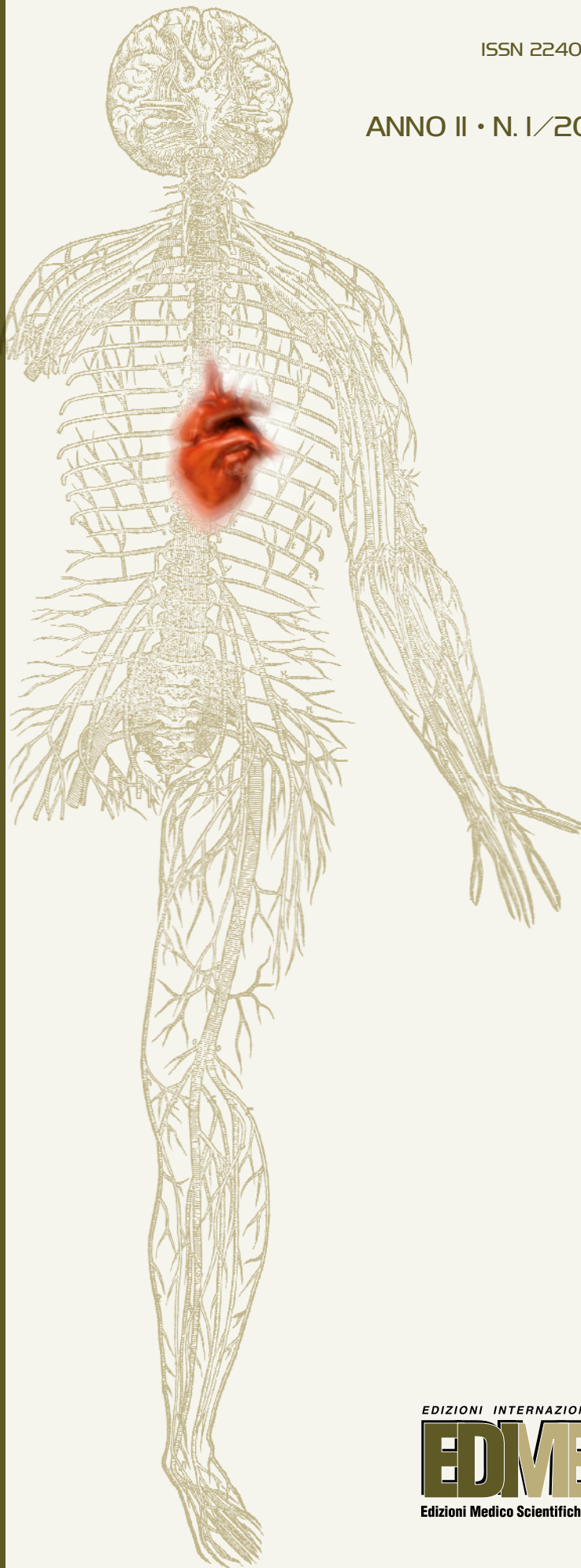


GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI

ISSN 2240-4821

ANNO II • N. I / 2020



EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

EDMES

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia



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

Direttori emeriti

M. Averna
G. Crepaldi
R. Fellin
E. Mannarino
E. Manzato
A. Mezzetti
G.F. Salvioli
A. Ventura

Direttore scientifico

M. Arca (Roma)

Editore

L. Cattin (Trieste)

Vice Editore

F. Angelico (Roma)

Responsabili di area

Review e Linee Guida – D. Sommariva (Milano)

Ricerca e Farmacologia – G.D. Norata (Milano)

Studi Clinici – M. Pirro (Perugia)

Epidemiologia – S. Panico (Napoli)

Comitato di Redazione

A. Baragetti (Milano)
C.M. Barbagallo (Palermo)
A. Belfiore (Bari)
F. Bonacina (Milano)
M. Casula (Milano)
M. Del Ben (Roma)
O. Guardamagna (Torino)
M.R. Mannarino (Perugia)
T. Montalcini (Catanzaro)
L. Pisciotta (Genova)
A. Poli (Milano)
T. Sampietro (Pisa)
R. Sarzani (Ancona)
G.B. Vigna (Ferrara)
A. Zambon (Padova)

Segreteria editoriale

V. Flores d'Arcais
E. Loggia
R. Zecca

Via Balzaretti, 7 - 20133 Milano
E-mail: giornalearteriosclerosi@sisa.it

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

Anno 11 • N. 1 • 2020

SOMMARIO

DOCUMENTO INTERSOCIETARIO

**Consensus intersocietario sull'impiego degli anticorpi
anti-PCSK9 nella gestione del controllo lipidico dei pazienti
con diabete mellito** 5

**Consensus on the use of anti-PCSK9 antibodies in the
management of lipid control of patients with diabetes mellitus**

*Marco Giorgio Baroni, Maria Masulli, Giuseppina Russo,
Giovanni Sartore, Alberto Zambon, Sabina Zambon*

LAVORO ORIGINALE

**Studio di costo-efficacia sull'impiego degli inibitori
di PCSK9 in toscana - Studio CERTI** 30

**Cost-effectiveness study on the use of PCSK9 inhibitors
in Tuscany - CERTI Study**

*Tiziana Sampietro, Francesco Sbrana, Federico Bigazzi, Beatrice Dal Pino,
Elisabetta Volpi, Giuseppa Lo Surdo, Andrea Ripoli, Rosa Gini,
Stefania Biagini, Certi Study Group*

MECCANISMI DI TERAPIA

**CETP ed aterosclerosi: una relazione controversa
in attesa di soluzioni terapeutiche** 48

**CETP and atherosclerosis: a controversial relationship
waiting for therapeutic solutions**

Giuseppe Batori, Vanessa Bianconi, Massimo Raffaele Mannarino, Matteo Pirro

MEDICINA SCIENZA E SOCIETÀ

Verso l'estinzione di homo sulla terra? 64

Towards the extinction of homo on earth?

Daniele Amati, Roberto Iengo

NOTIZIE DAI CONGRESSI

Longevità in buona salute 70

Roberto Volpe

NOTIZIE DALL'AHA 2019 74

Manuela Casula

LETTERA AL GIORNALE 77

EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

EDIMES

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

Edizioni Internazionali srl

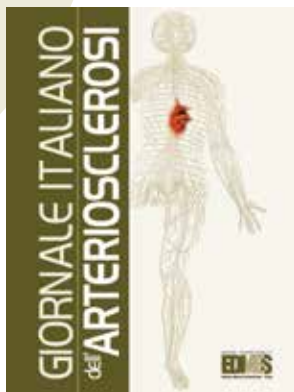
Divisione EDIMES

EDIZIONI MEDICO SCIENTIFICHE - PAVIA

Via Riviera 39 - 27100 Pavia

Tel. 0382526253 r.a. - Fax 0382423120

E-mail: edint.edimes@tin.it



Consiglio Direttivo SISA

Marcello Arca - *Presidente*
Carlo M. Barbagallo
Anna Belfiore
Marco Bucci
Giulia Chiesa
Giuliana Fortunato
Luigi Gentile
Patrizia Tarugi
Maria Grazia Zenti
Enzo Manzato - *Past President*
Matteo Pirro - *Segretario*

Presidenti Sezioni Regionali SISA

Francesco Cipollone (Adriatica)
Piero Portincasa (Appulo-Lucana)
Arcangelo Iannuzzi (Campania)
Angelina Passaro (Emilia-Romagna)
Maria Del Ben (Lazio)
Alberico L. Catapano (Lombardia)
Luigi Gentile (Piemonte-Liguria-Valle d'Aosta)
Antonio Baule (Sardegna)
Tiziana Montalcini (Siculo-Calabria)
Tiziana Sampietro (Toscana)
Nadia Citroni (Triveneto)
Giacomo Pucci (Umbria)

Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi

Viale Maresciallo Pilsudski, 118
00197 Roma

Autorizzazione Trib. di Milano n. 242
del 21/09/2016

Direttore Responsabile: P. E. Zoncada

Norme editoriali

Pubblicità/Abbonamenti

Redazione GIA
Via Balzaretto, 7
20133 Milano
Tel. 0249636373
Fax 0249633384
E-mail: giornalearteriosclerosi@sisa.it

Condizioni di abbonamento

Canone per l'Italia € 65,00, per l'estero € 75,00.

Periodicità

Trimestrale

Scopi

Il "Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi" (GIA), è un periodico di aggiornamento che nasce come servizio per i medici, operatori sanitari e studenti di medicina e delle professioni sanitarie, con l'intenzione di rendere più facilmente disponibili informazioni e revisioni critiche nel campo dell'arteriosclerosi e delle malattie ad essa correlate. Lo scopo della rivista è quello di assistere il lettore fornendogli:

- revisioni critiche di argomenti di grande rilevanza nel campo dell'arteriosclerosi sia per quanto riguarda gli aspetti di base che gli aspetti clinico-applicativi;
- quesiti relativi agli argomenti trattati per una verifica di auto apprendimento;
- opinioni di esperti qualificati sui nuovi sviluppi delle conoscenze sull'arteriosclerosi;
- lavori originali relativi ad aspetti di ricerca sanitaria nell'ambito dell'arteriosclerosi e delle malattie ad essa correlate.

TIPOLOGIA E STRUTTURA DEGLI ARTICOLI

GIA accetta le seguenti categorie di contributi: lavori originali, rassegne, casi clinici e forum dei lettori. Titolo e, se previsti, parole chiave e sommario dovranno essere sia in italiano che in inglese.

Le tabelle dovranno pervenire in formato editabile (word, excel, txt, ecc...).

Le figure dovranno essere inviate oltre al formato originario anche in formato grafico (pdf, jpg, png, ecc...).

Lavori originali

I lavori originali saranno sottoposti a processo di "peer review". La lunghezza del testo non deve superare le 4.000 parole (esclusa la bibliografia)

ma incluso l'abstract, con un massimo di 4 figure o tabelle. Il frontespizio dovrà contenere:

- 1) Titolo
- 2) Autori e loro affiliazione
- 3) Nome e affiliazione dell'autore corrispondente.
- **Sommario:** dovrà essere strutturato (premesse, obiettivi, metodi, risultati, conclusioni) e non dovrà superare le 250 parole.
- **Parole chiave:** Si raccomanda di indicare 4-6 parole chiave.
- **Testo:** Il corpo del testo dovrà comprendere: a) Introduzione b) Materiali e metodi c) Risultati d) Discussione e) Tavole f) Figure g) Bibliografia.

Bibliografia

Citazione di articoli su riviste: Es. 1: Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Familial hypercholesterolemia and coronary heart disease. Am J Epidemiol 160: 421-429, 2004. Es. 2: Humphries SE, Whittall RA, Hubbert CS et al. Genetic causes of familial hypercholesterolemia in patients in the UK: a relation to plasma lipid levels and coronary heart disease risk. J Med Genet 43: 943-949, 2006

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

Rassegne

Il frontespizio dovrà contenere:

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

La lunghezza del testo non deve superare di norma le 5.000 parole, incluso, sommario, glossario, e l'elenco puntato degli argomenti affrontati (bullet points). Il numero massimo di figure e tabelle è 5. Il numero massimo di voci bibliografiche è 50. Le rassegne devono includere in appendice un questionario di auto-apprendimento relativo all'argomento affrontato nella rassegna.

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

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

Glossario: È uno strumento di comunicazione fortemente raccomandato.

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

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

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

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

Casi clinici

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

Forum su Medicina, Scienza e Società

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

NOTE PER GLI AUTORI

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

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

PRESENTAZIONE DEL NUMERO

■ Documento intersocietario

Consensus intersocietario sull'impiego degli anticorpi anti-PCSK9 nella gestione del controllo lipidico dei pazienti con diabete mellito

Gli inibitori di PCSK9 rappresentano nuove opzioni terapeutiche non-statiniche per la gestione dei disordini lipidici nei pazienti con elevato rischio cardiovascolare, inclusi i pazienti con DM. Oltre al ruolo ben consolidato di PCSK9 nel metabolismo delle LDL, PCSK9 sembra svolgere un ruolo significativo nel metabolismo delle lipoproteine ricche di trigliceridi nei diabetici con scarso controllo glicemico, che tipicamente hanno un *pattern* di anomalie lipidiche correlate all'insulino-resistenza, definito dislipidemia diabetica.

■ Lavoro originale

Studio di costo-efficacia, osservazionale, prospettico, multicentrico no-profit sull'impiego degli inibitori di PCSK9 - Studio CERTI

Ogni innovazione terapeutica è occasione per rifare il punto sullo stato dell'arte delle malattie per le quali le terapie sono state disegnate. Nella Regione Toscana l'introduzione degli inibitori del PCSK9 è stata occasione, sin dalla prima approvazione AIFA nel luglio 2017, per disegnare uno studio di costo efficacia nell'uso di questi nuovi farmaci. Studi come questo rappresentano una fotografia, anche se parziale, della capacità del Sistema Sanitario Regionale della cosiddetta *governance* delle Ipercolesterolemie Familiari, notoriamente misconosciute.

■ Meccanismi di terapia

CETP ed aterosclerosi: una relazione controversa in attesa di soluzioni terapeutiche

La funzione biologica della CETP è quella di mediare lo scambio di colesterolo esterificato e trigliceridi tra le lipoproteine circolanti. In linea teorica, l'effetto netto di questa azione è anti-aterogeno. Tuttavia, le evidenze provenienti da studi sperimentali, clinici, genetici e di intervento non permettono di fare chiarezza sull'ambigua relazione tra CETP ed aterosclerosi. L'analisi critica della letteratura suggerisce che la funzione biologica di CETP possa essere influenzata da una serie di fattori genetici e metabolici, lasciando ipotizzare che l'azione di questo enzima sul metabolismo lipoproteico possa variare a seconda del contesto biologico.

■ Medicina, Scienza e Società

Verso l'estinzione di homo sulla terra?

Riflessioni, in rima e in prosa, di due scienziati su come si sta rapidamente modificando il posto dell'uomo nella natura e quali prospettive per il futuro si possono immaginare.

■ Notizie da Congressi

Longevità in buona salute.

Notizie da American Heart Association (AHA).

DOCUMENTO INTERSOCIETARIO

CONSENSUS INTERSOCIETARIO SULL'IMPIEGO DEGLI ANTICORPI ANTI-PCSK9 NELLA GESTIONE DEL CONTROLLO LIPIDICO DEI PAZIENTI CON DIABETE MELLITO

Consensus on the use of anti-PCSK9 antibodies in the management of lipid control of patients with diabetes mellitus

**MARCO GIORGIO BARONI¹, MARIA MASULLI², GIUSEPPINA RUSSO³,
GIOVANNI SARTORE⁴, ALBERTO ZAMBON⁴, SABINA ZAMBON⁴**

¹Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università Sapienza di Roma;

²Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Università Federico II di Napoli;

³Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Messina;

⁴Dipartimento di Medicina - DIMED, Università di Padova

DIABETE E ATEROSCLEROSI: ASPETTI FISOPATOLOGICI E CLINICO-EPIDEMIOLOGICI

Aspetti fisiopatologici (G. Russo)

L'aterosclerosi è un processo progressivo e complesso nel quale, in risposta agli insulti subiti dall'endotelio vasale, viene attivata una risposta infiammatoria che lentamente progredisce verso la formazione

della placca, la sua eventuale destabilizzazione e quindi rottura (1, 2).

In questo lungo sviluppo, la disfunzione endoteliale rappresenta un evento precoce che altera l'omeostasi vasale, attivando il rilascio di citochine pro-infiammatorie e di numerose molecole che promuovono l'adesione dei monociti e delle cellule T all'endotelio e la loro infiltrazione nello spazio subendoteliale, dove i macrofagi, internalizzando le LDL ossidate (oxLDL), si trasformano in cellule schiumose, portando alla formazione della stria lipidica; la seguente attivazione delle metalloproteinasi, la degradazione del collagene e la proliferazione delle cellule muscolari lisce contribuiscono poi alla formazione della placca (3).

Indirizzo per la corrispondenza

Alberto Zambon
Clinica Medica 1, Dipartimento di Medicina
DIMED, Policlinico Universitario
Via Giustiniani 2, 35128 Padova
E-mail: alberto.zambon@unipd.it

Questo processo è particolarmente aggressivo nei pazienti affetti da diabete mellito (DM), dove diversi “insulti” aterogeni, tra cui l'iperglicemia e l'insulino-resistenza, seppur con meccanismi differenti, sono in grado di alterare la normale funzionalità vascolare, promuovendo così il danno endoteliale (4). La placca dei pazienti diabetici è inoltre particolarmente prona alla rottura, presentando un cappuccio più sottile con un core più ampio ed infarcito di lipidi e di cellule del sistema immunitario. Una volta rotta, inoltre, va difficilmente incontro a riparazione, il che espone i pazienti diabetici a un elevatissimo rischio di morbidità e mortalità per le patologie cardiovascolari (5-9).

L'iperglicemia gioca un ruolo premiente nel promuovere l'aterosclerosi. Grazie all'attivazione della via dei polioli, delle esosamine, della “protein chinasi C” (PKC), alla produzione di prodotti terminali della glicosilazione avanzata (“advanced glycation end-products”, AGE) ed alla loro interazione con specifici recettori (RAGE), l'iperglicemia alimenta la produzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) ed uno stato pro-infiammatorio, attiva vie di segnale come JAK/STAT (janus kinase/signal transducers and activators of transcription) ed extracellular signal-regulated kinase (ERK) ed il nuclear factor- κ B (NF- κ B), modulando così la trascrizione genica di citochine e molecole di adesione (10-17). Inoltre, nel DM, è ben documentata sia *in vitro* che *in vivo* l'alterazione della vasodilatazione endotelio-indotta causata da un deficit del rilascio dell'ossido nitrico (NO) (18-22). Nella patogenesi del danno ateromasico nel DM sembrano intervenire però anche altri meccanismi, quali la NETosi (NET: neutrophil extracellular traps) e le variazioni del microbioma intestinale (23-27); anche la suscettibilità genetica e le modifiche epigenetiche, così

come la presenza di microRNAs, contribuiscono, a diversi livelli, ad influenzare il rischio ateromasico nel DM (28-30). Al di là dell'iperglicemia, un'ampia mole di dati sperimentali e clinici sostiene il ruolo sostanziale delle alterazioni del metabolismo lipidico ed in particolar modo dell'ipercolesterolemia nel determinare il fenotipo aterogeno ed aumentare il rischio di eventi cardiovascolari nel DM. L'ipercolesterolemia gioca infatti un ruolo cruciale nello sviluppo della malattia aterosclerotica, e il rischio di progressione dell'aterosclerosi aumenta progressivamente all'aumentare dei livelli di colesterolo totale (TC), associato alle low-density lipoproteins (LDL-C), seppur spaziando in un ampio *range* di valori (31, 32).

Nel DM, però, le alterazioni del profilo lipidico sono più complesse, coinvolgendo anche le dimensioni e la composizione delle lipoproteine. La presenza di LDL piccole e dense (small dense LDL, sdLDL) è infatti un tratto caratteristico della dislipidemia nel DM e rende conto dell'aumentata aterogenicità delle LDL anche per livelli circolanti nel *range* della normalità (33-35). Le sdLDL sono particolarmente suscettibili all'ossidazione, hanno ridotta affinità per il recettore delle LDL (LDL-R), il che prolunga il loro tempo di residenza in circolo e le loro modificazioni in senso proaterogeno (glicazione, acetilazione, ossidazione). Le sdLDL trasportano inoltre lipidi e proteine coinvolte nell'infiammazione e nella trombosi (33-35), ed è stato dimostrato come, rispetto alle LDL di maggiori dimensioni, le sdLDL abbiano una diversa composizione (36) e come queste siano associate con il rischio cardiovascolare (37-39).

Al di là del colesterolo associato alle LDL, elevati livelli di trigliceridi, l'iperlipemia post-prandiale, bassi livelli di colesterolo HDL (HDL-C), la presenza di

sdLDL, così come alterazioni più fini nella composizione e nel metabolismo dei lipidi, sono i tratti caratteristici della dislipidemia “aterogena” tipicamente associata all’insulino-resistenza, e sono considerati fattori di rischio cardiovascolare indipendenti. Tutte queste alterazioni, inclusa la presenza delle sdLDL, sono da ricondursi all’alterazione del metabolismo delle lipoproteine ricche in TG (triglyceride-rich lipoprotein, TRL), quali chilomicroni (CM), lipoproteine a bassissima densità (VLDL) e di quel che resta del loro catabolismo (*remnants*). Nel DM, l’ipertrigliceridemia è sostenuta da una aumentata produzione epatica di VLDL in presenza di un eccesso di acidi grassi liberi provenienti dal tessuto adiposo, ma soprattutto da un deficit della lipolisi e clearance di queste particelle, secondario ad un deficit relativo o assoluto di azione insulinica, un processo in cui un ruolo sempre maggiore viene riconosciuto agli elevati livelli di apolipoproteina CIII, che inibiscono il normale catabolismo dei trigliceridi (34, 35, 40).

La spiccata aterogenicità delle TRL, dei loro remnants e di specifici markers del loro metabolismo, come i livelli di ApoCIII, è ormai sostenuta da diverse evidenze epidemiologiche e sperimentali (41-45). Il contenuto di colesterolo delle TRL è il principale responsabile dell’azione aterogena di queste particelle, che, al pari delle LDL, penetrano l’intima vasale, potendo così essere captate dai macrofagi *scavenger*, senza che siano necessarie ulteriori modificazioni ossidative, con la formazione di *foam cells* e della placca ateromastica. I prodotti della lipolisi delle TRL, come gli acidi grassi ossidati, sono inoltre in grado di attivare *pathways* pro-infiammatori e pro-trombotici, aumentando l’espressione di citochine infiammatorie, di molecole di adesione e l’attivazione di monociti e macrofagi (46-49). I *remnants*

delle TRL aumentano anche la produzione di ROS, che ulteriormente contribuiscono a peggiorare la permeabilità endoteliale promuovendo la formazione della placca, oltre a stimolare l’aggregazione piastrinica, aumentando l’espressione di PAI-1 e di tissue factor (50-52).

