulare risulta che cellule ShZc3h10 non progrediscono correttamente nel ciclo cellulare durante l'espansione clonale mitotica, condizionando l'abilità dei preadipociti di uscire dalla fase G2/M (% cellule in G2, Scramble: $9,49 \pm 0,25$ vs ShZc3h10: $12,39 \pm 0,38$, $p < 0,001$) e impedendo il corretto differenziamento (colorazione Oil Red O, Abs490nm, Scramble: $265 \pm 0,02$ vs ShZc3h10: $192 \pm 0,008$, $p < 0,001$). La sovraespressione di Zc3h10 (espressione genica Scramble: 1 vs Zc3h10-Flag: $98,37$, $p < 0,001$) aumenta l'espressione sia dei geni mitocondriali che di quelli coinvolti nel processo di adipogenesi e favorisce l'accumulo lipidico.

Conclusioni. I nostri risultati dimostrano che Zc3h10 è importante per la corretta funzionalità mitocondriale, per la progressione nel ciclo cellulare e per un corretto differenziamento adipocitario.

IL RUOLO DELLE ISTONE DEACETILASI DI CLASSE I DURANTE IL DIFFERENZIAMENTO ADIPOCITARIO: UN IMPRINTING VERSO UN METABOLISMO OSSIDATIVO E UN FENOTIPO SIMIL-BRUNO

C. Peri, A. Ferrari, R. Longo, D. Caruso, A. Mai, N. Mitro, E. De Fabiani, M. Crestani
 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,
 Laboratorio "G. Galli" di Biochimica e Biologia
 Molecolare del Metabolismo-Spettrometria di Massa

Introduzione. L'obesità, patologia che costituisce uno dei principali fattori di rischio cardiovascolare, è caratterizzata da un eccessivo accumulo di grasso corporeo. È recentemente emersa una connessione tra epigenetica, metabolismo e relative patologie quali l'obesità; vi sono, infatti, modificatori epigenetici che sono coinvolti nella regolazione del metabolismo del tessuto adiposo. È stato precedentemente dimostrato che l'inibizione dell'istone deacetilasi di classe I (HDACs) promuove il metabolismo ossidativo e incentiva l'acquisizione di un fenotipo simil bruno. Tuttavia, si sta ancora indagando su quale sia il loro specifico ruolo nel differenziamento adipocitario.

Scopo di questo studio è stato chiarire come le HDACs di classe I sono coinvolte nel differenziamento adipocitario e nel determinare il fenotipo metabolico.

Risultati. Cellule mesenchimali staminali C3H/10T1/2 sono state trattate, a diversi stadi del differenziamento, con MS-275, inibitore selettivo dell'istone deacetilasi di classe I: le cellule trattate all'inizio del differenziamento hanno mostrato una riduzione della dimensione delle gocce lipidiche. Inoltre, le cellule trattate precocemente hanno mostrato un'aumentata espressione di geni adipogenici quali *Pparg*, *Plin*, *Fabp4*, *Adipoq*, *Glut4*, *Cebpa*. Non sono state rilevate differenze per quanto riguarda la morfologia adipocitaria e geni adipogenici, nelle cellule terminalmente differenziate. Questi risultati suggeriscono che l'istone deacetilasi di classe I regola le fasi precoci del differenziamento. È stato anche osservato che il trattamento con MS-275 dall'inizio del differenziamento stimola il metabolismo ossidativo, suggerendo che l'inibitore incrementa la capacità ossidativa delle cellule C3H/10T1/2. Il trattamento precoce con MS-275 aumenta l'espressione di geni quali *Ucp1*, *Adbl3*, *Ppara*, *Cidea*, indice di un aumentato browning. Di contro, l'inibizione farmacologica delle istone acetil transferasi con garcinolo preveniva il differenziamento adipocitario. MS-275 aumenta l'acetilazione della lisina 27 dell'istone 3 (H3K27ac) su regioni enhancer di geni *Pparg* e *Ucp1*, sottolineando che MS-275 agisce prevalentemente attraverso una regolazione epigenetica di geni correlati al differenziamento e al metabolismo ossidativo.

Conclusione. I risultati forniscono evidenze circa il ruolo dell'istone deacetilasi di classe I nel differenziamento adipocitario: la sua inibizione, negli stadi precoci del differenziamento, è in grado di dare un imprinting epigenetico alle cellule verso un fenotipo ossidativo e brown-like.