Anche i bassi livelli di HDL-C così come la loro alterata composizione costituiscono un fattore di rischio indipendente per le malattie cardiovascolari, anche nel DM (53, 54). Evidenze recenti suggeriscono inoltre come le HDL divengano disfunzionali in caso di diabete, che le rende meno efficienti nel trasporto inverso del colesterolo (reverse cholesterol transport, RCT) e altera le loro capacità antiossidanti ed antiinfiammatorie (55-57), divenendo così meno ateroprotettive.

Prevalenza della dislipidemia nel diabete in Italia, raggiungimento dei target terapeutici e percentuale di pazienti in trattamento farmacologico (G. Sartore)

I dati mondiali di prevalenza della dislipidemia nel DM disponibili in letteratura appartengono a studi spesso datati e riportano percentuali variabili dal 15% al 50% (58), peraltro non diversi da quelli delle persone senza DM.

L’analisi dei dati italiani, pur con le difficoltà di confronto a causa delle differenze nella metodologia di raccolta o nella tipologia della popolazione studiata negli studi, interviste telefoniche o analisi di database amministrativi (*Tabella 1*), permette di considerare la dimensione del problema ed evidenza delle differenze rispetto agli altri paesi. Già relativamente alla popolazione generale italiana, dall’indagine epidemiologica del Progetto Cuore (59), la prevalenza di ipercolesterolemia, definita come livelli di colesterolo totale ≥ 240 mg/dl o colesterolo LDL ≥ 115 mg/dl, risulta essere rispet-

Tabella I - Prevalenza della dislipidemia, utilizzo dei farmaci e raggiungimento dei target nei soggetti con diabete mellito in Italia.

STUDIO	Prevalenza pazienti con colesterolemia >200 mg/dl	Prevalenza pazienti in terapia ipolipemizzante	Prevalenza pazienti che raggiungono l'obiettivo	Prevalenza pazienti con LDL-C ≥100 mg/dl	Prevalenza pazienti con LDL-C >160 mg/dl non trattati	Prevalenza pazienti con LDL-C ≥160 mg/dl
DAI 2007 (60)	60% ♂ 72% ♀	22% ♂ 26% ♀	–	–	–	–
QUADRI 2007 (61)	42% ♂ 47% ♀		–	–	–	–
MIND-IT 2008 (63)	–	30%	–	81% ♂ 85% ♀	71%	–
PASSI 2012 (62)	45%		–	–	–	–
ARNO 2017 (64)	–	49.5%	–	–	–	–
Annali AMD 2018 (65)	–	–	50% (<100mg/dl)	15% (>130 mg/dl)	–	–
Full Data Circle 2017 (66)	–	62,8%	60% (<100mg/dl)	40%	–	3,6%
TOSCA (67)	–	58 %	–	–	–	–

I dati sono rappresentati come %.

tivamente del 34,3% e del 68% nella popolazione maschile, del 36,6% e del 67,3% nella popolazione femminile.

I dati provenienti dallo Studio DAI (60) riferiti al DM permettono una prima considerazione e cioè che in questa popolazione la prevalenza di ipercolesterolemia (definita come colesterolo totale ≥200 mg/dl e/o trattamento con farmaci ipolipemizzanti) risulta più elevata rispetto alla popolazione generale, sia negli uomini (60%) che nelle donne (72%), con valori leggermente più bassi al Sud rispetto al resto dell'Italia. Se consideriamo anche le alterazioni dei valori dei trigliceridi e/o del colesterolo HDL, questa percentuale sale al 75% per gli uomini e all'87% per le donne. Un dato importante è che la percentuale di pazienti ipercolesterolemici trattati farmacologicamente è risultata

molto bassa in entrambi i sessi (22% negli uomini e 26% nelle donne) ed in tutte le aree geografiche.

In contrasto con questi dati, lo Studio QUADRI (61) (indagine trasversale sulla Qualità dell'Assistenza alle persone Diabetiche nelle Regioni Italiane) rileva come soltanto il 44% degli intervistati abbia dichiarato di avere il colesterolo elevato; la frequenza è apparsa maggiore nelle donne (47%) rispetto agli uomini (42%). Anche il Sistema di sorveglianza PASSI (62) ha messo in evidenza come solo il 45% dei pazienti affetti da DM riconosca di aver avuto una diagnosi di ipercolesterolemia. E' bene ricordare che entrambe le raccolte dati risalgono ormai a dieci anni fa e sono state effettuate tramite interviste ai pazienti. La prevalenza appare, pertanto, certamente sottostimata.

La sottostima è confermata dai risultati del MIND-IT (63), uno studio condotto nel 2004-2006 su un'ampia coorte di pazienti con DM tipo 2, seguiti presso centri specialistici per la cura del DM. Il 71% presentava valori di LDL-C >160 mg/dl, valori cioè francamente indicativi di un quadro di ipercolesterolemia. Da sottolineare come, in questo studio, solo il 30% risultasse in terapia ipolipemizzante, in accordo con i dati provenienti dallo studio DAI (60).

Confortante è l'importante incremento della percentuale di persone con DM in terapia con farmaci ipolipemizzanti (49.5%) negli ultimi anni, come documentato dall'Osservatorio ARNO (64), sistema che integra i dati provenienti da vari database amministrativi (prescrizione farmaci e prestazioni erogati dal SSN, SDO, prescrizione dispositivi per automonitoraggio della glicemia) con i dati anagrafici e socio-demografici, su un campione di 550.000 pazienti con DM.

Questa tendenza viene confermata dagli Annali AMD 2018 (65), che raccolgono ed elaborano gli indicatori di qualità dell'assistenza al DM in Italia relativi all'anno 2016. Viene infatti riportato come la metà dei pazienti presenti valori di colesterolo LDL <100 mg/dl, e solo il 12% dei DM1 e il 22% dei DM2 a valori di LDL <70 mg/dl. Questi ultimi dati, considerate le complicanze cardiovascolari presenti certamente con percentuali più elevate, dovrebbero indurre gli specialisti diabetologi a ricercare un ulteriore miglioramento. L'altra faccia della medaglia mostra inoltre come ancora il 16,8% dei pazienti con DM1 ed il 14,8% con DM2 presenti valori di LDL-C superiori a 130 mg/dl, lontani cioè dai livelli raccomandati. Dall'analisi emerge anche che oltre i due terzi di questi pazienti con DM1 (68,3%) ed oltre la metà (52%) dei pazienti con DM2 non è in trattamento con ipolipemizzanti. Il segnale

positivo è la percentuale dei soggetti a target, aumentata progressivamente dal 2004 ad oggi. Dal 2012 al 2016 in particolare, si è registrato un incremento del 10% di soggetti che ha raggiunto il target di LDL-C <100 mg/dl. Questo miglioramento è associato all'incremento del 10% del numero di pazienti in terapia ipolipemizzante.

Anche le evidenze più recenti del Full Data Circle (FCD) (66), elaborate dai dati provenienti da Centri Diabetologici in grado di garantire completezza e qualità delle informazioni, confermano il progressivo miglioramento dell'approccio terapeutico alla dislipidemia, con il 62,8% di soggetti in trattamento con terapia ipolipemizzante, statine nel 92,7% dei casi. Dal FCD emerge che oltre il 60% dei pazienti presenta valori di LDL-C <100 mg/dl. Una nota meno positiva è rappresentata dal 24,9% di soggetti con LDL-C tra 100 e 130 mg/dl, vicini al valore ideale, ma non abbastanza da soddisfare i migliori standard di cura, e la percentuale del 16,8% con valori di LDL-C >130 mg/dl, con una quota pur minima del 3,6% con livelli superiori a 160 mg/dl.

Anche dati recenti emersi dallo studio TOSCA.IT (67) evidenziano un aumento dell'utilizzo dei farmaci ipolipemizzanti, tuttavia ancora insufficiente rispetto alla necessità di trattamento.

PCSK9 e inibitori di PCSK9:

aspetti generali

(A. Zambon e S. Zambon)

Più della metà del colesterolo del corpo umano deriva dalla biosintesi cellulare specie nel fegato attraverso l'azione dell'enzima idrossimetilglutaril-CoA (HMG-CoA) reduttasi. Questo colesterolo viene trasportato nel sangue soprattutto attraverso le lipoproteine a bassa densità o LDL, che vengono rimosse dal circolo ad opera del recettore specifico per le LDL. Ogni recettore delle LDL lega una parti-

cella LDL e il complesso così composto viene internalizzato nella cellula per essere catabolizzato. All'interno dei lisosomi il complesso LDL/recettore si dissocia, e mentre le LDL vengono degradate nei lisosomi e il colesterolo viene depositato all'interno della cellula oppure usato per le attività cellulari, il recettore delle LDL viene riciclato sulla membrana cellulare per riprendere nuovamente a svolgere le sue funzioni. L'attività del recettore delle LDL è regolata a livello trascrizionale dalla sterol regulatory element binding protein-2 (SREBP-2) e a livello post-trascrizionale dalla proproteina convertasi subtilisina kexina 9 (PCSK9) (54, 68, 69).

Il percorso che ha portato dalla scoperta di PCSK9 ed alla identificazione della stessa come un obiettivo terapeutico validato è durato pochi anni, così come è stato rapido il progresso che ha condotto dalle scoperte genetiche relative alla funzione di PCSK9 allo sviluppo del farmaco diretto verso questa proteina (69).

PCSK9 è una proteasi serinica che svolge un ruolo chiave nel ciclo biologico del recettore delle LDL, che a sua volta rappresenta il principale regolatore dell'uptake cellulare delle LDL e dei livelli di colesterolo nel plasma. Il legame di PCSK9 con uno specifico dominio del recettore delle LDL produce un cambiamento nella conformazione del recettore delle LDL che lo rende più vulnerabile alla degradazione da parte dei lisosomi. Come risultato si ha una ridotta espressione dei recettori delle LDL sulla superficie cellulare, un ridotto uptake delle LDL e di conseguenza un aumento dei livelli plasmatici di colesterolo delle LDL (68). La rilevanza di PCSK9 come importante regolatore dei livelli plasmatici di colesterolo deriva dall'osservazione di varianti genetiche di PCSK9 associate con un guadagno o una perdita della funzione di questa proteina risultan-

te in più alti o più bassi livelli di LDL-C rispettivamente. Nel 2003 vennero descritte delle famiglie con elevati livelli di LDL-C e diagnosi di ipercolesterolemia autosomica dominante senza però riuscire a rilevare mutazioni dei geni codificanti per il recettore delle LDL o per l'apoproteina B, cioè le mutazioni note di ipercolesterolemia familiare, facendo sospettare una possibile terza causa. Nei soggetti portatori di mutazioni con guadagno di funzione del gene di PCSK9 sono stati osservati più alti livelli di LDL-C associati ad un aumentato rischio di malattie cardiovascolari precoci (70). Al contrario, nei soggetti portatori di mutazioni con perdita di funzione del gene di PCSK9, sono stati osservati più bassi livelli di LDL-C associati a una protezione nei confronti delle malattie cardiovascolari (71-73). Queste osservazioni suggerirono che PCSK9 potesse rappresentare un utile "target" farmacologico per il controllo dell'ipercolesterolemia e condussero allo sviluppo di due anticorpi monoclonali, sottotipi IgG completamente umani nella struttura, diretti contro PCSK9 circolante, che legano con un rapporto stechiometrico 1:1. Le molecole approvate e disponibili nel trattamento dell'ipercolesterolemia sono evolocumab e alirocumab. L'iniezione sottocute di 75 o 150 mg di alirocumab oppure di 140 o 420 mg di evolocumab provoca entro poche ore il legame di tutta PCSK9 circolante e nei giorni successivi all'iniezione l'inibizione anche di PCSK9 di nuova sintesi (54, 68, 69).

Bisogna anche ricordare che PCSK9 è espressa non solo nel fegato, ma anche in tessuti extraepatici come il rene, il pancreas e il cervello. Questo suggerisce che la sicurezza dell'inibizione di PCSK9 andrà monitorata anche per quanto riguarda potenziali effetti su tessuti extraepatici, anche se al momento non pare esservi nessun segnale in tal senso.

L'efficacia e la sicurezza sia di evolocumab sia di alirocumab sono state valutate in numerosi studi clinici in diverse tipologie di soggetti ipercolesterolemici e/o ad elevato rischio cardiovascolare (68).

Gli inibitori di PCSK9 sono stati studiati in numerosi studi di fase 2 e 3 della durata di 12-24 settimane somministrati (sia evolocumab che alirocumab) sia in monoterapia (74-76) che in aggiunta o "add-on" a terapia ipolipemizzante con statina a media o elevata efficacia, in associazione o meno con ezetimibe alla dose di 140 mg sc ogni 2 settimane o 420 mg sc ogni 4 settimane per evolocumab e 75 o 150 mg sc per alirocumab, ottenendo una ulteriore significativa riduzione dei livelli di LDL-C del 55-65% (77-80). Questa importante riduzione del LDL-C ha permesso di raggiungere in oltre il 90% dei soggetti trattati l'obiettivo terapeutico di LDL-C <70 mg/dl. Gli inibitori di PCSK9 riducono anche i livelli di trigliceridi del 10-15% e aumentano i livelli di HDL-C del 5-10% (54). Di notevole rilevanza anche il fatto che sia evolocumab che alirocumab abbiano dimostrato la capacità di ridurre significativamente i livelli di lipoproteina(a) del 20-30%. Gli stessi risultati sono stati riprodotti in studi a più lungo termine, della durata da 6 mesi a 2 anni, confermando sia l'efficacia che la sicurezza degli inibitori di PCSK9, cioè la magnitudo e la persistenza della riduzione dei livelli di LDL-C e l'assenza di effetti collaterali di rilievo (81-84).

Entrambi gli inibitori di PCSK9 sono anche stati valutati in studi disegnati per studiarne l'efficacia nei soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare eterozigote, il Rutherford e il Rutherford 2 (85, 86) per quanto riguarda evolocumab e gli Odyssey FH I e FH II (87) per quanto riguarda alirocumab. Anche in questi pazienti, che sottoposti alla massima terapia ipolipemizzante tollerata, cioè con statina ad elevata

efficacia in associazione con ezetimibe, presentavano ancora livelli di LDL-C scarsamente controllati, gli anticorpi monoclonali anti PCSK9 sono stati in grado di ridurre ulteriormente i livelli di LDL-C del 60%, permettendo quindi il raggiungimento degli opportuni obiettivi terapeutici in percentuali considerevoli di soggetti 70-75%, quando invece i livelli ottimali di LDL-C si ottengono nel 10-15% dei pazienti in sola terapia massimale. Evolocumab è stato anche testato in soggetti portatori di ipercolesterolemia familiare omozigote con una riduzione del LDL-C del 30% nei soggetti portatori di mutazioni genetiche a carico del gene del recettore delle LDL con ancora attività residua dello stesso (cosiddetti difettivi), mentre non risultano efficaci nei soggetti portatori di mutazioni senza attività residua del recettore delle LDL (88, 89).

Entrambe le molecole evolocumab e alirocumab sono state studiate anche in soggetti con intolleranza alle statine, condizione che si associa in corso di terapia con diverse statine ad eventi avversi specie a carico del muscolo, e che rende difficile il trattamento e il raggiungimento degli obiettivi terapeutici specie in pazienti a rischio cardiovascolare alto e molto alto. Gli studi GAUSS (90-92) con evolocumab e ODISSEY ALTERNATIVE (93) con alirocumab hanno dimostrato sia l'efficacia sulla riduzione del LDL-C che un'ottima tollerabilità e sicurezza in soggetti con intolleranza alle statine, cioè assenza di effetti collaterali specie sintomi muscolari.

Nello studio FOURIER sono stati trattati con evolocumab alla dose di 140 mg sc ogni 2 settimane o 420 mg sc ogni 4 settimane vs terapia con statina ad elevata intensità 27564 soggetti, di età 40-85 anni, con malattia cardiovascolare stabile e LDL-C >70 mg/dl (*Figura 1*). Nei pazienti randomizzati ad evolocumab è stata osservata

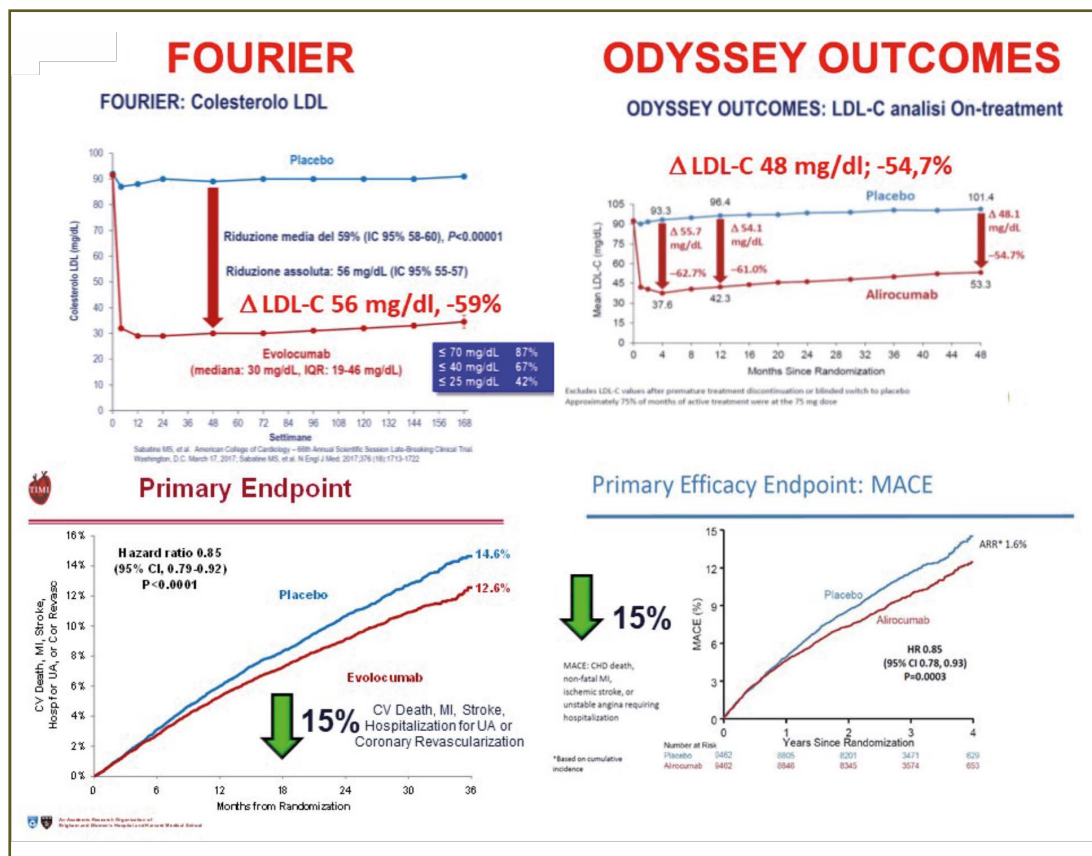


Figura 1

una riduzione dei livelli di LDL-C del 59% con (56 mg/dl) con un mediana di LDL-C di 30 mg/dl rispetto a 90 mg/dl circa del gruppo in placebo (terapia massimale convenzionale) (Figura 1). Dopo un follow-up della durata di 2,2 anni (mediana) è stata osservata una riduzione dell'endpoint primario (morte cardiovascolare, infarto del miocardio, ictus, ospedalizzazione per angina instabile e rivascolarizzazioni coronariche) del 15% (HR 0,85; IC 0,79-0,92) (Figura 1) e dell'endpoint secondario (morte cardiovascolare, infarto del miocardio e ictus) del 20% (HR 0,80; IC 0,73-0,88) (94). Lo studio FOURIER e tutta una serie di studi ancillari hanno permesso di confermare il buon profilo di sicurezza

di questa terapia, ove le segnalazioni di eventi avversi si limitavano per lo più a qualche caso di reazione cutanea nel sito di iniezione (<5%); non sono state osservate differenze in aumenti di CPK o transaminasi, cataratta e ictus emorragico, i sintomi muscolari erano presenti in ugual misura sia in terapia con evolocumab che in terapia ipolipemizzante standard, non sono state osservate differenze nelle funzioni cognitive in terapia con evolocumab vs terapia standard (95). Infine i dati sono risultati rassicuranti per quanto riguarda il raggiungimento di bassi livelli di LDL-C considerando che nello studio FOURIER 1 soggetto su 4 raggiungeva valori < 20 mg/dl (96).

Tabella 2 - Caratteristiche generali dei trials di outcomes cardiovascolare degli inibitori PCSK9.

	ODYSSEY OUTCOMES	FOURIER
Molecola studiata	Alirocumab	Evolocumab
Criteri di inclusione	Sindrome coronarica acuta entro le 4-52 settimane; LDL-C >70 mg/dl (con atorvastatina 40-80 mg oppure rosuvastatina 20-40 mg)	Infarto, ictus o arteriopatia periferica sintomatica + almeno 1 fattore di rischio maggiore oppure almeno 2 fattori di rischio minori; LDL-C >70 mg/dl (o non HDL-C >100 mg/dl) in terapia con atorvastatina 20-80 mg o equivalenti
Numero di pazienti	Oltre 18.000	27.500
Endpoint primario	Morte CV, infarto, ictus, ospedalizzazione per angina instabile	Morte CV, infarto, ictus, rivascolarizzazione coronarica, ospedalizzazione per angina instabile
Terapia background	Atorvastatina o rosuvastatina alla dose massima tollerata	Atorvastatina: 20 mg (almeno), 40 mg (dove localmente approvata), 80 mg (o equivalenti)
Dosaggio	75 mg fino a 150 mg ogni 2 settimane	140 mg ogni 2 settimane oppure 420 mg ogni 4 settimane

Nello studio ODISSEY OUTCOMES sono stati trattati con alirocumab alla dose di 75 o 150 mg sc ogni 2 settimane vs terapia con statine ad elevata intensità, o alla massima dose tollerata, 18924 soggetti, di età 40 anni o oltre, con un episodio di sindrome coronarica acuta in un periodo compreso tra 1 e 12 mesi precedenti e con colesterolo delle LDL >70 mg/dl (*Tabella 2*). Dopo un follow-up della durata media di 2,8 anni, nel gruppo trattato con alirocumab è stata osservata una riduzione del LDL-C del 55% (48 mg/dl) (*Figura 1*) rispetto al gruppo in terapia massimale convenzionale associata ad una diminuzione degli eventi cardiovascolari dell'endpoint primario (morte cardiovascolare, infarto del miocardio, ictus o ospedalizzazione per angina instabile) del 15% (HR 0,85; IC 0,78-0,93) (*Figura 1*), con un beneficio assoluto maggiore tra coloro che partivano al basale da valori di LDL-C > 100 mg/dl (97).

Inoltre in un'analisi post-hoc di questo studio è emerso che alirocumab si associa ad una riduzione del rischio di morte per tutte le cause pari al 29%. La riduzione del tasso di mortalità per tutte le cause, una nuova rilevante scoperta per la terapia

con anti-PCSK9, è stata ritenuta in parte attribuibile all'inclusione di pazienti con sindrome coronarica acuta (SCA) recente (98) piuttosto che malattia ischemica cronica stabile (94).

Inibitori di PCSK9 nella gestione del controllo lipidico dei pazienti con diabete mellito

(M.G. Baroni e M. Masulli)

La malattia cardiovascolare (MCV) è la prima causa di morte nei pazienti con diabete mellito: nei pazienti con DM, rispetto a coloro senza la malattia, il rischio per cardiopatia ischemica è pari a 2,00, a 2,27 per ictus ischemico, a 1,56 per ictus emorragico e a 1,73 per morte cardiovascolare (CV), rispettivamente (99). Le persone con DM sono quindi ad alto rischio cardiovascolare e possono avere necessità di un ulteriore abbassamento dei livelli dei lipidi oltre quanto ottenuto con le statine. Gli inibitori di PCSK9 possono fornire questa riduzione aggiuntiva del LDL-C, diminuendo di conseguenza il rischio residuo del paziente con DM.

Recentemente, infatti, gli inibitori di PCSK9 hanno ricevuto notevole attenzione

come nuove opzioni terapeutiche non-statiniche per la gestione dei disordini lipidici nei pazienti con elevato rischio cardiovascolare, inclusi quindi i pazienti con DM. Oltre al ruolo ben consolidato di PCSK9 nel metabolismo delle LDL, uno studio recente ha suggerito che PCSK9 potrebbe svolgere un ruolo significativo nel metabolismo delle lipoproteine ricche di trigliceridi anche attraverso l'interazione con il recettore delle LDL (100). Quest'osservazione ha importanti implicazioni per le persone con DM2, e per quelle con DM1 con scarso controllo glicemico, che tipicamente hanno un pattern di anomalie lipidiche correlate all'insulino-resistenza, caratterizzato da una ridotta clearance epatica di lipoproteine ricche di trigliceridi, aumento della produzione epatica di lipoproteine a bassissima densità (VLDL), e aumento della produzione intestinale di chilomicroni (101). Queste alterazioni lipidiche, definite dislipidemia diabetica (o mista), sono quindi rappresentate da elevati livelli di colesterolo non-HDL, trigliceridi e sdLDL e bassi livelli di HDL-C (101, 102). Le lipoproteine ricche di trigliceridi, che includono quindi i chilomicroni, le VLDL e i loro remnants, hanno un aumentato potenziale aterogenico, ed è stato dimostrato il loro ruolo effettivo e indipendente nel rischio cardiovascolare. Mentre il recettore delle LDL (LDLR) lega le LDL attraverso l'apoproteina B100 (apoB100), i remnants delle lipoproteine ricche di trigliceridi si legano al LDLR mediante l'interazione con l'apoproteina E (apoE) (103). Uno studio recente ha dimostrato che in individui portatori di una mutazione loss-of-function nel gene PCSK9 si osservano bassi livelli di trigliceridi a digiuno e post-prandiali, di apoB48 (un'apoproteina presente nei remnants) e di apoB totale (un marcatore di apoB100), indicando un ruolo di PCSK9 anche nella riduzione dell'uptake di lipoproteine con-

tenenti apoE, oltre alle LDL (100). Nello studio FOURIER (94), il braccio con evolocumab ha anche mostrato una riduzione di non-HDL-C del 51%, di lipoproteina(a) del 27%, e dei trigliceridi del 16%, insieme ad un aumento del HDL-C del 8%.

Recenti studi di cinetica su soggetti sani hanno dimostrato che gli inibitori PCSK9 riducono il tasso di produzione di lipoproteine LDL e a densità intermedia (IDL), e aumentano i tassi di clearance di VLDL, IDL e LDL, che possono riflettere un'espressione molto più elevata di LDL-R epatico rispetto al trattamento con statine (104, 105). E' quindi evidente come gli inibitori di PCSK9 possano essere particolarmente potenti nel trattamento della dislipidemia in pazienti con DM.

Effetti degli inibitori di PCSK9 sui lipidi plasmatici nel diabete

Come precedentemente detto, i trials clinici con alirocumab e evolocumab hanno chiaramente mostrato la loro efficacia nel ridurre fino al 60% i livelli di LDL-C in soggetti con ipercolesterolemia familiare ed in soggetti ad alto rischio cardiovascolare (85-87, 94).

Le sottoanalisi nelle popolazioni con DM negli studi di fase 3 con alirocumab e evolocumab sono riassunte in *Tabella 3* e hanno mostrato una riduzione significativa del LDL-C, che, in generale, è risultata simile alla riduzione osservata in soggetti senza DM (83, 84, 87, 106-111).

Anche nelle sottoanalisi pre-specified dello studio FOURIER (*Tabella 2*), che ha analizzato 11.031 pazienti con DM vs. 16.533 pazienti senza DM, i risultati erano consistenti con una riduzione del LDL-C: in confronto con il placebo, i livelli di LDL-C erano ridotti del 57% nei soggetti con DM-e del 60% in soggetti senza D (112).

Altre sottoanalisi negli studi ODYSSEY e PROFICIO hanno confermato che le ri-

duzioni in LDL-C erano simili in soggetti con e senza prediabete (113), soggetti con IFG (Impaired Fasting Glucose) e con sindrome metabolica (114).

Ulteriori informazioni sull'impatto di alirocumab in pazienti con DM è derivata dagli studi ODYSSEY DM-INSULIN (108, 115) e DM-DYSLIPIDEMIA (98, 116), che

Tabella 3

	Popolazione	Confronto	Follow-up (settim.)	n (ALI/EVO vs controllo)	% riduzione LDL-C vs baseline	Δ riduzione LDL-C vs controllo	P per interazione
<i>Alirocumab – analisi per sottogruppi</i>							
ODYSSEY LONG TERM	Ipercolesterolemia in terapia con statine	Ali 150 vs PBO	24	DM 545 vs 273 Non-DM 985 vs 507	-60.0 (1.3) -61.6 (0.9)	-59.0 -63.4	0.09
ODYSSEY COMBO I	Ipercolesterolemia in terapia con statine	Ali 75/150 vs PBO	24	DM 94 vs 41 Non-DM 111 vs 65	-42.2 (-47.8 a -36.6) -53.2 (-58.4 a -48.1)	-39.6 -51.2	0.08
ODYSSEY COMBO II	Ipercolesterolemia in terapia con statine	Ali 75/150 vs EZE	24	DM 148 vs 77 Non-DM 331 vs 164	-49.1 -51.2	-30.7 -29.5	0.80
ALTERNATIVE	Ipercolesterolemia senza statina	Ali 75/150 vs EZE	24	DM+ASCVD 23 vs 11	-54.9 (6.0)	-58.9 (-80.9 a -36.8)	–
Pooled analysis di HIGH FH & LONG TERM		Ali 150 vs PBO	24-108	DM 554 vs 279 Non-DM 1047 vs 536 DM+ASCVD 340 vs 172	-59.7 (1.2) -60.7 (0.9) -61.5 (1.6)	-58.3 (2.1) -62.3 (1.5) -60.5 (-65.9 a -55.2)	0.13 –
Pooled analysis di FH I & FH II		Ali 75/150 vs PBO	24-108	DM 66 Non-DM 666	-51.4 (4.5) -48.5 (1.3)	-53.8 -56.1	0.80
Pooled analysis di FH I & FH II & COMBO I		Ali 75/150 vs PBO	24-108	DM 131 vs 70 Non-DM 562 vs 280 Pre-DM 396 NGT 422 DM+ASCVD 92 vs 45	-43.4 (2.6) -49.8 (1.2) -52.4 (1.7) -46.1 (1.6) -46.4 (3.0)	-43.7 (4.1) -54.8 (2.0) -55.7 -55.0 -52.7 (-63.5 a -41.9)	0.02 0.84 –
Pooled analysis di COMBO II & OPTIONS I & OPTIONS II		Ali 75/150 vs EZE	24-108	Pre-DM 432 NGT 244 DM+ASCVD 173 vs 110	-51.7 (2.2) -45.8 (2.8) -48.7 (2.6)	-35.6 -24.0 -28.1 (-36.6 a -19.6)	0.04 –
Pooled analysis di ALTERNATIVE & MONO		Ali 75/150 vs EZE	24-108	Pre-DM 135 NGT 147	-44.0 (2.9) -46.3 (2.7)	-28.0 -32.6	0.41

>>>

	Popolazione	Confronto	Follow-up (settim.)	n (ALI/EVO vs controllo)	% riduzione LDL-C vs baseline	Δ riduzione LDL-C vs controllo	P per interazione
<i>Alirocumab – studi condotti su persone con diabete mellito</i>							
DM-INSULIN	T1DM e T2DM in trattamento insulinico ed ipercolesterolemia in terapia con statine	PBO	24	T2DM 287 vs 142 T1DM 49 vs 25	-48.2 (1.6) -51.8 (3.7)	-49.0 -47.8	–
DM-DYSLIPIDEMIA	T2DM + dislipidemia in terapia con statine	Usual care (EZE, fenofibrato, omega 3, niacina)	24	273 vs 136	-43.3	-43.0	–
<i>Evolocumab – analisi per sottogruppi</i>							
DESCARTES	Ipercolesterolemia in terapia con statine	EVO 420 vs PBO	52	T2D 77 VS 43 IFG 194 VS 99 MetS 182 VS 107 NGT 274 VS 119	–	-50.8 (6.0) -59.4 (3.4) -55.0 (3.5) -58.1 (3.5)	–
FOURIER (prespecified subanalysis)	ASCVD e LDL-C oltre 70 mg/dl	EVO 140/420 vs PBO	48	DM 5515 VS 5516 Non-DM 8269 vs 8254	–	-57.0 (-58 a -56) -60.0 (-61 a -60)	–
Pooled analysis di LAPLACE-2 & RUTHERFORD		EVO 140/420 vs PBO	12	T2DM 210 vs 94 Non-DM 1127 vs 573	–	-60 (-69 a -51) -66 (-70 a -62)	0.27
Pooled analysis di LAPLACE-2 (coorte con atorva) & GAUSS-2		EVO 140/420 vs EZE	12	T2DM 114 vs 73 Non-DM 530 vs 250	–	-39 (-47 a -32) -66 (-45 a -36)	0.79

erano studi di fase 3b e 4 dedicati al diabete. Nello studio DM-INSULIN, in pazienti ad elevato rischio cardiovascolare con DM1 e DM2 in trattamento insulinico, la riduzione del LDL-C è stata del 48% nel DM1 e del 51% nel DM2 rispetto al placebo; nello studio DM-DYSLIPIDEMIA, in pazienti con DM2 e dislipidemia mista, in trattamento con statine, gli inibitori di PCSK9 hanno determinato una riduzione del 43% dei livelli di LDL-C rispetto al trattamento usuale (ezetimibe, fenofibrato,

acidi grassi poliinsaturi omega-3, o acido nicotinico).

Effetti degli inibitori di PCSK9 sul rischio cardiovascolare nel diabete

Per quanto riguarda la protezione cardiovascolare, l'end-point primario di efficacia di evolocumab dello studio FOURIER - morte cardiovascolare, infarto miocardico, ictus, ricovero ospedaliero per angina instabile o rivascolarizzazione coronarica - è stato ridotto in maniera simile in pazienti con e senza

DM dopo un follow-up mediano di 2,2 anni, con hazard ratio di 0,83 (IC 95% 0,75-0,93; $p=0,0008$) in pazienti con DM e 0,87 (0,79-0,96; $p=0,0052$) in quelli senza DM (112). Nella sottoanalisi pre-specificata del DM di FOURIER erano compresi 11.031 pazienti con DM versus 16.533 pazienti senza, di cui 10.344 con prediabete e 6.189 normoglicemia. Inoltre, in ragione del loro elevato rischio cardiovascolare al basale, i pazienti con DM tendevano ad avere una maggiore riduzione del rischio assoluto con evolocumab rispetto a quelli senza DM (2,7% [95% CI 0,7- 4,8] contro 1,6% [95 % CI 0,1- 3,2] di riduzione del end-point primario su 3 anni) (112).

Lo studio ODYSSEY OUTCOMES ha confermato i benefici della terapia con alirocumab nel ridurre il rischio cardiovascolare (97). La riduzione del rischio di MACE (Major Cardiovascular Events) era del 15% (HR=0,85; IC al 95% 0,78-0,93; $p=0,0003$), simile a quanto osservato nel FOURIER. Circa il 30% dei pazienti nello studio era affetto da diabete. Un'analisi pre-specificata nei pazienti diabetici in ODYSSEY OUTCOMES ha dimostrato che l'effetto di protezione cardiovascolare (riduzione del rischio assoluto MACE) di alirocumab è "amplificato" nei pazienti con DM con una maggiore riduzione assoluta dell'incidenza dell'endpoint primario nei pazienti con diabete (2,3%, IC al 95% 0,4 a 4,2) rispetto a quelli con prediabete (1,2%, 0,0 a 2,4) o normoglicemia (1,2%, -0,3 a 2,7; p interazione di riduzione del rischio assoluto = 0,0019), con un NNT = 43 decisamente favorevole. Anche la riduzione del rischio relativo cardiovascolare (CVD) del 16% (0,84, IC al 95% 0,74-0,97) è della stessa grandezza di quanto osservato nella popolazione generale (-15%) e nei diabetici nello studio FOURIER (-17%). In conclusione, le sotto-analisi nelle popolazioni diabetiche di ODYSSEY OUTCOMES e

quella di FOURIER appaiono sostanzialmente identiche, confermando l'efficacia degli anticorpi monoclonali anti-PCSK9 nella riduzione del rischio cardiovascolare nel DM.

Sicurezza degli inibitori di PCSK9 nei pazienti con diabete mellito, e impatto sul rischio di sviluppare diabete

Nell'analisi di sicurezza di tutti gli studi di fase 3 condotti sulla popolazione generale di pazienti, l'incidenza di eventi avversi secondari al trattamento, degli eventi avversi gravi, delle interruzioni a causa di eventi avversi e dei decessi è stata simile con gli inibitori PCSK9 rispetto al placebo. Tra i pazienti trattati con alirocumab o evolocumab, le nasofaringiti, le reazioni al sito di iniezione e le infezioni del tratto respiratorio superiore sono stati gli eventi avversi più comuni (112, 117).

In coerenza con i dati nella popolazione generale di pazienti sopra menzionate, le sottoanalisi nei pazienti con DM hanno dimostrato che la sicurezza generale di alirocumab e evolocumab era paragonabile a quella dei soggetti di controllo (117, 118).

Un elemento di possibile allarme deriva dall'aumentato rischio di sviluppare diabete in pazienti in trattamento con farmaci ipolipemizzanti. Dagli studi con statine è chiaramente emerso un aumento significativo del 11-12% del rischio di sviluppare DM (OR 1,12, 95% CI 1,06-1,18 in tutti i trials; 1,11, 95% CI 1,03-1,20 in trials controllati con placebo o standard care, e 1,12, 95% CI 1,04-1,22 in trials di confronto tra dose intensiva e moderata) (119). Il meccanismo ipotizzato identifica nell'accumulo di colesterolo via LDL-R nelle beta-cellule l'elemento determinante. Qualsiasi intervento farmacologico o genetico che aumenti l'espressione dell'LDL-R nelle beta-cellule si associa quindi con un accumulo di colesterolo, con alterazioni nella

secrezione insulinica e nel controllo glicemico. In linea con questi dati, recenti evidenze cliniche e sperimentali indicano che l'inattivazione genetica di PCSK9 è associata a un aumentato rischio di sviluppare DM2. Tre studi di randomizzazione mendeliana hanno tutti dimostrato che i pazienti portatori di varianti genetiche in PCSK9 con perdita di funzione hanno livelli di LDL-C inferiori, ma più elevati di glicemia, con un rischio maggiore di sviluppare DM (31, 120, 121). Sulla stessa linea, topi knock-out di PCSK9 presentano ridotta secrezione di insulina e intolleranza al glucosio (122). Questi effetti potrebbero essere spiegati dal fatto che la perdita sistemica di PCSK9 promuovendo l'up-regolazione di LDLR nelle beta-cellule, determina un conseguente accumulo di colesterolo, disfunzione cellulare e ridotta secrezione insulinica.

In contrasto con queste ipotesi, invece, i dati dagli studi clinici non sembrano suggerire un'associazione tra inibitori di PCSK9 e alterazioni del controllo glicemico, anche se bisogna tener presente che il follow-up di questi studi non è molto lungo. Una recente meta-analisi di 35 studi randomizzati (45.539 pazienti seguiti per una media di 85,5 settimane) non ha individuato nessun effetto degli inibitori di PCSK9 su DM di nuova insorgenza o peggioramento del DM pre-esistente (123). Inoltre, in un'analisi di 10 studi ODISSEY (n = 4.974, 24-104 settimane di durata), alirocumab non si associava a nessun effetto sull'incidenza di DM (124). Anche i dati dei recenti studi FOURIER (112) e ODISSEY OUTCOME (98) non hanno mostrato differenze nell'incidenza di DM neo-diagnosticato tra pazienti trattati con inibitori di PCSK9 o con placebo.

Una possibile spiegazione del perché non sia presente un aumentato rischio di nuovo DM - nei trials d'intervento con

inibitori di PCSK9 può venire da un recentissimo studio (125), in cui gli autori hanno dimostrato che nei topi Knock-out per PCSK9 erano presenti, come atteso, alterazioni morfologiche e funzionali delle beta-cellule, con aumento del LDLR, accumulo di colesterolo e alterata secrezioni insulinica. Tuttavia, la delezione specifica della sola PCSK9 di derivazione epatica non si associava ad alterazioni glicemiche, suggerendo che gli inibitori di PCSK9, inibendo principalmente PCSK9 di derivazione epatica, hanno un impatto limitato sull'espressione di LDLR nelle beta-cellule, senza quindi alterare la funzione beta-cellulare e il rischio di DM.

Conclusioni

Le evidenze cliniche dimostrano che gli inibitori PCSK9, in aggiunta a terapia con statine, riducono in maniera significativa l'LDL-C in soggetti con iperlipidemia e diabete mellito, senza perdita del controllo glicemico o aumento del rischio di sviluppare diabete in soggetti senza diabete pre-esistente, e sono in grado di prevenire o ridurre significativamente ulteriori eventi cardiovascolari.

Efficacia e limiti delle attuali terapie ipolipemizzanti, e indicazioni pratiche all'uso degli inibitori di PCSK9 nel diabete

Expert Opinion

Da quanto discusso in precedenza emergono chiaramente alcuni aspetti rilevanti del trattamento dell'ipercolesterolemia nel DM:

- 1) solo il 60% dei pazienti è trattato, ma, ancora più importante,
- 2) solo il 60% dei pazienti trattati è a target, lasciando quindi una grossa fetta di pazienti con un trattamento insod-

disfacente. Le cause sono molteplici, e vanno dall'inerzia terapeutica, all'intolleranza alle statine, all'insufficiente effetto ipocolesterolemizzante anche ai dosaggi massimi di statine,

- 3) infine, va considerato il rischio residuo CVD che rimane anche al massimo livello di trattamento. Molti studi hanno infatti dimostrato che, sia con statine a media che ad alta potenza, sia con l'aggiunta di ezetimibe, una quota rilevante di pazienti avevano eventi CVD, ipotizzando quindi la necessità di una terapia aggiuntiva (126).

In quest'ottica si inserisce l'indicazione all'utilizzo terapeutico degli inibitori di PCSK9, come dimostrato chiaramente dalla revisione degli studi precedenti. L'ulteriore abbassamento dei livelli di LDL-C (fino a 25 mg/dl) permette infatti di ridurre il rischio relativo di eventi CVD nel paziente diabetico del 15% (con una riduzione rischio assoluto dell'1-2%).