(MIUR Progetto Eccellenza, FP7 NR-NET PITN-GA-2013-606806, Fondazione Cariplo 2015-0641)

RUOLO DEL TRASPORTATORE DEL LATTATO MCT1 NEI LINFOCITI T DURANTE L'OBESITÀ

A. Moregola¹, C. Macchi¹, M.F. Greco¹, F. Bonacina¹, M. Ruscica¹, G.D. Norata^{1,2}

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ²Centro SISA per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano

Introduzione. I linfociti T si accumulano nel tessuto adiposo durante l'obesità e la loro attivazione determina un switch metabolico con un' aumentata produzione di lattato. MCT1 è un trasportatore del lattato espresso in diversi tipi cellulari inclusi i linfociti T. Scopo di questo progetto è quello di valutare se la delezione selettiva di MCT1 a livello dei linfociti T possa avere un ruolo nell'ambito di una patologia infiammatoria a basso grado, quale l'obesità. **Metodi.** Topi MCT1^{fl/fl}CD4-cre, con specifica delezione del trasportatore nei linfociti T, e topi MCT1^{fl/fl} sono stati alimentati con una dieta ad alto contenuto di grassi (high fat diet-HFD; 45% Kcal grassi) per 20 settimane. Il peso è stato valutato settimanalmente e sono stati effettuati test di tolleranza al glucosio (GTT) e all'insulina (ITT) dopo 10 e 20 settimane di dieta. Una caratterizzazione immunofenotipica tramite citofluorimetria è stata effettuata al termine delle 20 settimane.

Risultati. L'espressione del trasportatore MCT1 è aumentata dopo attivazione nei linfociti T sia umani che murini. Dopo 20 settimane di dieta HFD, i topi MCT1^{fl/fl}CD4-cre, nonostante un simile guadagno di peso ed una stessa risposta al glucosio, hanno un minor accumulo di tessuto adiposo sia viscerale (VAT) che sottocutaneo (SCAT) se paragonati ai topi MCT1^{fl/fl}. L'assenza di MCT1 nei linfociti T è coincisa con una riduzione del numero di linfociti T CD8⁺ nel VAT e nello SCAT (VAT, p<0.05; SCAT, p<0.05). Questo profilo si associa ad una diversa distribuzione delle sottopopolazioni di linfociti T (linfociti T effector memory (Tem) CD8⁺ VAT: MCT1^{fl/fl} 84.20%±5.72, MCT1^{fl/fl}CD4-cre 57.29±8, p<0.001; Tem CD8⁺ SCAT: MCT1^{fl/fl} 72.2%±14.16, MCT1^{fl/fl}CD4-cre 44.93%±14.25, p<0.001), ma ad un simile numero di cellule dell'immunità innata (monociti e macrofagi) che infiltrano il tessuto adiposo. La differenza nel numero di linfociti T nel tessuto adiposo non è la conseguenza di un aumento della morte cellulare nei topi MCT1^{fl/fl}CD4-cre.

Conclusioni. I nostri dati suggeriscono che il trasportatore MCT1 durante una condizione di obesità ha un impatto sull'attivazione dei linfociti T, in particolare sui linfociti T CD8⁺. Ulteriori studi sono necessari per capire se questa differenza possa influire sull'infiammazione del tessuto adiposo.

LA RIPROGRAMMAZIONE DELLE CELLULE T REGOLATORIE COME STRUMENTO TERAPEUTICO PER CONTROLLARE LA RISPOSTA IMMUNO-INFIAMMATORIA ASSOCIATA ALL'ATEROSCLEROSI

F. Bonacina¹, E. Martini², M. Cremonesi², S. Garetto², S. Locatelli¹, J. Nour¹, F. Pellegatta³, A.L. Catapano^{1,4}, M. Kallikourdis², G.D. Norata^{1,3}

¹Dipartimento di Eccellenza di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ²IRCCS Fondazione Humanitas, Rozzano, Milano; ³Centro SISA, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano; ⁴IRCCS Multimedica, Milano

Obiettivo. L'aterosclerosi è associata ad un'alterazione dell'attività immunosoppressiva delle cellule Tregolatorie (Treg). Il nostro obiettivo è indagare se la funzionalità delle Treg è compromessa nei pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare (FH) e testare la terapia cellulare con Treg come trattamento dell'infiammazione correlata all'aterosclerosi.

Metodi. Treg isolate da pazienti FH (HE per LDLR) e topi LDLR-KO sono state caratterizzate tramite citofluorimetria. Successivamente, Treg isolate da animali WT sono state transfettate e iniettate (2x10⁵ cellule/topo) in LDLR-KO alimentati con dieta arricchita in colesterolo (WTD) per 8 settimane e l'evoluzione dell'aterosclerosi analizzata.