Modalità di prescrizione

Dal marzo 2017 è autorizzata la prescrizione con rimborsabilità dal SSN di inibitori di PCSK9. In particolare, per gli inibitori di PCSK9 sono autorizzate e rimborsate dal SSN le seguenti indicazioni:

- In prevenzione primaria, in pazienti di età 18-80 aa con ipercolesterolemia familiare eterozigote e livelli di LDL-C ≥ 130 mg/dl nonostante terapia da almeno 6 mesi con statina ad alta potenza (atorvastatina 40 o 80 mg e rosuvastatina 20 o 40 mg al giorno) alla massima dose tollerata + ezetimibe oppure con dimostrata intolleranza alle statine.
- In prevenzione secondaria in pazienti di età 18-80 aa con ipercolesterolemia familiare eterozigote o ipercolesterolemia non familiare o dislipidemia mista e livelli di LDL-C ≥ 100 mg/dl nonostante terapia da almeno 6 mesi con statina

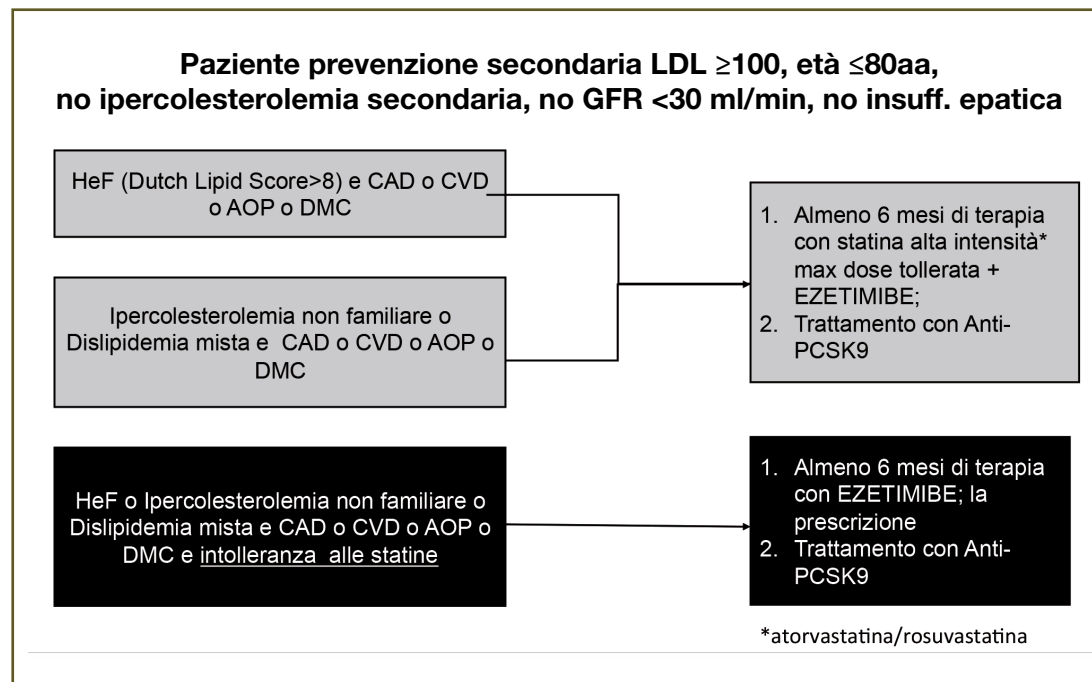


Figura 2

ad alta potenza alla massima dose tollerata + ezetimibe oppure con dimostrata intolleranza alle statine.

La seconda autorizzazione riguarda quindi in maniera specifica i pazienti con diabete in prevenzione secondaria. Nel caso quindi di un paziente diabetico con colesterolo LDL >100 mg/dl, in terapia con statine + ezetimibe da almeno 6 mesi (o intollerante alle statine), è previsto l'impiego di inibitori di PCSK9 per il controllo della dislipidemia e del rischio cardiovascolare (*Figura 2*).

In particolare (*Figura 3*), gli inibitori di PCSK9 sono utilizzabili in prevenzione secondaria nei seguenti pazienti con ipercolesterolemia non familiare o dislipidemia mista:

- *Malattia coronarica* (cardiopatia ischemica, IMA, bypass aortocoronarico, angioplastica, procedura di rivascolarizzazione coronarica) (*CAD*).
- *Malattia cerebrovascolare* (pregresso

ictus o TIA, rivascolarizzazione carotidea) (*CVD*).

- *Arteriopatia periferica* (*AOP*).

Diabete mellito (*DM*):

- Complicato da danno d'organo
- Associato ad altri fattori di rischio (ipertensione arteriosa, tabagismo)

si intende diabete mellito con o danno d'organo oppure associato ad altri fattori, vedi *figura 3* sotto.

Suggerimenti per l'uso di PCSK9 nel diabete mellito

Dal punto di vista pratico si possono immaginare 4 condizioni di utilizzo di PCSK9i nel paziente diabetico.

1 caso: Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, già in trattamento massimale con statine + ezetimibe, ma con LDL-C ≥ 100 mg/dl, eleggibile ad alirocumab o evolocumab. In questo caso è sufficiente raccogliere il

PCSK9-i nei pazienti in prevenzione secondaria: HeF, ipercolesterolemia non familiare o dislipidemia mista

- **Malattia coronarica** (cardiopatia ischemica, IMA, bypass aortocoronarico, angioplastica, procedura di rivascolarizzazione **coronarica**) (**CAD**)
- **Malattia cerebrovascolare** (pregresso ictus o TIA, rivascolarizzazione carotidea) (**CVD**)
- **Arteriopatia periferica** (**AOP**)
- **Diabete mellito** (**DM**):
 - Complicato da danno d'organo
 - Associato ad altri fattori di rischio (ipertensione arteriosa, tabagismo)

Figura 3

dato anamnestico di 2 determinazioni di LDL-C, risalenti anche ad anni precedenti. L'ultima determinazione deve distare dalla data di compilazione della scheda di registro non più di 30 giorni. Il paziente è

immediatamente trattabile con inibitori di PCSK9 (*Figura 4*).

2 caso: Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, in trattamento con statina ad alta intensità

1. Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, già in trattamento «ottimale» ma con Ldl-c ≥ 100 mg/dl, eleggibile a alirocumab o evolocumab,

- E' sufficiente raccogliere 2 determinazioni che risalgano anche ad anni precedenti.
- L'ultima determinazione deve distare dalla data di compilazione della scheda di registro non più di 30gg.
- Paziente pronto ad iniziare il trattamento con PCSK9i

Figura 4

2. Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, in trattamento con statina ad alta intensità alla massima dose tollerata ma senza ezetimibe e con LDL-c ≥ 100 mg/dl, eleggibile a alirocumab o evolocumab:

- Aggiungere ezetimibe e poi fare nuovo profilo lipidico (1°). Se LDL-c ancora ≥ 100



- Fare 2° profilo lipidico....



- Fare 3° profilo lipidico e P.T. entro 30gg.



alirocumab o evolocumab

Figura 5

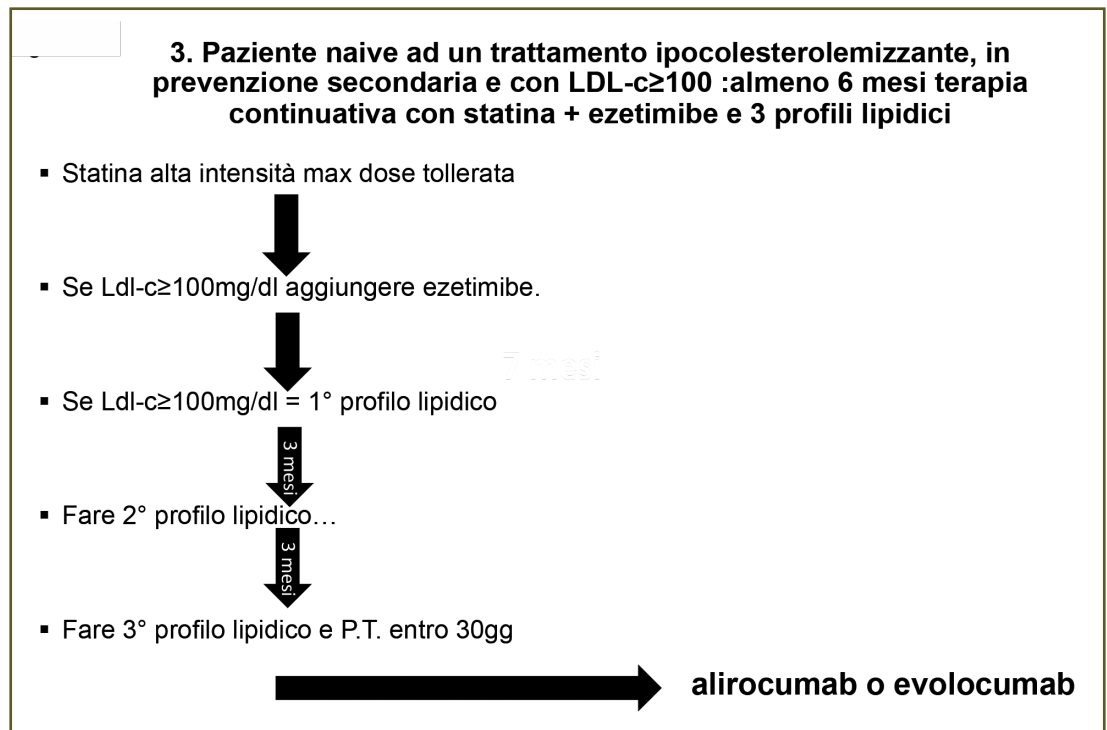


Figura 6

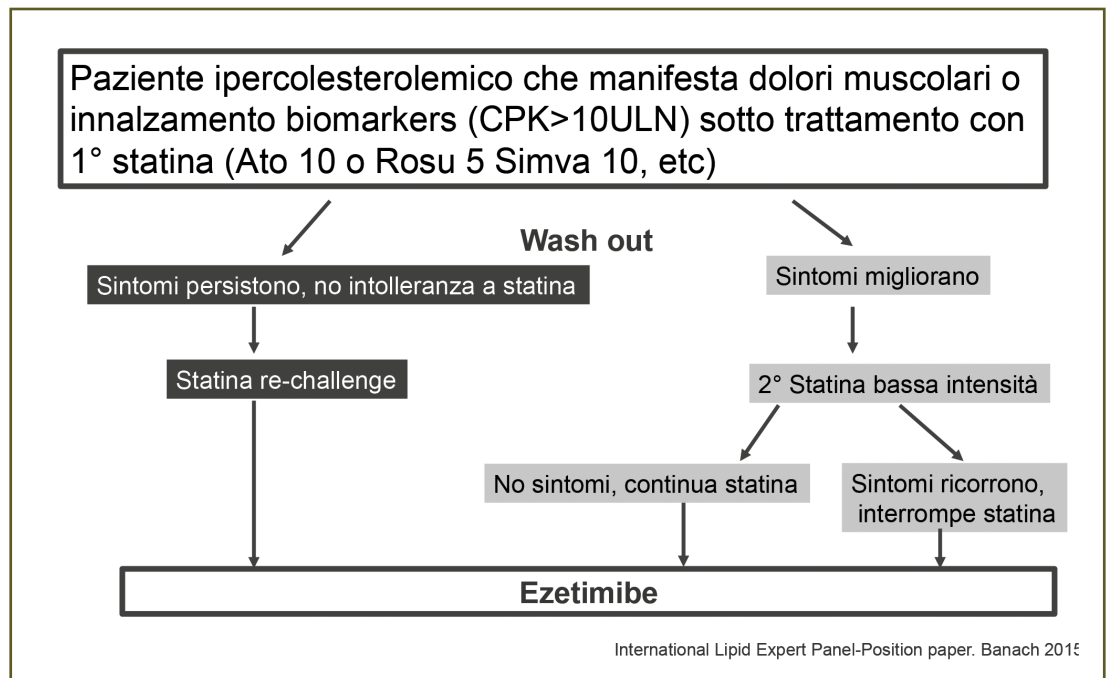


Figura 7

alla massima dose tollerata ma senza ezetimibe e con LDL-C ≥ 100 mg/dl, è eleggibile a alirocumab o evolocumab se viene trattato per almeno 6 mesi con ezetimibe e tre determinazioni di LDL-C (basale, dopo 3 mesi e al sesto mese) risultino > 100 mg/dl (*Figura 5*).

3 caso: Paziente *naïve* ad un trattamento ipocolesterolemizzante, in prevenzione secondaria e con LDL-C ≥ 100 mg/dl. Il paziente deve essere trattato per almeno 6 mesi con terapia continuativa con statina + ezetimibe e avere 3 profili lipidici nel periodo > 100 mg/dl. Se ancora non a target, potrà essere trattato con alirocumab o evolocumab (*Figura 6*).

4 caso: Paziente con storia di ipercolesterolemia, in prevenzione secondaria, intollerante alle statine (intolleranza accertata secondo linee guida, *Figura 7*). Il paziente deve essere in trattamento per almeno 6 mesi continuativi con ezetimibe. Vanno richiesti 3 profili lipidici con intervallo > 3 mesi, di cui l'ultimo non antecedente ai 30 giorni-dalla eventuale prescrizione di PCSK9i.

Bibliografia

- Raggi P, Genest J, Giles JT, Rayner KJ, Dwivedi G, Beanlands RS, et al. Role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis and therapeutic interventions. *Atherosclerosis*. 2018; 276: 98-108.
- Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *The New England journal of medicine*. 1999; 340: 115-126.
- Forbes JM, Fotheringham AK. Vascular complications in diabetes: old messages, new thoughts. *Diabetologia*. 2017; 60: 2129-2138.
- DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009. *Diabetologia*. 2010; 53: 1270-1287.
- Burke AP, Kolodgie FD, Zieske A, Fowler DR, Weber DK, Varghese PJ, et al. Morphologic findings of coronary atherosclerotic plaques in diabetics: a postmortem study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2004; 24: 1266-1271.
- Fadini GP, Boscaro E, de Kreutzenberg S, Agostini C, Seeger F, Dimmeler S, et al. Time course and mechanisms of circulating progenitor cell reduction in the natural history of type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2010; 33: 1097-1102.
- Lindsey JB, House JA, Kennedy KF, Marso SP. Diabetes duration is associated with increased thin-cap fibroatheroma detected by intravascular ultrasound with virtual histology. *Circulation. Cardiovascular interventions*. 2009; 2: 543-548.
- Rigato M, Avogaro A, Fadini GP. Levels of Circulating Progenitor Cells, Cardiovascular Outcomes and Death: A Meta-Analysis of Prospective Observational Studies. *Circulation research*. 2016; 118: 1930-1939.
- Virmani R, Burke AP, Kolodgie F. Morphological characteristics of coronary atherosclerosis in diabetes mellitus. *The Canadian journal of cardiology*. 2006; 22 (Suppl. B): 81B-84B.
- Brownlee M. Negative consequences of glycation. *Metabolism: clinical and experimental*. 2000; 49 (2 Suppl. 1): 9-13.
- Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001; 414: 813-820.
- Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circulation research*. 2018; 122: 877-902.
- Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, et al. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circulation research*. 2001; 88: E14-E22.
- Morigi M, Angioletti S, Imberti B, Donadelli R, Micheletti G, Figliuzzi M, et al. Leukocyte-endothelial interaction is augmented by high glucose concentrations and hyperglycemia in a NF- κ B-dependent fashion. *The Journal of clinical investigation*. 1998; 101: 1905-1915.
- Recio C, Oguiza A, Lazaro I, Mallavia B, Egidio J, Gomez-Guerrero C. Suppressor of cytokine signaling 1-derived peptide inhibits Janus kinase/signal transducers and activators of transcription pathway and improves inflammation and atherosclerosis in diabetic mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2014; 34: 1953-1960.
- Shah MS, Brownlee M. Molecular and Cellular Mechanisms of Cardiovascular Disorders in Diabetes. *Circulation research*. 2016; 118: 1808-1829.
- Yan SF, Ramasamy R, Naka Y, Schmidt AM. Glycation, inflammation, and RAGE: a scaffold

- for the macrovascular complications of diabetes and beyond. *Circulation research*. 2003; 93: 1159-1169.
18. Calver A, Collier J, Vallance P. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *The Journal of clinical investigation*. 1992; 90: 2548-2554.
 19. Federici M, Menghini R, Mauriello A, Hribal ML, Ferrelli F, Lauro D, et al. Insulin-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase is impaired by O-linked glycosylation modification of signaling proteins in human coronary endothelial cells. *Circulation*. 2002; 106: 466-472.
 20. Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 1993; 88: 2510-2516.
 21. Loader J, Montero D, Lorenzen C, Watts R, Méziat C, Reboul C, et al. Acute Hyperglycemia Impairs Vascular Function in Healthy and Cardiometabolic Diseased Subjects: Systematic Review and Meta-Analysis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2015; 35: 2060-2072.
 22. Mäkimattila S, Liu ML, Vakkilainen J, Schlenzka A, Lahdenperä S, Syväne M, et al. Impaired endothelium-dependent vasodilation in type 2 diabetes. Relation to LDL size, oxidized LDL, and antioxidants. *Diabetes care*. 1999; 22: 973-981.
 23. Brandsma E, Houben T, Fu J, Shiri-Sverdlov R, Hofker MH. The immunity-diet-microbiota axis in the development of metabolic syndrome. *Current opinion in lipidology*. 2015; 26: 73-81.
 24. Fadini GP, Menegazzo L, Scattolini V, Gintoli M, Albiero M, Avogaro A. A perspective on NETosis in diabetes and cardiometabolic disorders. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD*. 2016; 26: 1-8.
 25. Griffin JL, Wang X, Stanley E. Does our gut microbiome predict cardiovascular risk? A review of the evidence from metabolomics. *Circulation. Cardiovascular genetics*. 2015; 8: 187-191.
 26. Joshi MB, Lad A, Bharath Prasad AS, Balakrishnan A, Ramachandra L, Satyamoorthy K. High glucose modulates IL-6 mediated immune homeostasis through impeding neutrophil extracellular trap formation. *FEBS letters*. 2013; 587: 2241-2246.
 27. Tilg H, Moschen AR. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut*. 2014; 63: 1513-1521.
 28. Beltrami C, Angelini TG, Emanuelli C. Noncoding RNAs in diabetes vascular complications. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2015; 89: 42-50.
 29. Keating ST, Plutzky J, El-Osta A. Epigenetic Changes in Diabetes and Cardiovascular Risk. *Circulation research*. 2016; 118: 1706-1722.
 30. Ma RCW. Genetics of cardiovascular and renal complications in diabetes. *Journal of diabetes investigation*. 2016; 7: 139-154.
 31. Ference BA, Robinson JG, Brook RD, Catapano AL, Chapman MJ, Neff DR, et al. Variation in PCSK9 and HMGCR and Risk of Cardiovascular Disease and Diabetes. *The New England journal of medicine*. 2016; 375: 2144-2153.
 32. Lacy M, Atzler D, Liu R, de Winther M, Weber C, Lutgens E. Interactions between dyslipidemia and the immune system and their relevance as putative therapeutic targets in atherosclerosis. *Pharmacology & therapeutics*. 2019; 193: 50-62.
 33. Gerber PA, Nikolic D, Rizzo M. Small, dense LDL: an update. *Curr Opin Cardiol*. 2017; 32: 454-459.
 34. Taskinen MR, Borén J. New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2015; 239: 483-495.
 35. Xiao C, Dash S, Morgantini C, Hegele RA, Lewis GF. Pharmacological Targeting of the Atherogenic Dyslipidemia Complex: The Next Frontier in CVD Prevention Beyond Lowering LDL Cholesterol. *Diabetes*. 2016; 65: 1767-1778.
 36. Diffenderfer MR, Schaefer EJ. The composition and metabolism of large and small LDL. *Current opinion in lipidology*. 2014; 25: 221-226.
 37. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 1988; 260: 1917-1921.
 38. Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *JAMA*. 1996; 276: 875-881.
 39. Vakkilainen J, Steiner G, Ansquer J-C, Aubin F, Rattier S, Foucher C, et al. Relationships between low-density lipoprotein particle size, plasma lipoproteins, and progression of coronary artery disease: the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS). *Circulation*. 2003; 107: 1733-1737.
 40. Vergès B. Abnormal hepatic apolipoprotein B metabolism in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2010; 211: 353-360.
 41. Do R, Willer CJ, Schmidt EM, Sengupta S, Gao C, Peloso GM, et al. Common variants associ-

- ated with plasma triglycerides and risk for coronary artery disease. *Nature genetics*. 2013; 45(11): 1345-1352.
42. Hodis HN. Triglyceride-rich lipoprotein remnant particles and risk of atherosclerosis. *Circulation*. 1999; 99(22): 2852-2854.
 43. Rosenson RS, Davidson MH, Hirsh BJ, Kathiresan S, Gaudet D. Genetics and causality of triglyceride-rich lipoproteins in atherosclerotic cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014; 64: 2525-2540.
 44. Schwartz GG, Abt M, Bao W, DeMicco D, Kallend D, Miller M, et al. Fasting triglycerides predict recurrent ischemic events in patients with acute coronary syndrome treated with statins. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015; 65: 2267-2275.
 45. Wyler von Ballmoos MC, Haring B, Sacks FM. The risk of cardiovascular events with increased apolipoprotein CIII: A systematic review and meta-analysis. *Journal of clinical lipidology*. 2015; 9: 498-510.
 46. Alipour A, van Oostrom AJHHM, Izraeljan A, Verseyden C, Collins JM, Frayn KN, et al. Leukocyte activation by triglyceride-rich lipoproteins. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2008; 28: 792-797.
 47. Doi H, Kugiyama K, Oka H, Sugiyama S, Ogata N, Koide SI, et al. Remnant lipoproteins induce proatherothrombogenic molecules in endothelial cells through a redox-sensitive mechanism. *Circulation*. 2000; 102: 670-676.
 48. Pitas RE, Innerarity TL, Mahley RW. Foam cells in explants of atherosclerotic rabbit aortas have receptors for beta-very low density lipoproteins and modified low density lipoproteins. *Arteriosclerosis (Dallas, Tex.)*. 1983; 3: 2-12.
 49. Wang L, Gill R, Pedersen TL, Higgins LJ, Newman JW, Rutledge JC. Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis releases neutral and oxidized FFAs that induce endothelial cell inflammation. *Journal of lipid research*. 2009; 50: 204-213.
 50. Olufadi R, Byrne CD. Effects of VLDL and remnant particles on platelets. *Pathophysiology of haemostasis and thrombosis*. 2006; 35: 281-291.
 51. Shin HK, Kim YK, Kim KY, Lee JH, Hong KW. Remnant lipoprotein particles induce apoptosis in endothelial cells by NAD(P)H oxidase-mediated production of superoxide and cytokines via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 activation: prevention by cilostazol. *Circulation*. 2004; 109: 1022-1028.
 52. Steffel J, Lüscher TF, Tanner FC. Tissue factor in cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical implications. *Circulation*. 2006; 113: 722-731.
 53. Asztalos BF, Schaefer EJ. HDL in atherosclerosis: actor or bystander? *Atherosclerosis. Supplements*. 2003; 4: 21-29.
 54. Rosenson RS, Brewer HB, Barter PJ, Björkegren JLM, Chapman MJ, Gaudet D, et al. HDL and atherosclerotic cardiovascular disease: genetic insights into complex biology. *Nature reviews. Cardiology*. 2018; 15: 9-19.
 55. Apro J, Tietge UJF, Dikkers A, Parini P, Angelin B, Rudling M. Impaired Cholesterol Efflux Capacity of High-Density Lipoprotein Isolated From Interstitial Fluid in Type 2 Diabetes Mellitus-Brief Report. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2016; 36: 787-791.
 56. Lemmers RFH, van Hoek M, Lieveverse AG, Verhoeven AJM, Sijbrands EJG, Mulder MT. The anti-inflammatory function of high-density lipoprotein in type II diabetes: A systematic review. *Journal of clinical lipidology*. 2017; 11: 712-724. e5.
 57. Srivastava RAK. Dysfunctional HDL in diabetes mellitus and its role in the pathogenesis of cardiovascular disease. *Molecular and cellular biochemistry*. 2018; 440: 167-187.
 58. Chehade JM, Gladysz M, Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes: prevalence, pathophysiology, and management. *Drugs*. 2013; 73: 327-339.
 59. Cuore P, <http://www.cuore.iss.it/fattori/colesterolemiaTot.asp>.
 60. Lombardo F, Spila Alegiani S, Maggini M, Raschetti R, Avogaro A, Ferrannini E, et al. Prevalenza e incidenza delle complicanze del diabete: studio DAI. *Rapporti ISTISAN 07/25*. 2007.
 61. Aprile V, Baldissera S, D'Argenzio A, Lopresti S, Mingozzi O, Scondotto S, et al. Risultati nazionali dello studio QUADRI (Qualità dell'Assistenza alle persone Diabetiche nelle Regioni Italiane). *Rapporti ISTISAN 07/10*. 2007.
 62. PASSI, La sorveglianza Passi - Rapporto nazionale Passi: diabete <http://www.epicentro.iss.it/passi/rapporto2012/diabete.asp>. 2012.
 63. Vaccaro O, Boemi M, Cavalot F, De Feo P, Miccoli R, Patti L, et al. The clinical reality of guidelines for primary prevention of cardiovascular disease in type 2 diabetes in Italy. *Atherosclerosis*. 2008; 198: 396-402.
 64. Osservatorio ARNO Diabete -Il profilo assistenziale della popolazione con diabete. Volume XXX - Collana "Rapporti ARNO". 2017.
 65. Arcangeli A, Cimino A, Di Bartolo P, Fava D, Lovagnini Scher A, Meloncelli I, et al. Livelli di controllo metabolico, pressorio e lipidico e uti-

- lizzo dei farmaci nel diabete di tipo 2. Gli Anni 2005-2009 a confronto. *Annali AMD*. 2011.
66. Manicardi V, Clemente G, DeCosmo S, Di Bartolo P, Fava D, Giorda BC, et al. Le monografie degli annali AMD 2017. Focus su Full Data Circle Numero speciale JAMD, ed. maggio 2018 Edizioni Idelson Gnocchi 1908 srl.
 67. Vaccaro O, Masulli M, Nicolucci A, Bonora E, Del Prato S, Maggioni AP, et al. Effects on the incidence of cardiovascular events of the addition of pioglitazone versus sulfonylureas in patients with type 2 diabetes inadequately controlled with metformin (TOSCA.IT): a randomised, multicentre trial. *The lancet. Diabetes & endocrinology*. 2017; 5: 887-897.
 68. Pirillo A, Catapano AL. Proprotein Convertase Subtilisin Kexin 9 Inhibitors. *Cardiology clinics*. 2018; 36: 241-256.
 69. Yadav K, Sharma M, Ferdinand KC. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) inhibitors: Present perspectives and future horizons. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2016; 26: 853-862.
 70. Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ou-guerram K, Devillers M, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nature genetics*. 2003; 34: 154-156.
 71. Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nature genetics*. 2005; 37: 161-165.
 72. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley Jr TH, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *The New England journal of medicine*. 2006; 354: 1264-1272.
 73. Kathiresan S and C. Myocardial Infarction Genetics, A PCSK9 missense variant associated with a reduced risk of early-onset myocardial infarction. *The New England journal of medicine*. 2008; 358: 2299-2300.
 74. Koren MJ, Lundqvist P, Bolognese M, Neutel JM, Monsalvo ML, Yang J, et al. Anti-PCSK9 monotherapy for hypercholesterolemia: the MENDEL-2 randomized, controlled phase III clinical trial of evolocumab. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014; 63: 2531-2540.
 75. Koren MJ, Scott R, Kim JB, Knusel B, Liu T, Lei L, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 as monotherapy in patients with hypercholesterolaemia (MENDEL): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet (London, England)*. 2012; 380: 1995-2006.
 76. Roth EM, McKenney JM. ODYSSEY MONO: effect of alirocumab 75 mg subcutaneously every 2 weeks as monotherapy versus ezetimibe over 24 weeks. *Future cardiology*. 2015; 11: 27-37.
 77. Farnier M, Jones P, Severance R, Aversa M, Steinhagen-Thiessen E, Colhoun HM, et al. Efficacy and safety of adding alirocumab to rosuvastatin versus adding ezetimibe or doubling the rosuvastatin dose in high cardiovascular-risk patients: The ODYSSEY OPTIONS II randomized trial. *Atherosclerosis*. 2016; 244: 138-146.
 78. Giugliano RP, Desai NR, Kohli P, Rogers WJ, Somaratne R, Huang F, et al. Efficacy, safety, and tolerability of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 in combination with a statin in patients with hypercholesterolaemia (LAPLACE-TIMI 57): a randomised, placebo-controlled, dose-ranging, phase 2 study. *Lancet (London, England)*. 2012; 380: 2007-2017.
 79. McKenney JM, Koren MJ, Kereiakes DJ, Hanotin C, Ferrand A-C, Stein EA. Safety and efficacy of a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease, SAR236553/REGN727, in patients with primary hypercholesterolemia receiving ongoing stable atorvastatin therapy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2012; 59: 2344-2353.
 80. Robinson JG, Nedergaard BS, Rogers WJ, Fialkow J, Neutel JM, Ramstad D, et al. Effect of evolocumab or ezetimibe added to moderate- or high-intensity statin therapy on LDL-C lowering in patients with hypercholesterolemia: the LAPLACE-2 randomized clinical trial. *JAMA*. 2014; 311: 1870-1882.
 81. Bays H, Gaudet D, Weiss R, Ruiz JL, Watts GF, Gouni-Berthold I, et al. Alirocumab as Add-On to Atorvastatin Versus Other Lipid Treatment Strategies: ODYSSEY OPTIONS I Randomized Trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2015; 100: 3140-3148.
 82. Blom DJ, Hala T, Bolognese M, Lillestol MJ, Toth PD, Burgess L, et al. A 52-week placebo-controlled trial of evolocumab in hyperlipidemia. *The New England journal of medicine*. 2014; 370: 1809-1819.
 83. Cannon CP, Cariou B, Blom D, McKenney JM, Lorenzato C, Pordy R, et al. Efficacy and safety of alirocumab in high cardiovascular risk patients with inadequately controlled hypercholesterolaemia on maximally tolerated doses of

- statins: the ODYSSEY COMBO II randomized controlled trial. *European heart journal*. 2015; 36: 1186-1194.
84. Kereiakes DJ, Robinson JG, Cannon CP, Lorenzato C, Pordy R, Chaudhari U, et al. Efficacy and safety of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor alirocumab among high cardiovascular risk patients on maximally tolerated statin therapy: The ODYSSEY COMBO I study. *American heart journal*. 2015; 169: 906-915.e13.
 85. Raal F, Scott R, Somaratne R, Bridges I, Li G, Wasserman SM, et al. Low-density lipoprotein cholesterol-lowering effects of AMG 145, a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia: the Reduction of LDL-C with PCSK9 Inhibition in Heterozygous Familial Hypercholesterolemia Disorder (RUTHERFORD) randomized trial. *Circulation*. 2012; 126: 2408-2417.
 86. Raal FJ, Stein EA, Dufour R, Turner T, Civeira F, Burgess L, et al. PCSK9 inhibition with evolocumab (AMG 145) in heterozygous familial hypercholesterolaemia (RUTHERFORD-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet (London, England)*. 2015; 385: 331-340.
 87. Kastelein JJP, Ginsberg HN, Langslet G, Hovingh GK, Ceska R, Dufour R, et al. ODYSSEY FH I and FH II: 78 week results with alirocumab treatment in 735 patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *European heart journal*. 2015; 36: 2996-3003.
 88. Raal FJ, Honarpour N, Blom DJ, Hovingh GK, Xu F, Scott R, et al. Inhibition of PCSK9 with evolocumab in homozygous familial hypercholesterolaemia (TESLA Part B): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet (London, England)*. 2015; 385: 341-350.
 89. Raal FJ, Hovingh GK, Blom D, Santos RD, Harada-Shiba M, Bruckert E, et al. Long-term treatment with evolocumab added to conventional drug therapy, with or without apheresis, in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: an interim subset analysis of the open-label TAUSIG study. *The lancet. Diabetes & endocrinology*. 2017; 5: 280-290.
 90. Nissen SE, Stroes E, Dent-Acosta RE, Rosen RS, Lehman SJ, Sattar N, et al. Efficacy and Tolerability of Evolocumab vs Ezetimibe in Patients With Muscle-Related Statin Intolerance: The GAUSS-3 Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2016; 315: 1580-1590.
 91. Stroes E, Colquhoun D, Sullivan D, Civeira F, Rosen RS, Watts GF, et al. Anti-PCSK9 antibody effectively lowers cholesterol in patients with statin intolerance: the GAUSS-2 randomized, placebo-controlled phase 3 clinical trial of evolocumab. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014; 63: 2541-2548.
 92. Sullivan D, Olsson AG, Scott R, Kim JB, Xue A, GebSKI V, et al. Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on low-density lipoprotein cholesterol levels in statin-intolerant patients: the GAUSS randomized trial. *JAMA*. 2012; 308: 2497-2506.
 93. Moriarty PM, Thompson PD, Cannon CP, Guyton JR, Bergeron J, Zieve FJ, et al. Efficacy and safety of alirocumab vs ezetimibe in statin-intolerant patients, with a statin rechallenge arm: The ODYSSEY ALTERNATIVE randomized trial. *Journal of clinical lipidology*. 2015; 9: 758-769.
 94. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *The New England journal of medicine*. 2017; 376: 1713-1722.
 95. Giugliano RP, Mach F, Zavitz K, Kurtz C, Im K, Kanevsky E, et al. Cognitive Function in a Randomized Trial of Evolocumab. *The New England journal of medicine*. 2017; 377: 633-643.
 96. Giugliano RP, Pedersen TR, Park J-G, De Ferrari GM, Gaciong ZA, Ceska R, et al. Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL-cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: a prespecified secondary analysis of the FOURIER trial. *Lancet (London, England)*. 2017; 390: 1962-1971.
 97. Schwartz GG, Steg PG, Szarek M, Bhatt DL, Bittner VA, Diaz R, et al. Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome. *The New England journal of medicine*. 2018; 379: 2097-2107.
 98. Ray KK, Leiter LA, Müller-Wieland D, Cariou B, Colhoun HM, Henry RR, et al. Alirocumab vs usual lipid-lowering care as add-on to statin therapy in individuals with type 2 diabetes and mixed dyslipidaemia: The ODYSSEY DM-DYSLIPIDEMIA randomized trial. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2018; 20: 1479-1489.
 99. Sattar N. Revisiting the links between glycaemia, diabetes and cardiovascular disease. *Diabetologia*. 2013; 56: 686-695.
 100. Ooi TC, Krysa JA, Chaker S, Abujrad H, Mayne J, Henry K, et al. The Effect of PCSK9

- Loss-of-Function Variants on the Postprandial Lipid and ApoB-Lipoprotein Response. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2017; 102: 3452-3460.
101. Vergès B. Pathophysiology of diabetic dyslipidaemia: where are we? *Diabetologia*. 2015; 58: 886-899.
 102. Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nature clinical practice. Endocrinology & metabolism*. 2009; 5: 150-159.
 103. Nakajima K, Nakano T, Tokita Y, Nagamine T, Inazu A, Kobayashi J, et al. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2011; 412: 1306-1318.
 104. Reyes-Soffer G, Pavlyha M, Ngai C, Thomas T, Holleran S, Ramakrishnan R, et al. Effects of PCSK9 Inhibition With Alirocumab on Lipoprotein Metabolism in Healthy Humans. *Circulation*. 2017; 135: 352-362.
 105. Watts GF, Chan DC, Dent R, Somaratne R, Wasserman SM, Scott R, et al. Factorial Effects of Evolocumab and Atorvastatin on Lipoprotein Metabolism. *Circulation*. 2017; 135: 338-351.
 106. Ganda OP, Plutzky J, Sanganalmath SK, Bujas-Bobanovic M, Koren A, Mandel J, et al. Efficacy and safety of alirocumab among individuals with diabetes mellitus and atherosclerotic cardiovascular disease in the ODYSSEY phase 3 trials. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2018; 20: 2389-2398.
 107. Ginsberg Henry N, Farnier M, Robinson Jennifer G, Cannon Christopher P, Sattar N, Baccara-Dinet Marie T, et al. Abstract 17070: Efficacy and Safety of Alirocumab: Pooled Analyses of 1048 Individuals With Diabetes Mellitus From Five Placebo-controlled Phase 3 Studies of at Least 52 Weeks Duration. *Circulation*. 2015; 132: A17070-A17070.
 108. Leiter LA, Zamorano JL, Bujas-Bobanovic M, Louie MJ, Lecorps G, Cannon CP, et al. Lipid-lowering efficacy and safety of alirocumab in patients with or without diabetes: A sub-analysis of ODYSSEY COMBO II. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2017; 19: 989-996.
 109. Robinson JG, Farnier M, Krempf M, Bergeron J, Luc G, Averna M, et al. Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *The New England journal of medicine*. 2015; 372: 1489-1499.
 110. Sattar N, Preiss D, Robinson JG, Djedjos CS, Elliott M, Somaratne R, et al. Lipid-lowering efficacy of the PCSK9 inhibitor evolocumab (AMG 145) in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis of individual patient data. *The lancet. Diabetes & endocrinology*. 2016; 4: 403-410.
 111. Sattar N, Toth PP, Blom DJ, Koren MJ, Soran H, Uhart M, et al. Effect of the Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 Inhibitor Evolocumab on Glycemia, Body Weight, and New-Onset Diabetes Mellitus. *The American journal of cardiology*. 2017; 120: 1521-1527.
 112. Sabatine MS, Leiter LA, Wiviott SD, Giugliano RP, Deedwania P, De Ferrari GM, et al. Cardiovascular safety and efficacy of the PCSK9 inhibitor evolocumab in patients with and without diabetes and the effect of evolocumab on glycaemia and risk of new-onset diabetes: a prespecified analysis of the FOURIER randomised controlled trial. *The lancet. Diabetes & endocrinology*. 2017; 5: 941-950.
 113. Leiter LA, Müller-Wieland D, Baccara-Dinet MT, Letierce A, Samuel R, Cariou B. Efficacy and safety of alirocumab in people with prediabetes vs those with normoglycaemia at baseline: a pooled analysis of 10 phase III ODYSSEY clinical trials. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*. 2018; 35: 121-130.
 114. Blom DJ, Koren MJ, Roth E, Monsalvo ML, Djedjos CS, Nelson P, et al. Evaluation of the efficacy, safety and glycaemic effects of evolocumab (AMG 145) in hypercholesterolaemic patients stratified by glycaemic status and metabolic syndrome. *Diabetes, obesity & metabolism*. 2017; 19(1): 98-107.
 115. Cariou B, Leiter LA, Müller-Wieland D, Bigot G, Colhoun HM, Del Prato S, et al. Efficacy and safety of alirocumab in insulin-treated patients with type 1 or type 2 diabetes and high cardiovascular risk: Rationale and design of the ODYSSEY DM-INSULIN trial. *Diabetes & metabolism*. 2017; 43: 453-459.
 116. Müller-Wieland D, Leiter LA, Cariou B, Letierce A, Colhoun HM, Del Prato S, et al. Design and rationale of the ODYSSEY DM-DYS-LIPIDEMIA trial: lipid-lowering efficacy and safety of alirocumab in individuals with type 2 diabetes and mixed dyslipidaemia at high cardiovascular risk. *Cardiovascular diabetology*. 2017; 16: 70.
 117. Toth PP, Descamps O, Genest J, Sattar N, Preiss D, Dent R, et al. Pooled Safety Analysis of Evolocumab in Over 6000 Patients From Double-Blind and Open-Label Extension Studies. *Circulation*. 2017; 135: 1819-1831.
 118. Leiter LA, Tinahones FJ, Karalis DG, Bujas-Bobanovic M, Letierce A, Mandel J, et al. Alirocumab safety in people with and without diabetes mellitus: pooled data from 14 ODYS-

- SEY trials. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*. 2018; 35: 1742-1751.
119. Swerdlow DI, Preiss D, Kuchenbaecker KB, Holmes MV, Engmann JEL, Shah T, et al. HMG-coenzyme A reductase inhibition, type 2 diabetes, and bodyweight: evidence from genetic analysis and randomised trials. *Lancet* (London, England). 2015; 385: 351-361.
 120. Lotta LA, Sharp SJ, Burgess S, Perry JRB, Stewart ID, Willems SM, et al. Association Between Low-Density Lipoprotein Cholesterol-Lowering Genetic Variants and Risk of Type 2 Diabetes: A Meta-analysis. *JAMA*. 2016; 316: 1383-1391.
 121. Schmidt AF, Swerdlow DI, Holmes MV, Patel RS, Fairhurst-Hunter Z, Lyall DM, et al. PCSK9 genetic variants and risk of type 2 diabetes: a mendelian randomisation study. *The lancet. Diabetes & endocrinology*. 2017; 5: 97-105.
 122. Mbikay M, Sirois F, Mayne J, Wang G-S, Chen A, Dewpura T, et al. PCSK9-deficient mice exhibit impaired glucose tolerance and pancreatic islet abnormalities. *FEBS letters*. 2010; 584: 701-706.
 123. Karatasakis A, Danek BA, Karacsonyi J, Rangan BV, Roesle MK, Knickelbine T, et al. Effect of PCSK9 Inhibitors on Clinical Outcomes in Patients With Hypercholesterolemia: A Meta-Analysis of 35 Randomized Controlled Trials. *Journal of the American Heart Association*. 2017; 6: e006910.
 124. Colhoun HM, Ginsberg HN, Robinson JG, Leiter LA, Müller-Wieland D, Henry RR, et al. No effect of PCSK9 inhibitor alirocumab on the incidence of diabetes in a pooled analysis from 10 ODYSSEY Phase 3 studies. *European heart journal*. 2016; 37: 2981-2989.
 125. Da Dalt L, Ruscica M, Bonacina F, Balzarotti G, Dhyani A, Di Cairano E, et al. PCSK9 deficiency reduces insulin secretion and promotes glucose intolerance: the role of the low-density lipoprotein receptor. *European heart journal*. 2019; 40: 357-368.
 126. Cholesterol Treatment Trialists C, Kearney PM, Blackwell L, Collins R, Keech A, Simes J, et al. Efficacy of cholesterol-lowering therapy in 18,686 people with diabetes in 14 randomised trials of statins: a meta-analysis. *Lancet* (London, England). 2008; 371: 117-125.

LAVORO ORIGINALE

STUDIO DI COSTO-EFFICACIA SULL'IMPIEGO DEGLI INIBITORI DI PCSK9 IN TOSCANA - STUDIO CERTI

Cost-effectiveness study on the use of PCSK9 inhibitors in Tuscany - CERTI Study

**TIZIANA SAMPIETRO¹, FRANCESCO SBRANA¹, FEDERICO BIGAZZI¹,
BEATRICE DAL PINO¹, ELISABETTA VOLPI², GIUSEPPA LO SURDO²,
ANDREA RIPOLI¹, ROSA GINI³, STEFANIA BIAGINI², CERTI STUDY GROUP***

¹UO Lipoaferesi, Centro di riferimento regionale per la diagnosi e il trattamento delle dislipidemie ereditarie, Fondazione Toscana "Gabriele Monasterio", Pisa;

²UO Farmaceutica Ospedaliera, Fondazione Toscana "Gabriele Monasterio", Massa;

³Epidemiology Unit, Regional Agency for Healthcare Services of Tuscany, Florence;

*Elenco dei Centri partecipanti allo studio a pagina 45

SUMMARY

Background. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9 (PCSK9) inhibitors were recently approved for lowering low-density lipoprotein cholesterol in heterozygous Familial Hypercholesterolemia (FH) or atherosclerotic cardiovascular disease, especially in patients where current standard care is not tolerated or ineffective. However, their long-term effect and cost-effectiveness have not yet well established. Aim of study is to evaluate, at regional level, safety, tolerability and effect on Italian health care spending of PCSK9 inhibitors.

Study design. This observational, prospective, no-profit study will be conducted in 24 Tuscany sites. It will involve 9,000 patients eligible for treatment with PCSK9 inhibitors according to the Italian Medicines Agency (AIFA) criteria and it is expected to last 10 years.