Risultati. I pazienti HeFH presentano livelli aumentati di Treg rispetto ai rispettivi controlli (+23%, p<0,01). Esperimenti funzionali, tuttavia, hanno mostrato che le Treg degli FH presentano una ridotta funzionalità rispetto ai controlli (-60% di soppressione della proliferazione di cellule T, p<0,01). Simile disfunzione è stata osservata nelle Treg di topi LDLR-KO, modello sperimentale della malattia. Questi dati suggeriscono che la compromissione funzionale delle Treg possa associarsi all'aumentata risposta immuno-infiammatoria osservata nell'aterosclerosi, suggerendo l'uso di terapie a base di Treg in grado di raggiungere la placca e ridurre così la progressione della malattia.

L'espressione mRNA di una serie di chemochine in topi aterosclerotici LDL-KO ha rivelato che CX3CL1 è espressa selettivamente nell'aorta ma non in altri distretti (linfonodi, milza e fegato), suggerendo che l'espressione ectopica del suo corrispondente CX3CR1 nelle Treg potrebbe veicolarle selettivamente nella placca aterosclerotica. Dopo iniezione, le Treg-CX3CR1+ si localizzano principalmente nell'aorta (2,5% sulle cellule vive rispetto allo 0,6% di ctrl-Treg), mentre la migrazione è limitata e simile a quella di ctrl-Treg in altri distretti, suggerendo che l'asse CX3CL1/CX3CR1 rappresenta una strategia per veicolare le Treg nella placca. Dopo 4 settimane, il trattamento con Treg-CX3CR1+ riduce significativamente la progressione della placca (-40%, p<0,05) e la deposizione lipidica (-11%, p<0,05), ne migliora la stabilità aumentando il collagene (+27%, p<0,05) e il contenuto di cellule muscolari lisce, diminuendo i macrofagi pro-infiammatori. Questi dati suggeriscono che la sovraespressione di CX3CR1 rappresenta un valido approccio per promuovere la migrazione selettiva delle Treg nella placca, limitando così la progressione dell'aterosclerosi riducendone l'infiammazione.

LIVELLI PLASMATICI DI PCSK9 E FATTORI DI RISCHIO VASCOLARE: L'ASSOCIAZIONE È INFLUENZATA DAL GENERE?

D. Coggi,¹ M. Ruscica,¹ M. Amato,² B. Frigerio,² D. Sansaro,² A. Ravani,² P. Ferrante,² F. Tumiatti,² F. Veglia,² A. Bonomi,² N. Capra,² E. Tremoli,^{1,2} N. Ferri,³ D. Baldassarre.^{2,4}

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università di Milano; ²Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Milano; ³Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova; ⁴Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università di Milano

L'influenza del genere sull'associazione tra livelli plasmatici di proteina convertasi subtilisina/kesina di tipo 9 (PCSK9) e fattori di rischio vascolare è tutt'ora oggetto di studio. Pertanto, abbiamo valutato i determinanti indipendenti di PCSK9 in uomini e donne e l'interazione tra tali determinanti e sesso utilizzando il database dello studio IMPROVE.

L'IMPROVE è uno studio europeo multicentrico, longitudinale ed osservazionale, in cui sono stati arruolati 3703 soggetti (tra 55 e 79 anni) ad alto rischio cardiovascolare in prevenzione primaria. Ciascuno soggetto è stato sottoposto ad anamnesi personale e familiare, esame fisico, prelievo di un campione di sangue e registrazione dei trattamenti farmacologici. PCSK9 è stata misurata nel plasma di 1915 donne e 1758 uomini mediante ELISA.