This protocol will collect, through an electronic case report form, the following data: 1) PCSK9 inhibitors cost-effectiveness at 3-5 years, 2) efficiency in LDL reduction, 3) record of major cardiovascular events, 4) monitor the adherence to therapy, 5) information about pharmaco-vigilance.

Conclusions. This study provides an opportunity to build a network for collect and integrate PCSK9 inhibitors information's about prescriptions and cost-effectiveness.

Keywords: Cost-effectiveness study, PCSK9 inhibitors, familial hypercholesterolemia, adherence to therapy, cardiovascular prevention.

Indirizzo per la corrispondenza

Tiziana Sampietro

U.O. Lipoapheresis and Center for Inherited Dyslipidemias

Fondazione Toscana Gabriele Monasterio

Via Moruzzi, 1 - 56124 Pisa

E-mail: tiziana.sampietro@ftgm.it

Studio CERTI - Costo Efficacia Regione Toscana terapia inibitori PCSK9

Ogni innovazione terapeutica è anche occasione per rifare il punto sullo stato dell'arte delle malattie per le quali le terapie sono state disegnate. L'introduzione degli inibitori del PCSK9 è giusto una di queste occasioni.

Nella Regione Toscana è stata occasione, sin dalla prima approvazione AIFA, nel luglio 2017 per disegnare uno studio di costo efficacia sull'uso di questi nuovi farmaci.

Il valore intrinseco di studi come questo è certo anche quello di una fotografia, benché parziale, della capacità attuale del Sistema Sanitario Regionale della cosiddetta governance delle Ipercolesterolemie Familiari, notoriamente misconosciute.

I risultati fin qui ottenuti saranno utile occasione di aggiornamento e di riflessione.

Premesse

L'allarme circa la crescita della spesa sanitaria e soprattutto quella farmaceutica, anche lipidologica, è largamente condiviso. Secondo la previsione di Victoria Hudson riportata in una recente pubblicazione sulla rivista *Nature*, la spesa per i farmaci per le dislipidemie passerà da circa 16 miliardi nel 2014 a 29 miliardi nel 2021 (USA, Giappone, Francia Germania, Spagna, Italia e Inghilterra), cioè quasi il doppio in soli sette anni (1). Sarebbe molto utile osservare se queste previsioni si sono verificate dal 2014 ad oggi. Da qualche anno si è aperta l'era post statine grazie all'introduzione di nuovi farmaci: Mipomersen, Lomitapide e inibitori del PCSK9. Tre nuove categorie di farmaci disegnati sui difetti ereditari del metabolismo del colesterolo.

Il mipomersen non ha avuto l'approvazione dell'EMA. Il Lomitapide ha indicazione per la forma più rara dell'Ipercolesterole-

Obiettivo delle linee di indirizzo

Il presente documento si pone i seguenti obiettivi:

- Valutare l'epidemiologia dell'ipercolesterolemia primaria nel contesto regionale;
- Analizzare le evidenze di efficacia e sicurezza dei due nuovi PCSK9 inibitori individuando i pazienti che potrebbero beneficiare di tali trattamenti;
- Analizzare le caratteristiche che dovrebbero possedere i centri prescrittori di tali farmaci;
- Promuovere a livello regionale uno studio osservazionale no-profit, prospettico, multicentrico sugli inibitori di PCSK9;
- Individuare indicatori di monitoraggio per l'appropriatezza prescrittiva;
- Monitoraggio della spesa.

lemia Familiare Omozigote (HoFH), la cui frequenza è di un soggetto per milione di abitanti; in Italia, la Sardegna è la regione con maggior frequenza. Il costo annuale di mipomersen è di oltre 200.000 euro, mentre per la terapia con Lipoprotein-aferesi è di circa 36.000 euro l'anno. L'unico paziente con HoFH in Toscana è in trattamento presso la Fondazione Toscana Gabriele Monasterio ed ha iniziato il Lomitapide, in aggiunta alla Lipoprotein-aferesi, essendo il difetto genetico difficilmente trattabile con altri farmaci.

Gli inibitori del PCSK9 sono sicuramente l'innovazione terapeutica a maggior impatto per costo, indicazioni, ed efficacia terapeutica. Sono farmaci biologici, anticorpi monoclonali contro una proteina di regolazione del metabolismo del colesterolo. Il meccanismo d'azione è nuovo rispetto ai farmaci precedenti. Hanno dimostrato negli studi registrativi grande efficacia e altrettanta tollerabilità. Maneggevoli da parte del medico e dei pazienti, si somministrano per via sottocutanea, una o due volte al mese (2-22).

Per tutti i pazienti con dislipidemia familiare che necessitano di trattamento e

non rispondono o non tollerano le statine ad alta efficacia associate o meno a ezetimibe, gli inibitori del PCSK9 costituiscono un'imprescindibile opzione terapeutica (4, 5, 16, 20, 23).

Le risorse allocate alla spesa di questi e/o altri farmaci simili, anche di prossima approvazione, andrebbero pesate non solo confrontandole con il costo diretto, ma anche sul valore prodotto. Questo valore comprende e valuta la spesa nell'ottica delle vite salvate, eventi cardiovascolari ed ospedalizzazioni evitate, procedure ed interventi risparmiati. L'assenza di benefici tangibili per le risorse impiegate non ne giustificerebbe l'impiego. Perché il valore atteso si traduca in valore effettivo occorre che il farmaco venga impiegato nel paziente e nel contesto più appropriato.

Gli inibitori del PCSK9

I nuovi anticorpi monoclonali alirocumab (Praluent®) ed evolocumab (Repatha®), conosciuti come farmaci inibitori della proteina PCSK9 (proteina convertasi subtilisina/kexina di tipo 9), responsabile della degradazione del recettore delle LDL epatico, essendo caratterizzati da un meccanismo d'azione completamente diverso dai farmaci ipolipemizzanti finora commercializzati, possono rappresentare per taluni pazienti un'ulteriore opzione terapeutica. Essi si legano alla proteina PCSK9 impedendo che questa interagisca con il complesso LDL-recettore: viene così evitata la degradazione intracellulare del recettore stesso e se ne favorisce il riciclo sulla superficie dell'epatocita (4, 8). Il conseguente aumento dei livelli epatici dei recettori delle LDL ne aumenta la captazione diminuendo la concentrazione del colesterolo LDL circolante. Si riportano di seguito le *indicazioni dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) autorizzate e rimborsate dal SSN (piano terapeutico web-based)* (24-28):

Repatha® - evolocumab

- Pazienti di età ≤80 aa con ipercolesterolemia familiare omozigote.
- In prevenzione primaria in pazienti di età ≤80 aa con ipercolesterolemia familiare eterozigote e livelli di LDL-C ≥130 mg/dL nonostante terapia da almeno 6 mesi con statina ad alta potenza alla massima dose tollerata + ezetimibe oppure con dimostrata intolleranza alle statine.
- In prevenzione secondaria in pazienti di età ≤80 aa con ipercolesterolemia familiare eterozigote o ipercolesterolemia non familiare o dislipidemia mista con livelli di LDL-C ≥100 mg/dL nonostante terapia da almeno 6 mesi con statina ad alta potenza alla massima dose tollerata + ezetimibe oppure con dimostrata intolleranza alle statine.

Praluent® - alirocumab

- In prevenzione primaria in pazienti di età ≤80 aa con ipercolesterolemia familiare eterozigote e livelli di LDL-C ≥130 mg/dL nonostante terapia da almeno 6 mesi con statina ad alta potenza alla massima dose tollerata + ezetimibe oppure con dimostrata intolleranza alle statine.
- In prevenzione secondaria in pazienti di età ≤80 aa con ipercolesterolemia familiare eterozigote o ipercolesterolemia non familiare o dislipidemia mista e livelli di LDL-C ≥100 mg/dL nonostante terapia da almeno 6 mesi con statina ad alta potenza alla massima dose tollerata + ezetimibe oppure con dimostrata intolleranza alle statine.

Studi comparativi tra evolocumab e alirocumab non sono presenti e pertanto non possono essere definite differenze in termini di efficacia e sicurezza. Sulla base delle evidenze disponibili, evolocumab e alirocumab come terapie *add on*

risultano avere un profilo di efficacia e sicurezza simile, dimostrando ciascuno la superiorità vs placebo o ezetimibe nel ridurre i livelli di C-LDL rispetto al basale (riduzioni tra circa il 40% e poco meno del 70%) (5, 16, 19, 20). Recentemente è stato pubblicato un trial che evidenzia la sicurezza d'impiego a breve termine di evolocumab e una riduzione di eventi aggiuntiva a quella garantita dalla terapia standard in pazienti ad elevato rischio cardiovascolare (26).

Al momento della stesura del presente documento, *Repatha*® e *Praluent*® risultano classificati come di seguito indicato:

- Repatha fascia A (DETERMINA AIFA 1° febbraio 2017 Classificazione del medicinale per uso umano «Repatha», ai sensi dell'art. 8, comma 10, della legge 24 dicembre 1993, n. 537. Determina n. 172/2017, GU Serie Generale n. 31 del 7-2-2017).
- Praluent fascia A (DETERMINA AIFA 16 febbraio 2017 Classificazione del medicinale per uso umano «Praluent» ai sensi dell'art. 8, comma 10, della legge 24 dicembre 1993, n. 537. Determina n. 256/2017, GU Serie Generale n. 54 del 6-3-2017).

Per farmaci innovativi e ad alto impatto di spesa, l'AIFA ha negli ultimi anni disposto l'impiego di Registri di monitoraggio e Piani Terapeutici web-based come strumenti sia per individuare il paziente eleggibile alla terapia che per misurarne l'efficacia e la sicurezza. La prescrivibilità degli inibitori della proteina PCSK9 è quindi vincolata alla compilazione di un Piano Terapeutico web-based.

Le Linee Guida e le Società Scientifiche

I nuovi farmaci per il colesterolo sono oggetto privilegiato di una campagna di educazione delle più autorevoli società scientifiche del mondo (AHA - American

Heart Association, ACC - American College of Cardiology, ESC - European Society of Cardiology, EAS - European Atherosclerosis Society). Dal 2011 le società europee di cardiologia e di aterosclerosi hanno iniziato a diffondere linee guida indipendenti da quelle americane. Secondo le linee guida Europee, nei pazienti con un profilo di rischio basso è sufficiente tenere il colesterolo sotto i livelli di 115 mg/dl, mentre chi è ad elevato rischio deve tenere il colesterolo sotto i 100 mg/dl e infine chi è ad altissimo rischio cardiovascolare dovrebbe tenere il colesterolo sotto 70 mg/dl. La Società Europea di Cardiologia cataloga la popolazione in 4 diverse categorie a rischio di eventi cardiovascolari e le raccomandazioni per il controllo lipidico di tali soggetti (27). Coloro che hanno già sofferto un evento sono equiparati a quelli con mortalità superiore o uguale al 10% in 10 anni.

I costi economici

Le previsioni di mercato dei farmaci che inibiscono il PCSK9 sono quelle di un

Repatha® (Evolocumab)	Costo/mese (s/IVA)	Costo/anno (s/IVA)
	Euro (€)	Euro (€)
140 mg ogni 2 settimane (2 fl/mese)	€ 392,30	€ 4.707,60
420 mg/mese (3 fl da 140 mg/mese)	€ 588,45	€ 7.061,40
420 mg ogni 2 settimane (6fl da 140 mg/mese)	€ 1.176,90	€ 14.122,80

Praluent® (Alirocumab)	Costo/mese (s/IVA)	Costo/anno (s/IVA)
	Euro (€)	Euro (€)
75 mg ogni 2 settimane (2 fl/mese)	€ 363,88	€ 4.366,56
150 mg ogni 2 settimane (2 fl da 150 mg/mese)	€ 363,88	€ 4.366,56

notevole incremento nei prossimi anni. Si tratta di una innovazione terapeutica potenzialmente in grado di controllare efficacemente la colesterolemia garantendo i *target* raccomandati. La Rivista *Nature* prevede in questo ambito terapeutico uno scenario di farmacoeconomia plausibile (1).

Analizziamo di seguito i costi attuali previsti per gli inibitori di PCSK9:

Repatha® (Evolocumab)

- Indicazione: ipercolesterolemia primaria e dislipidemia mista negli adulti.
- Posologia: 140 mg ogni 2 settimane (o 420 mg una volta/mese).
- Indicazione: ipercolesterolemia familiare omozigote in adulti e adolescenti di età pari o superiore ai 12 anni.
- Posologia: 420 mg una volta/mese; se non sufficiente 420 mg ogni 2 settimane.

- Confezione: 2 penne 140 mg = 392,30 € s/IVA; prezzo unitario s/IVA 196,15 €/penna

Praluent® (Alirocumab)

- Indicazione: ipercolesterolemia primaria (familiar eterozigote o non familiare) o dislipidemia mista.
- Posologia: 75 mg ogni 2 settimane o 150 mg ogni 2 settimane.
- Confezione: 2 penne 75 mg = 363,88 € s/IVA; prezzo unitario s/IVA 181,94 €/penna

I prezzi soprariportati sono quelli attualmente contrattualizzati da ESTAR (05/2017) e sono quindi soggetti a variazioni in base ai volumi di acquisto. In linea generale per la scelta del principio attivo si ricorda che a parità di indicazioni cliniche è necessario fare riferimento all'algoritmo riportato nella *Figura 1*.

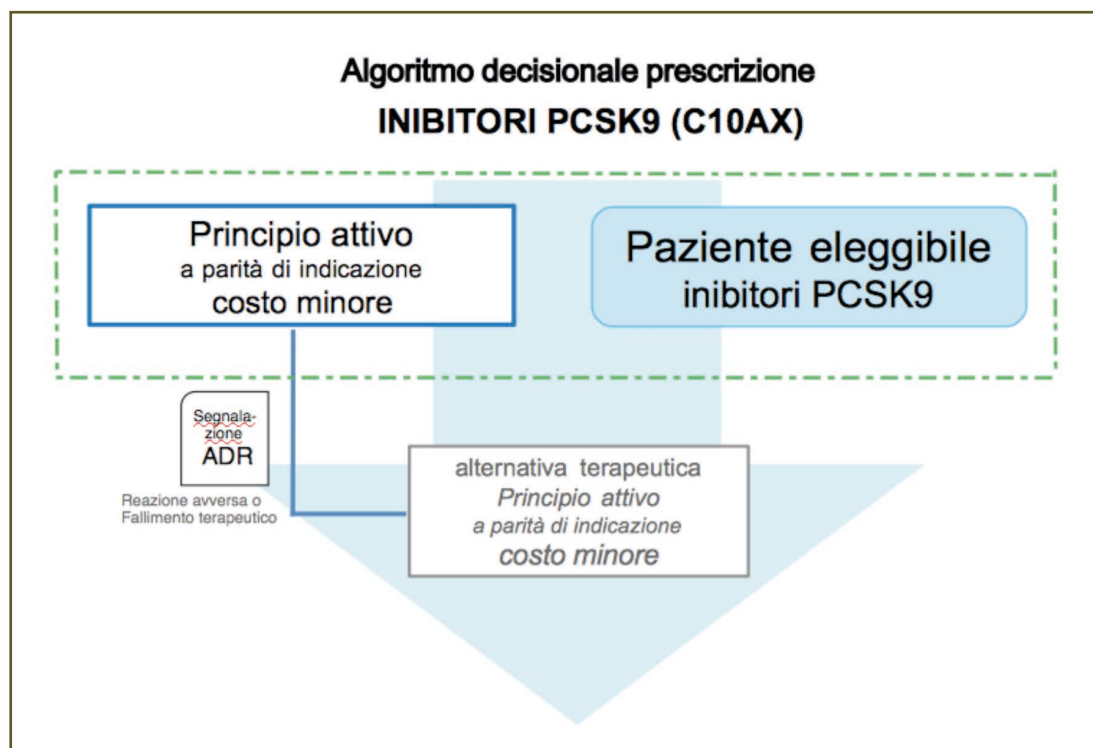


Figura 1 - Algoritmo di riferimento per la prescrizione di PCSK9 inibitori.

Il "colesterolo alto" dimensione del problema

Come già sottolineato, i valori indicati dalle linee guida europee ed americane definiscono direttamente la dimensione della popolazione da trattare, come è successo con le statine. Le indicazioni del National Cholesterol Education Program (NCEP) dell'NIH degli anni '90 prefiguravano l'uso di statine per 13 milioni di americani, quelle del 2001 per 36 milioni e quelle 2004 per 40 milioni. Quindi le linee guida sarebbero il luogo principe del governo della domanda (29, 30). In Italia il Progetto Cuore, svolto in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità (www.cuore.iss.it) offre alcuni dati aggiornati al 2008 di prevalenza dell'ipercolesterolemia sulla popolazione italiana, suggerendo un trend in aumento sia per i soggetti di sesso maschile che femminile.

Il paradosso del problema colesterolo nella Medicina attuale tra disease mongering, fattori di rischio e malattie negate

Le dislipidemie ereditarie sono le malattie genetiche più frequenti, la maggior parte di esse è a trasmissione autosomica dominante. Questa caratteristica le rende oggetto di prevenzione e diagnosi precoce; rendono conto del 75% delle *malattie cardiovascolari* (infarto, bypass, ictus angina, etc.) in età prematura (<65 negli uomini e 55 nelle donne), cioè la fascia di età a maggior impatto socio sanitario. In questi casi, la dislipidemia è la malattia primaria e la malattia cardiovascolare è la malattia secondaria. Nonostante l'alta frequenza di queste malattie, nella cultura medica e nell'opinione pubblica dominante queste sono misconosciute e mal curate. Non ci sono servizi sanitari dedicati, se non pochi centri specialistici di assistenza e ricerca. Per chiarire, basterebbe immaginare il diabete curato in pochi centri e

dedurre che la stragrande maggioranza dei diabetici sarebbero, in questa situazione, misconosciuti e mal curati (come avviene oggi ai soggetti dislipidemic). Secondo l'ultimo statement dell'European Atherosclerosis Society (EAS) sulle dislipidemie, l'ipercolesterolemia familiare è diagnosticata solo 1 volta su 100. Molto recentemente, proprio grazie agli inibitori di PCSK9, forse a giustificazione dell'alto costo, la linea culturale attuale di case farmaceutiche e società scientifiche tende a dare importanza, per la prima volta, alla diagnosi (queste malattie si conoscono dal 1974 - almeno per il loro difetto molecolare e la loro trasmissione genetica). La cogenza terapeutica di queste condizioni cliniche (curare il colesterolo per ridurre la malattia cardiovascolare) è un efficiente grimaldello per estenderla al maggior numero possibile di soggetti.

Ma quanti sono gli ipercolesterolemici? L'occhio con cui si guarda al fenomeno è strabico:

- si riconosce una prevalenza del fattore di rischio colesterolo del 20% della popolazione generale (12 milioni di Italiani);
- si pensa che le forme familiari siano rare;
- da una parte il trattamento dell'ipercolesterolemia viene indicato come un imperativo terapeutico, dall'altra si misconoscono le malattie specifiche ad essa correlate;
- ai medici di base si indica una volta l'anno l'intervallo accettabile per misurare i lipidi nel sangue (dovrebbe essere una misura di efficacia e tollerabilità di farmaci - anche costosi - come gli inibitori di PCSK9);
- la prestazione per dislipidemia è sparita dall'elenco dei nuovi Livelli Essenziali di Assistenza (LEA) per cui tale visita non può più essere prescritta elettronicamente.

Alla luce di quanto descritto risulta quindi complesso stimare il numero di pazienti che potrebbero beneficiare del trattamento con questi nuovi farmaci a disposizione del medico specialista.

Le evidenze dei trial clinici sul colesterolo quale fattore di rischio modificabile

Il rischio cardiovascolare si compone di più dimensioni e comprende fattori modificabili e non. Accanto al controllo del diabete, la sospensione del fumo e la promozione di uno stile di vita sano, il controllo della colesterolemia si è dimostrato uno straordinario *target* per la farmacologia, ottenendo nel corso degli anni una progressiva e sostenuta riduzione di eventi. Basti pensare che negli ultimi 10 anni l'incidenza di nuovi casi di infarto e la mortalità cardiovascolare si è ridotta del 40% nel mondo occidentale (29-31). Nel corso degli anni i valori di colesterolemia che sono oggetto di attenzione da parte del Medico si sono progressivamente abbassati. A lungo si è dibattuto se la riduzione dei valori di colesterolo LDL fosse il solo ed unico elemento che spiegasse i solidi risultati dei trial che hanno visto le statine ridurre drasticamente gli eventi. Ad oggi, dopo gli studi più recenti la tesi prevalente vede la riduzione di LDL quale intervento più efficace. L'aspetto più rilevante è tuttavia aver identificato senza ombra di dubbio che in pazienti ad elevato rischio cardiovascolare, quale coloro che hanno avuto un infarto del miocardio, subito una rivascularizzazione, sofferto di un ictus od affetti da gravi comorbidità quali il diabete tipo 2 complicato o l'insufficienza renale cronica, la riduzione della colesterolemia costituisce un obiettivo che è parte irrinunciabile della prevenzione di nuovi eventi (32). Resta aperta per categorie a minor rischio o pazienti molto anziani la discussione del beneficio di ridurre in modo importante la colesterolemia. Altrettanto importante è la

possibilità di intercettare pazienti affetti da forme familiari di ipercolesterolemia attraverso il riconoscimento di familiari che hanno sofferto un evento in occasione del ricovero. Auspicabile estendere lo studio del profilo lipidico ai familiari di primo grado.

Studio di farmaco utilizzazione per l'ipercolesterolemia in Regione Toscana

Lo studio di farmaco utilizzazione che l'Agenzia Regionale di Sanità (ARS) della Regione Toscana ha effettuato per il Tavolo Regionale sulla Linea Cardiovascolare ha avuto lo scopo di descrivere l'utilizzo dei farmaci per l'ipercolesterolemia nella popolazione toscana nell'arco di 10 anni, tra il 2007 e il 2016, per:

1. descrivere l'andamento nel tempo del primo anno di terapia, per valutare l'evoluzione del comportamento prescrittivo e dell'accettabilità della terapia da parte dei pazienti;
2. descrivere la prevalenza al 2016 di soggetti trattati e non trattati benché con una pregressa indicazione al trattamento, per analizzare il fenomeno del sotto trattamento;
3. descrivere la popolazione potenzialmente eleggibile per il trattamento con i nuovi farmaci.

Per quanto riguarda il primo obiettivo, il risultato è mostrato nella *Figura 2*.

Circa 43.300 persone ogni anno hanno cominciato la terapia con statine dal 2007 al 2015. Ogni anno meno del 40% ha assunto il farmaco con regolarità, mentre più del 20% dei trattati ha preso una sola prescrizione. Quest'ultimo gruppo poteva essere costituito da persone intolleranti o che non avevano una vera indicazione all'utilizzo, ma il gruppo restante è quello che desta più preoccupazione: ha seguito il trattamento in modo sporadico, costituen-

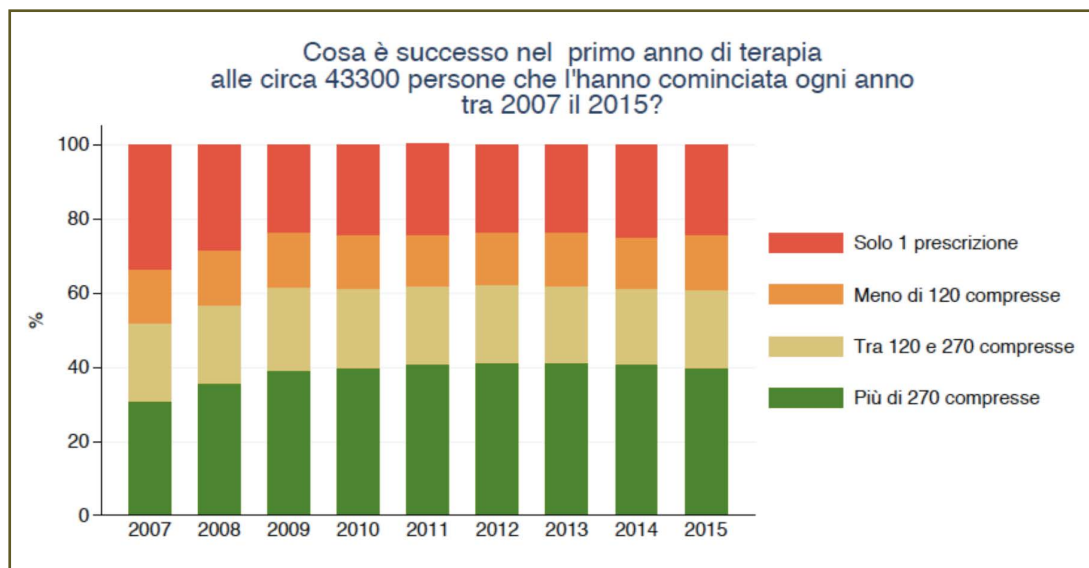


Figura 2 - Studio di farmaco utilizzazione di ARS sull'utilizzo dei farmaci per l'ipercolesterolemia nella popolazione toscana tra il 2007 e il 2016.

do una spesa che non è stata associata a una efficacia terapeutica.

I dati di ARS sembrano confermare quanto indicato dalla letteratura, ovvero

che circa il 50% dei pazienti trattati con statine risulta non aderente alla terapia. L'aderenza alla terapia ha un impatto molto importante in termini di diminuzione del

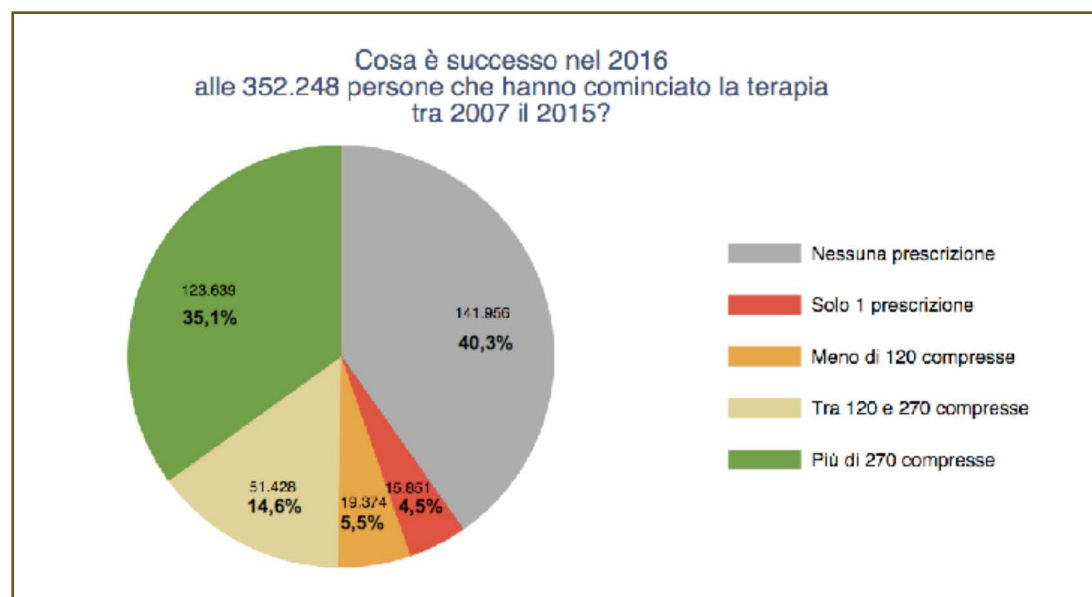


Figura 3 - Pazienti in trattamento al 31/12/2016 tra coloro che hanno iniziato una terapia per l'ipercolesterolemia nella popolazione toscana tra il 2007 e il 2015.

rischio di eventi cardiovascolari (RR 0,85, IC 95%: 0,81-0,89) e della mortalità per qualsiasi causa (RR 0,55, IC 95%: 0,46-0,67).

Il trattamento nel 2016 delle 352.000 persone documentate nella figura precedente e sopravvissute è illustrato nella *Figura 3*.

Come si nota, solo un terzo di questi pazienti ha seguito un trattamento completo. Quasi la metà non è stata trattata affatto, e anche in questo caso una frazione molto ampia, quasi 100.000 pazienti, è stata trattata ma in modo insufficiente.

Riassumendo, i primi risultati dello studio dell'ARS mostrano un sottotrattamento con la terapia già disponibile *secondo le linee guida attuali*.

Dallo studio di farmaco utilizzazione dell'ARS, è emerso che i soggetti residenti in Regione Toscana in trattamento con farmaci per l'ipercolesterolemia primaria al 31/12/2016 erano 248.806. Tra questi, i soggetti con codice di esenzione per ipercolesterolemia familiare erano 9.703 (3.9%). Dei 248.806 in trattamento con farmaci per l'ipercolesterolemia primaria al 31/12/2016, 32.857 erano in trattamento con statine ad alta potenza e/o ezetimibe e risultavano persistenti, ovvero con registrazione di almeno due prescrizioni e l'assenza di interruzioni di 60 giorni tra la data di una prescrizione più il numero di unità posologiche e la prescrizione successiva, i soggetti con codice di esenzione per ipercolesterolemia familiare erano 1.807 (5.5%).

Non possiamo inferire sul numero dei soggetti in trattamento con statine che non raggiungono il target lipidico, né di coloro che sono intolleranti alle statine. Pertanto, al momento attuale, non è possibile stimare il numero di soggetti eleggibili al trattamento con inibitori di PCSK9. Possiamo tuttavia applicare lo studio di farmaco utilizzazione dell'ARS per identificare, almeno in modo grossolano, la sottopopolazione che soddisfa gli altri requisiti per la rimborsabi-

lità. I dati di ARS confermano che i soggetti affetti da dislipidemie ereditarie sono misconosciuti e mal curati e pesano in termini di costi economici e sociali come pazienti cardiopatici e non come soggetti ipercolesterolemici.

Scopo dello studio

Dalla problematica sopra presentata si evince l'imprescindibilità di promuovere strumenti indipendenti per governare un fenomeno che appare di grandissime dimensioni, quale l'accesso ai farmaci innovativi, e che ha le potenzialità per mettere in crisi la sostenibilità economica del SSN. A tal fine, nell'ottica di promuovere la ricerca indipendente a livello regionale, si propone l'avvio del presente studio di costo-efficacia, osservazionale, farmacologico, prospettico, multicentrico, no-profit, sull'impiego degli inibitori di PCSK9.

Lo scopo principale dello studio è la valutazione costo-efficacia del trattamento con inibitori PCSK9, oltre alla valutazione della sicurezza, della tollerabilità della somministrazione di inibitori PCSK9 e il monitoraggio della spesa.

La raccolta dei dati prevederà la compilazione del *Case Report Form* (CRF) online che collegherà in rete i centri partecipanti (vedere *Lista centri partecipanti*). Tale piattaforma sarà accessibile per la compilazione dei dati clinici relativi ai pazienti arruolati nello studio osservazionale (utente medico sperimentatore), dei dati di dispensazione dei farmaci inibitori di PCSK9 prescritti (utente farmacista), dei dati di farmacovigilanza da parte del referente della Farmacovigilanza competente per territorio (utente farmacista) e ai Clinical Trial Office/Task force aziendale, deputati al monitoraggio dello stato di avanzamento dello studio e delle attività di coordinamento. Tali dati saranno integrati

con il database dell'Agenzia Regionale di Sanità della Regione Toscana, contenente i flussi amministrativi regionali.

Lo studio permetterà quindi di integrare le informazioni che ad oggi sono raccolte da fonti diverse, mettendo al centro del sistema il paziente con l'obiettivo di monitorare il percorso diagnostico-terapeutico e garantire non solo la massima efficacia e sicurezza del trattamento, ma anche monitorare il dato economico (33, 34).

Obiettivi primari

1. Determinare, nei pazienti trattati in Toscana con inibitori PCSK9, sia i costi diretti sanitari sia l'efficacia osservazionale con un follow-up di 3 e 5 anni dopo la prima somministrazione allo scopo di stimare il profilo di costo-efficacia del trattamento.
2. Osservare l'efficacia dei farmaci inibitori di PCSK9 sulla riduzione del C-LDL e dell'incidenza di eventi cardiovascolari maggiori (MACE) confrontandoli tra loro.
3. Valutare la sicurezza e la tollerabilità della somministrazione di inibitori di PCSK9 confrontandoli tra loro.
4. Studiare la coorte di pazienti in trattamento con inibitori di PCSK9 calcolando i costi sanitari diretti relativi ai trattamenti attivati.

Endpoint primari

1. Totale dei costi diretti sanitari per paziente nell'arco di 3 e 5 anni (comprensivi di costo della terapia con farmaci aventi indicazione cardiovascolare, costo delle ospedalizzazioni espressi come tariffa DRG e normalizzato per la durata del follow-up) e valore di sopravvivenza *quality-adjusted* per paziente ottenuto moltiplicando la durata del follow-up del paziente per l'utilità attribuibile al paziente stesso in base a valori di utilità

pubblicati in letteratura. In particolare, all'utilità verranno attribuiti valori diversi in funzione della presenza/assenza dei seguenti determinanti clinici: età, pregresso infarto, classe NYHA.

2. Osservare gli effetti sulla riduzione dei livelli di colesterolo legato alle lipoproteine a bassa densità (C-LDL) e misurazione dell'incidenza per soggetto degli eventi cardiovascolari maggiori (Major Adverse Cardiovascular Event, MACE) al follow-up a breve e lungo termine (3 e 5 anni) in pazienti in trattamento con inibitori di PCSK9 confrontandoli tra loro.
3. Misurazione dell'incidenza per soggetto degli eventi avversi al follow-up a breve e lungo termine (3 e 5 anni) in pazienti in trattamento con inibitori di PCSK9 confrontandoli tra loro.
4. Quantificazione economica dei trattamenti farmacologici per l'ipercolesterolemia con inibitori di PCSK9 con analisi svolte mensilmente.

Obiettivi secondari

1. Miglioramento del profilo lipidico in pazienti in trattamento con inibitori di PCSK9 confrontandoli tra loro al follow-up a breve e lungo termine.
2. Monitoraggio dell'aderenza e persistenza alla terapia farmacologica per l'ipercolesterolemia in pazienti in trattamento con inibitori di PCSK9 confrontandoli tra loro. In particolare, verrà determinato in ciascun paziente il rapporto tra la dose effettivamente assunta e la dose teorica prescritta (analisi dell'aderenza). Inoltre, verrà studiata la durata di trattamento con PCSK9 inibitori (analisi della persistenza) tramite tecnica *time-to-event* (identificando in ciascun paziente la prima e l'ultima somministrazione e, conseguentemente la durata di trattamento individuale, suddividendo la casistica in sottogruppi in base al trattamento stesso;

assumendo come censorizzati i casi ancora in trattamento alla data di chiusura di ogni analisi, ovvero includendo nell'analisi anche i soggetti che in tale data risultavano continuare il trattamento farmacologico con gli inibitori di PCSK9 (i quali casi vengono gestiti pertanto come pazienti "censorizzati", ossia "senza evento"). Da tale analisi verrà stimata la durata mediana di trattamento corredata da intervallo di confidenza al 95%; saranno infine esaminate eventuali co-variate capaci di influenzare tale mediana.

Endpoint secondari

1. Variazione percentuale degli altri parametri relativi al profilo lipidico (HDL, Lp(a), trigliceridi, ApoB dal basale al follow-up a breve e lungo termine (3 e 5 anni).
2. Misurazione dell'aderenza e persistenza (definita come la presenza di almeno due prescrizioni e l'assenza di interruzioni di 60 giorni tra la data di una prescrizione più il numero di unità posologiche e la prescrizione successiva) a 1, 3 e 5 anni dall'inizio/rilevazione della terapia.

Disegno dello studio

Il presente è uno studio osservazionale, prospettico, no-profit, multicentrico sull'impiego degli inibitori di PCSK9, volto a valutare il rapporto costo-efficacia e la riduzione degli eventi cardiovascolari maggiori (MACE). I pazienti inclusi nello studio saranno i soggetti con ipercolesterolemia candidabili al trattamento con inibitori di PCSK9. Lo studio prevede l'esecuzione di valutazioni cliniche e di laboratorio, come da normale pratica clinica. Le indicazioni d'uso dei farmaci ipolipemizzanti (ATC C10 Sostanze modificatrici dei lipidi) e il monitoraggio della loro efficacia saranno come da normale pratica clinica, secondo nota 13 AIFA.

I criteri di eleggibilità per l'impiego degli inibitori di PCSK9 saranno in linea con le disposizioni previste dalle apposite delibere regionali.

Le procedure previste dallo studio e il monitoraggio della risposta terapeutica seguiranno la normale pratica clinica, come riportato graficamente nella *Figura 4*. In particolare, in merito alla terapia farmacologica svolta dai pazienti inclusi nel presente studio e monitorati nel tempo prevede:

Terapia standard of care

- Prima scelta: statine. La riduzione attesa di C-LDL dipende dalla potenza della statina somministrata e si attesta approssimativamente tra il 30-50% per una statina a moderata potenza e >50% per una statina ad alta potenza. Il trattamento sarà attuato alla dose terapeuticamente efficace e tollerata di statina verificandone l'aderenza e i tempi di assunzione e ottimizzando altresì la dieta e lo stile di vita.
- Seconda scelta: ezetimibe, farmaco da impiegare in associazione alle statine nel caso in cui non si riesca a raggiungere il target lipidico. L'uso in monoterapia è rimborsato per i pazienti con intolleranza o con controindicazioni all'uso di statine.

Terapia con inibitori di PCSK9

- Terza scelta: i nuovi anticorpi monoclonali devono essere riservati ai pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare omozigote o eterozigote, a rischio cardiovascolare alto o molto alto con valori di C-LDL che si discostano dal valore *target*. Questi farmaci saranno prescrivibili secondo i criteri di eleggibilità e rimborsabilità previsti dal Dipartimento Politiche del Farmaco Regione Toscana e da AIFA.

Tutti i pazienti saranno monitorati nel tempo al fine di raccogliere dati in merito all'efficacia della terapia farmacologica

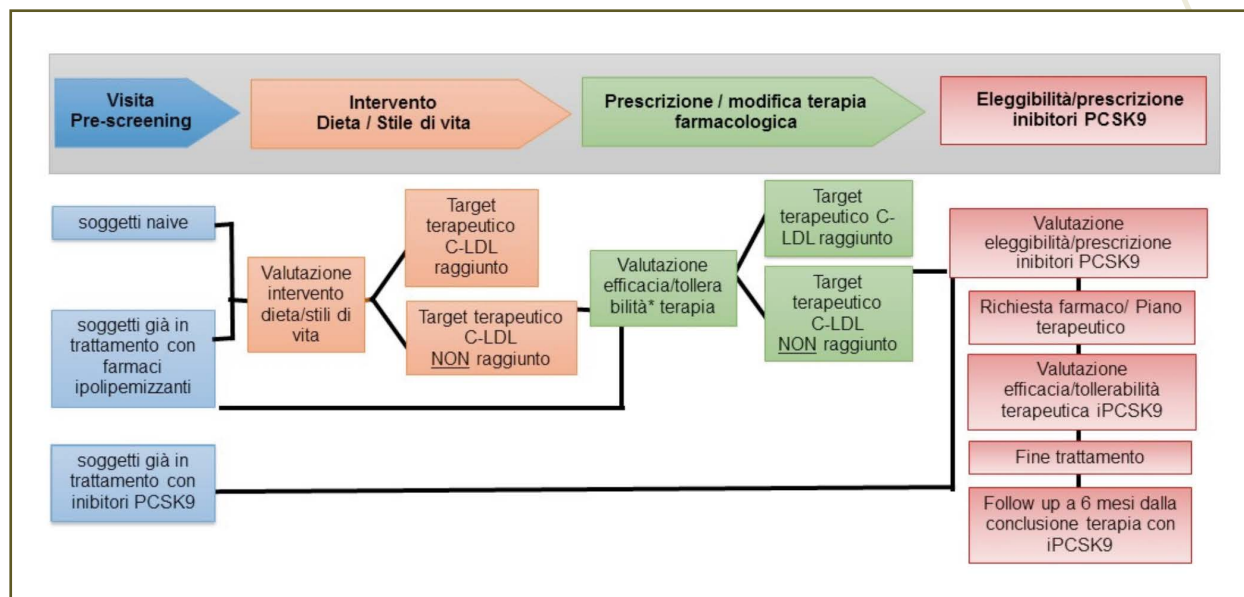


Figura 4 - Disegno di studio. Legenda: *Farmacovigilanza con segnalazione ADR/Intolleranza alle statine; §Questionario EQ-5D.

per l'ipercolesterolemia sia in termini di riduzione di eventi cardiovascolari, sia in termini di raggiungimento del target di C-LDL. Saranno inoltre monitorati attivamente l'aderenza alla terapia, al monitoraggio della spesa e la segnalazione di qualsiasi reazione avversa ai farmaci ipolipemizzanti.

La coorte dei pazienti che non sarà eleggibile al trattamento con gli inibitori di PCSK9 verrà osservata con il supporto di ARS per tutta la durata dello studio.

Dimensioni del campione

Nello studio verranno arruolati circa 9000 soggetti.

Criteri di inclusione:

1. Soggetti di tutti i sessi.
2. Soggetti di età ≥ 12 anni e ≤ 80 anni.
3. Soggetti già in terapia con farmaci per l'ipercolesterolemia primaria o soggetti che potrebbero avere necessità di iniziare il trattamento con farmaci per

l'ipercolesterolemia primaria secondo nota 13 AIFA.

4. Soggetti residenti e seguiti da centri autorizzati in Regione Toscana.
5. Firma del consenso informato.

Criteri di esclusione:

1. Soggetti arruolati in altre sperimentazioni cliniche con farmaci che potrebbero avere un impatto nella determinazione dei livelli di colesterolo LDL.
2. Soggetti che a giudizio del medico potrebbero non risultare *compliant* o avere qualsiasi altro disturbo clinico significativo, condizione o malattia per i quali la partecipazione allo studio potrebbe costituire un rischio per la sicurezza.

Raccolta e analisi dei dati

Lo studio non prevede l'esecuzione di valutazioni cliniche e di laboratorio oltre la normale pratica clinica e quanto richiesto per la valutazione dell'eleggibilità al tratta-

mento farmacologico con i nuovi farmaci per l'ipercolesterolemia primaria e la valutazione dell'efficacia terapeutica e delle eventuali reazioni avverse.

Saranno raccolti nella scheda Case Report Form (CRF) informatizzata i dati relativi alle terapie farmacologiche per l'ipercolesterolemia in atto o da attivare, nonché i dati di aderenza terapeutica, di efficacia e i dati relativi alla farmacovigilanza. Saranno inoltre raccolti i dati relativi ai questionari sulla qualità della vita che saranno completati in occasione delle visite programmate. Saranno rilevati i dati in merito agli eventi cardiovascolari maggiori (MACE), ovvero morte cardiovascolare, infarto acuto del miocardio, rivascolarizzazione coronarica (PCI), periferica o carotidea, angina instabile, *stroke*, angina da sforzo, arteriopatia obliterante periferica.

La metodologia utilizzata per la gestione dello studio e la raccolta dei dati sarà la predisposizione di una piattaforma web che collegherà in rete i centri autorizzati alla prescrizione. Tale piattaforma sarà accessibile per la compilazione di:

- dati clinici: utente medico sperimentatore;
- dati di dispensazione dei farmaci inibitori di PCSK9 prescritti: utente farmacista;
- dati di farmacovigilanza: utente farmacista referente della Farmacovigilanza competente per territorio;
- dati di monitoraggio: utente amministratore Clinical Trial Office/Task Force Aziendale.