Nell'analisi multivariata stratificata per sesso, PCSK9 si associa negativamente a diabete, uricemia ed attività fisica solo negli uomini (tutti Beta ≥ 0.109 ; $p \leq 0.04$), con interazioni significative sesso x diabete, sesso x uricemia e sesso x attività fisica (tutte Pinterazione ≤ 0.03); negativamente alla latitudine più negli uomini che nelle donne (Beta -0.334 e -0.224 , rispettivamente; entrambe $p < 0.0001$), con un'interazione significativa sesso x latitudine (Pinterazione < 0.0001); positivamente all'ipercolesterolemia solo negli uomini ($p = 0.004$) con una Pinterazione sesso x ipercolesterolemia di 0.01. PCSK9 si associa positivamente a GFR e pack-years (entrambi Beta ≤ 0.068 ; $p \leq 0.04$) e negativamente a MCHC ed estrogeni (entrambi Beta ≥ -0.14 ; $p \leq 0.02$) solo nelle donne; negativamente a storia familiare di diabete e d'ipertensione (entrambi Beta ≥ -0.104 ; $p = 0.04$) solo negli uomini; positivamente a statine, fibrati, trigliceridi e colesterolo HDL in entrambi i sessi (tutti Beta ≤ 0.682 ; $p \leq 0.008$); tuttavia, per nessuna di queste variabili sono state osservate interazioni col sesso significative. Latitudine, statine e fibrati sono i predittori più forti (tutti Beta ≥ -0.224 ; $p < 0.0001$), rappresentando il 15% e il 13% della variazione di PCSK9 nelle donne e negli uomini, rispettivamente. I risultati non cambiano dopo esclusione dei soggetti trattati con statine, fibrati o entrambi.

Concludendo, le differenze di genere influenzano l'associazione tra PCSK9 circolante e latitudine, diabete, ipercolesterolemia, uricemia ed attività fisica.

EVENTI AVVERSI MUSCOLO-SCHELETRICI ASSOCIATI AL TRATTAMENTO CON STATINE NELLO STUDIO PROSISA: PREVALENZA E FATTORI DI RISCHIO

F. Bonaiti,¹ M. Casula^{1,2}, E. Olmastroni¹, M. Gazzotti¹, L. Grigore^{2,3}, A. Zambon^{1,4}, A.L. Catapano^{1,2}
on behalf of the PROSISA Group

¹Servizio di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ²IRCCS MultiMedica, Sesto S. Giovanni, Milano; ³Centro SISA per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano; ⁴Clinica Medica I, Azienda Ospedaliera Universitaria, Università degli Studi di Padova

Background. I sintomi muscolari associati al trattamento con statine (SAMS) rappresentano gli eventi avversi più frequentemente riportati in corso di terapia con statine impattando significativamente su aderenza e risultati clinici. Tuttavia, la confusione sulla terminologia, la mancanza di un test diagnostico "gold standard" e l'assenza di un questionario validato per la loro valutazione ha spesso generato difficoltà nella diagnosi di SAMS.

Scopo e Metodi. Lo studio PROSISA (Project Statin Intolerance SISA) è uno studio di coorte osservazionale, multicentrico, retrospettivo avente come obiettivo primario la determinazione della prevalenza di intolleranza alle statine per comparsa di SAMS in pazienti dislipidemic. Sono stati raccolti dati demografici/anamnestici, valori biochimici ed eventuale comparsa di sintomi muscolari. Inoltre, è stato applicato un modello di regressione logistica per calcolare gli odds ratio (OR) e i relativi intervalli di confidenza al 95% per valutare l'associazione tra comparsa di SAMS e diversi fattori di rischio.

Risultati. La presente analisi è stata condotta su 16.535 pazienti (età media $60,5 \pm 12,0$ anni; 52,2% uomini) in trattamento con statine, tra questi 57,4% con ipertensione, 38,1% con pregressi eventi CV, 24,6% con diabete. Durante la terapia, il 9,7% dei pazienti (N=1585) ha riportato sintomi muscolari, di cui 8,7% uomini, 10,8% donne, 14,5% pazienti con epatopatia. I sintomi muscolari erano principalmente mialgia (71,7%), crampi (24,8%) e fatica (16,9%). Il rischio di insorgenza di SAMS era significativamente più alto nei pazienti che praticavano attività fisica (OR 1,26 [1,09-1,47]), con epatopatia (OR 1,78 [1,43-2,21]), con pregressi eventi CV (OR 1,21 [1,06-1,37]), e di sesso femminile (OR 1,26 [1,13-1,40]). Tra i pazienti che hanno riportato SAMS, 735 hanno interrotto il trattamento (*dechallenge*), con scomparsa dei sintomi muscolari nell'87,5% dei casi. Inoltre, 955 pazienti sono stati sottoposti a *rechallenge* (cambio statina/diminuzione del dosaggio, con o senza *wash-out*), con scomparsa dei sintomi muscolari nel 74,2% dei casi.

Conclusioni. Nel presente studio, la prevalenza di SAMS era 9,65%, tuttavia la percentuale di pazienti in cui l'intolleranza è stata confermata da *dechallenge/rechallenge* è compresa tra il 23-27%, sottolineando quindi la necessità di un migliore approccio nella gestione di SAMS per una corretta diagnosi e rivalutazione del trattamento.