La piattaforma web (*Figura 5*) prevede l'invio di *alert* agli utenti abilitati, finalizzato al monitoraggio dell'efficacia terapeutica ed aderenza, qualora si presentassero ritardi temporali nella rivalutazione del paziente (follow-up) oppure nella dispensazione del farmaco prescritto.

I dati raccolti dal presente studio saranno integrati con i dati estrapolati dal database dell'Agenzia Regionale di Sanità della Regione Toscana al fine di descrivere i pazienti con ipercolesterolemia candidabili in Toscana al trattamento con gli inibitori del PCSK9, in termini di caratteristiche al momento dello screening per l'eleggibilità al trattamento e descrivere i pazienti trattati in Toscana con gli inibitori del PCSK9, in termini di caratteristiche al momento dell'inizio del reclutamento. Sarà inoltre descritta, attraverso l'integrazione con i dati di ARS, la coorte di pazienti non eleggibili al trattamento con gli inibitori, in termini di trattamento ipolipemizzante osservato, occorrenza di MACE, eventuale successivo inizio della terapia con inibitori, occorrenza di eventi avversi. Sarà inoltre eseguito il follow-up della coorte dei soggetti trattati, in modo da integrare le informazioni ottenute dalla CRF, con occorrenza di MACE, cessazione della condizione di assistibilità per morte o per emigrazione, occorrenza di eventi avversi.

Durata: Lo studio avrà una durata di 10 anni.

Reazioni avverse: Secondo la legisla-

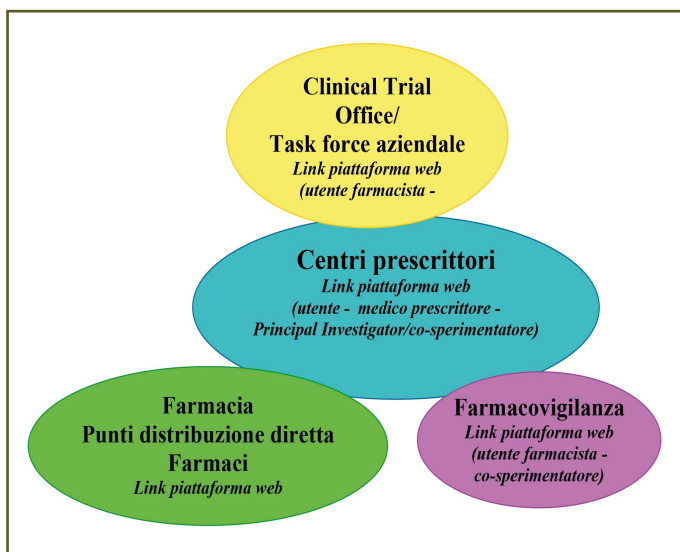


Figura 5 - Schema di Rete tra operatori sanitari (medici e farmacisti) coinvolti nel monitoraggio dell'impiego degli inibitori di PCSK9.

zione vigente qualsiasi Sospetta Reazione Avversa a Farmaco (Adverse Drug Reactions, ADRs), attesa o inattesa, grave o non grave, che si manifesti in seguito all'utilizzo dei farmaci dovrà essere segnalata. Lo sperimentatore riporterà tutte le reazioni avverse compilando la scheda di segnalazione di sospetta reazione avversa, prevista per i farmaci con AIC, direttamente online attraverso il link al sito www.vigifarmaco.it (comunicazione AIFA del 24/02/2017). Questa stessa scheda sarà trasferita nella Rete Nazionale di Farmacovigilanza, previa validazione da parte del Responsabile di Farmacovigilanza dell'Ente di riferimento o Referente Regionale. Per il presente studio è prevista una apposita sezione della CRF dedicata alla Farmacovigilanza, in cui il medico sperimentatore dovrà inoltre compilare dei campi strutturati per descrivere la reazione osservata e poterne estrapolare ed analizzare i dati raccolti. Nella sezione dedicata della CRF il responsabile di Farmacovigilanza dell'Ente di riferimento o Referente Regionale dovranno infine confermare l'avvenuta registrazione della scheda ADR nella Rete Nazionale di Farmacovigilanza.

Aspetti etici: Il desiderio di tutti i pazienti di partecipare allo studio osservazionale verrà rispettato, e verrà richiesto il consenso informato da tutti i pazienti. Il paziente può partecipare (o non partecipare) in maniera autonoma allo studio. La partecipazione allo studio non cambierà e non influenzerà in nessun caso le procedure mediche programmate. In ogni momento il paziente può negare il consenso a continuare lo studio senza addurre una motivazione specifica. Non verrà fatta nessuna discriminazione in termini di genere, razza, orientamento politico e religioso o per le tendenze sessuali. Inoltre, i ricercatori analizzeranno in maniera rigorosa i dati ottenuti e li utilizzeranno in maniera anonima e protetti da una codifica alfanumerica.

I dati del paziente verranno raccolti nella apposita scheda di rilevazione informatizzata (CRF, Case Report Form). L'accesso a tale sistema sarà protetto da login e password fornite agli operatori sanitari coinvolti nella sperimentazione clinica secondo il proprio profilo. I dati individuali saranno informatizzati criptando i dati identificativi del paziente. Il protocollo dello studio è stato esaminato ed approvato dai Comitati Etici competenti per territorio dei centri partecipanti allo studio (i.e. Comitato Etico di Area Vasta Nord-Ovest, Comitato Etico di Area Vasta Centro, Comitato Etico di Area Vasta Sud-Est). Le informazioni contenute nei documenti clinici del paziente saranno trattate nel rispetto del segreto professionale e delle vigenti leggi in materia di tutela dei dati personali (DLvo n.196 del 30/06/2003). La documentazione clinica sarà a disposizione delle autorità sanitarie. I risultati dello studio rimarranno confidenziali e nessun paziente sarà identificabile sulla base dei risultati pubblicati.

Metodi statistici: I dati saranno espressi come media +/- deviazione standard, mediana e range interquartile o proporzione, a seconda della loro distribuzione.

L'efficacia dei diversi trattamenti, e la loro comparazione, sarà studiata con l'impiego delle curve di Kaplan-Meier, considerando l'occorrenza dei principali eventi cardiovascolari. Il confronto tra le curve di Kaplan-Meier sarà eseguito tramite log-rank test. Allo scopo di individuare le associazioni con i fattori di rischio, e di aggiustare i risultati rispetto alle diverse condizioni cliniche mostrate inizialmente da ciascun paziente, sarà calcolata una regressione multivariata sull'intero campione dei soggetti trattati con gli inibitori di PCSK9. Tale regressione sarà calcolata con due distinti approcci metodologici (regressione multivariata di Cox e survival random forest); i risultati di ciascun metodo saranno

confrontati sulla base dell'accuratezza predittiva, calcolata con cross-validazione e curva ROC di sopravvivenza (35). Inoltre, sarà calcolato il numero di eventi occorsi a ciascun paziente durante il follow-up, confrontandolo tra i diversi gruppi di trattamento con un test del chi-quadrato.

Circa i profili dei *biomarker*, registrati longitudinalmente, sarà effettuata un'analisi della varianza a due vie per misure ripetute, seguita dall'opportuno test di post-hoc. Nel caso le distribuzioni risultino non lineari, sarà eseguito il test non-parametrico di Friedman.

I parametri di aderenza alla terapia nei diversi gruppi di trattamento saranno studiati con analisi della varianza ad una via, seguita dall'opportuno test di post-hoc. Nel caso le distribuzioni risultino non lineari, sarà eseguito il test non-parametrico di Kruskal-Wallis o del chi-quadrato.

La persistenza al trattamento sarà valutata tramite le classiche metodiche di analisi della sopravvivenza (36).

Le associazioni tra aderenza (e persistenza al trattamento), e le altre variabili acquisite nel corso dello studio, saranno valutate con un modello generale lineare multivariato, aggiustando i risultati rispetto alle condizioni cliniche pre-trattamento ed alle altre variabili confondenti. I pazienti che, conseguentemente a considerazioni cliniche, cambieranno gruppo di trattamento durante lo studio, saranno esclusi dalle analisi di confronto tra i gruppi.

Non si è proceduto al calcolo del campione, avendo considerato come "pilota" il presente studio.

Tutte le analisi saranno eseguite utilizzando il software statistico R.

Analisi farmacoeconomica: L'EQ-5D è uno strumento ampiamente utilizzato in numerosi paesi (EuroQol Group 1990) ed è disponibile anche in lingua italiana. Dal momento che questo questionario misura

l'utilità, il suo impiego è raccomandato negli studi di valutazione del rapporto di costo/efficacia degli interventi terapeutici. L'EuroQol è un questionario generico sullo stato di salute che include 5 dimensioni: mobilità, cura di sé, attività abituali, dolore e ansia/depressione (33). Per ciascuna dimensione il questionario indaga se il soggetto abbia problemi gravi, problemi moderati o nessun problema. Il questionario include inoltre una scala visiva analogica compresa tra 0 e 100 sulla quale il paziente indica il livello percepito del proprio stato di salute.

Per la valutazione farmacoeconomica i dati saranno analizzati come segue:

1. Calcolo dell'*incremental cost-effectiveness ratio* (ICER) stimato come $(\text{COSTOpz-on-PCSK9} - \text{COSTOpz-senza-PCSK9}) - (\text{QALYpz-PCSK9} - \text{QALYpz-senza-PCSK9})$.
2. Calcolo del *net monetary benefit* assoluto (NMB) per pazienti trattati e non trattati con PCSK9 (dove $\text{NMB} = \text{QALY} \times \text{sogliaWTP} - \text{somma costi}$) e successivo confronto del NMB tra sottogruppi trattati con i diversi principi attivi. Si assume soglia di *willingness-to-pay* = 40mila € per QALY.

Queste analisi verranno svolte anche in itinere a scadenze annuali del follow-up.

Politica per la proprietà e la pubblicazione dei dati: I dati verranno conservati per 15 anni dal termine dello studio. I dati ottenuti con lo studio saranno proprietà dei centri partecipanti. La pubblicazione dei dati derivanti dal presente studio avverrà indipendentemente dai risultati ottenuti. La trasmissione o diffusione dei dati, per il tramite di pubblicazioni scientifiche e/o di presentazione in congressi, convegni e seminari, partecipazione a studi multicentrici, avverrà esclusivamente a seguito di un'elaborazione meramente statistica degli stessi, e comunque in forma assolutamente anonima.

Studio CERTI - Costo Efficacia Regione Toscana terapia inibitori PCSK9

Elenco dei centri partecipanti:

Promotore e Centro Coordinatore:

Fondazione Toscana Gabriele Monasterio

Principal Investigator (centro coordinatore):

Dott. Tiziana Sampietro

Direttore U.O. Lipoaferesi, Centro di riferimento regionale per la diagnosi e il trattamento delle dislipidemie ereditarie, Ospedale San Cataldo Pisa Fondazione Toscana Gabriele Monasterio

Centri Partecipanti e Principal Investigators:

Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi (AOUC)

- Centro: SOD Malattie Aterotrombotiche, Principal Investigator: Rossella Marcucci
- Centro: SOD Diabetologia, Principal Investigator: Edoardo Mannucci

Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana (AOUP)

- Centro: UO Medicina 1 Universitaria, Principal Investigator: Stefano Taddei
- Centro: UO Cardiologia 1 Universitaria, Principal Investigator: Mario Marzilli
- Centro: UO Malattie Metaboliche Diabetologia, Principal Investigator: Stefano Del Prato

Azienda Ospedaliero Universitaria Senese (AOUS)

- Centro: Cardiologia Ospedaliera Principal Investigator: Fabio Furiozzi
- Centro: Cardiologia Universitaria Principal Investigator: Sergio Mondillo
- Centro: Medicina Interna I UOS Fisiopatologia clinica delle Malattie Metaboliche Principal Investigator: Stefano Gonnelli

Azienda USL TOSCANA NORD OVEST

- Centro: UOC Diabetologia e Malattie Metaboliche c/o Presidio Ospedaliero di Livorno Principal Investigator: Graziano Di Cianni
- Centro: UOC Cardiologia c/o il Presidio Ospedaliero di Versilia Principal Investigator: Giancarlo Casolo
- Centro: UOC Nefrologia e Dialisi c/o il Presidio Ospedaliero Cecina, Piombino, Portoferraio, Principal Investigator: Stefano Bianchi

Azienda USL TOSCANA CENTRO

- Centro: SOC Diabetologia - Ambulatorio Dislipidemie PO San Giovanni di Dio, ex Az. USL 10 Firenze, Principal Investigator: Francesco Manetti
- Centro: SOC Cardiologia PO San Giovanni di Dio Querceto Loreno, ex Az. USL 10 Firenze, Principal Investigator: Loreno Querceto
- Centro: SOC Medicina Interna - Ambulatorio Dislipidemie, ex Az. USL 11 Empoli, Principal Investigator: Roberto Tarquini
- Centro: SOC Cardiologia, ex Az. USL 11 Empoli, Principal Investigator: Anna Dell'Elce
- Centro: SOC Medicina Interna - Ambulatorio Dislipidemie PO SS. Cosma e Damiano Pescia, ex Az. USL 3 Pistoia, Principal Investigator: Mila Straniti
- Centro: SOC Cardiologia PO SS. Cosma e Damiano Pescia, ex Az. USL 3 Pistoia, Principal Investigator: Marina Parigi
- Centro: SOC Medicina Interna - Ambulatorio Dislipidemie, ex Az. USL 4 Prato, Principal Investigator: Massimo Di Natale
- Centro: SOC Cardiologia, ex Azienda USL4 Prato, Principal Investigator: Emilio Di Vincenzo

Azienda USL TOSCANA SUD EST

- Centro: U.O. Cardiologia Nottola, ex Az. USL 7 Siena, Principal Investigator: Franco Bui
- Centro: U.O. Cardiologia Arezzo, ex Az. USL 8 Arezzo, Principal Investigator: Leonardo Bolognese
- Centro: U.O. Medicina Interna Arezzo, ex Az. USL 8 Arezzo, Principal Investigator: Luigi Nocentini
- Centro: U.O. Cardiologia Grosseto, ex Az. USL 9 Grosseto, Principal Investigator: Ugo Limbruno

Enti partecipanti (analisi dei dati)

Agenzia di Sanità Toscana, ARS (Rosa Gini, Giuseppe Roberto)
Health Technology Assessment della Regione Toscana, HTA (Andrea Messori)
Fondazione Toscana Gabriele Monasterio, U.O. Bioingegneria (Andrea Ripoli)

RIASSUNTO

Premesse. Gli inibitori della proproteina convertasi subtilisina/Kexin di tipo 9 (PCSK9) sono stati recentemente approvati per ridurre il colesterolo delle lipoproteine a bassa densità nell'ipercolesterolemia familiare eterozigote (FH) o nelle malattie cardiovascolari aterosclerotiche, specialmente nei pazienti in cui l'attuale terapia standard non è tollerata o inefficace. Tuttavia, il loro effetto a lungo termine e il rapporto costo-efficacia non sono stati ancora ben definiti.

Scopo dello studio. Valutare, a livello regionale, la sicurezza, la tollerabilità e l'effetto sulla spesa sanitaria italiana degli inibitori del PCSK9.

Disegno dello studio. Questo studio osservazionale, prospettico, *no-profit* sarà condotto in 24 siti toscani. Coinvolgerà 9000 pazienti idonei al trattamento con inibitori del PCSK9 secondo i criteri dell'Agenzia italiana per i farmaci (AIFA) e dovrebbe durare 10 anni.

Questo protocollo raccoglierà, attraverso un modulo di segnalazione elettronica dei casi, i seguenti dati: 1) efficacia del costo degli inibitori del PCSK9 a 3-5 anni, 2) efficienza nella riduzione delle LDL, 3) registrazione dei principali eventi cardiovascolari, 4) monitoraggio dell'adesione a terapia, 5) informazioni sulla farmacovigilanza.

Conclusioni. Questo studio offre l'opportunità di creare una rete per raccogliere e integrare le informazioni sugli inibitori del PCSK9 in riferimento alle prescrizioni e al rapporto costo-efficacia.

Keywords: *Studio costo-efficacia, PCSK9 inibitori, ipercolesterolemia familiare, aderenza alla terapia, prevenzione cardiovascolare.*

Bibliografia

- Hudson V. The dyslipidaemia market. *Nat Rev Drug Discov.* 2014; 13: 807-808.
- Banach et al. Statin-Intolerance - an attempt at a unified definition. Position paper from an International Lipid Expert Panel. *Arch Med Sci.* 2015; 1: 1-23.
- Mampuya WM, et al. Treatment strategies in patients with statin intolerance: the Cleveland clinic experience. *Am Heart J.* 2013; 166: 597-603.
- Robinson JG, et al. Effect of evolocumab or ezetimibe added to moderate- or high-intensity statin therapy on LDL-C lowering in patients with hypercholesterolemia the LAPLACE-2 randomized clinical trial. *JAMA.* 2014; 311: 1870-1882.
- Blom DJ, et al. A 52-Week Placebo-Controlled Trial of Evolocumab in Hyperlipidemia. *NEJM.* 2014; 370: 1809-1819.
- Raal PFJ, et al. PCSK9 inhibition with evolocumab (AMG 145) in heterozygous familial hypercholesterolaemia (RUTHERFORD-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2015; 385: 331-340.
- Sabatine MS, et al. Efficacy and Safety of Evolocumab in Reducing Lipids and Cardiovascular Events. *NEJM.* 2015; 372: 1500-1509.
- JJP, et al. ODYSSEY FH I and FH II: 78 week results with alirocumab treatment in 735 patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur Hearht J.* 2015; 36: 2996-3003.
- Ginsberg HN, Rader DJ, Raal FJ, Guyton JR, Baccara-Dinet MT, Lorenzato C, Pordy R, Stroes E. Efficacy and Safety of Alirocumab in Patients with Heterozygous Familial Hypercholesterolemia and LDL-C of 160 mg/dl or Higher. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2016; 30: 473-483.
- Kereiakes DJ, et al. Efficacy and safety of the proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibitor alirocumab among high cardiovascular risk patients on maximally tolerated statin therapy: The ODYSSEY COMBO I study. *Am Hearht J.* 2015; 169: 906-15.e13.
- Cannon CP, et al. Efficacy and safety of alirocumab in high cardiovascular risk patients with inadequately controlled hypercholesterolaemia on maximally tolerated doses of statins: the ODYSSEY COMBO II randomized controlled trial. *Eur Hearht J.* 2015; 36: 1186-1194.
- Robinson JG, et al. Efficacy and Safety of Alirocumab in Reducing Lipids and Cardiovascular Events. *NEJM.* 2015; 372: 1489-1499.
- Bays H, et al. Alirocumab as Add-On to Atorvastatin Versus Other Lipid Treatment Strategies: ODYSSEY OPTIONS I Randomized Trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015; 100: 3140-3148.
- Farnier M, et al. Efficacy and safety of adding alirocumab to rosuvastatin versus adding ezetimibe or doubling the rosuvastatin dose in high cardiovascular-risk patients: The ODYSSEY OPTIONS II randomized trial. *Atherosclerosis.* 2016; 244: 138-146.

15. Koren MJ, et al. Anti-PCSK9 Monotherapy for Hypercholesterolemia The MENDEL-2 Randomized, Controlled Phase III Clinical Trial of Evolocumab. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63: 2531-2540.
16. Roth EM, et al. Monotherapy with the PCSK9 inhibitor alirocumab versus ezetimibe in patients with hypercholesterolemia: Results of a 24 week, double-blind, randomized Phase 3 trial. *Int J Cardiol*. 2014; 176: 55-61.
17. Stroes E, et al. Anti-PCSK9 Antibody Effectively Lowers Cholesterol in Patients With Statin Intolerance. The GAUSS-2 Randomized, Placebo-Controlled Phase 3 Clinical Trial of Evolocumab. *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63: 2541-2548.
18. Nissen SE, et al. Efficacy and tolerability of evolocumab vs ezetimibe in patients with muscle-related statin intolerance. The GAUSS-3 randomized clinical trial. *JAMA*. 2016; doi:10.1001/jama. 2016; 3608.
19. Nissen SE, et al. Comparison of PCSK9 inhibitor evolocumab vs ezetimibe in statin-intolerant patients: design of the goal achievement after utilizing an anti-PCSK9 antibody in statin-intolerant subjects 3 (GAUSS-3) trial. *Clin Cardiol*. 2016; 39: 137-144.
20. Moriarty PM, et al. Efficacy and safety of alirocumab vs ezetimibe in statin-intolerant patients, with a statin rechallenge arm: The ODYSSEY ALTERNATIVE randomized trial. *Journal of Clinical Lipidology*. 2015; 9: 758-769.
21. Langslet G, et al. Evolocumab (AMG 145) for primary hypercholesterolemia. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2015; 13: 477-488.
22. Schwartz GG, et al. Effect of alirocumab, a monoclonal antibody to PCSK9, on long-term cardiovascular outcomes following acute coronary syndromes: rationale and design of the ODYSSEY outcomes trial. *Am Heart J*. 2014; 168: 682-689.
23. Cornier MA, Eckel RH. Non-traditional dosing of statins in statin-intolerant patients – Is it worth a try? *Curr Atheroscler Rep*. 2015; 17: 475.
24. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Atherosclerosis*. 2012; 32: 1769-1818.
25. Stroes ES et al. Statin-associated muscle symptoms: impact on statin therapy – European atherosclerosis society consensus panel statement on assessment, aetiology and management. *European Heart J*. 2015; 36: 1012-1022.
26. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, Kuder JF, Wang H, Liu T, Wasserman SM, Sever PS, Pedersen TR; FOURIER Steering Committee and Investigators. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017; 376: 1713-1722.
27. Catapano AL, Graham I, De Backer G. et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016; 37: 2999-3058.
28. Modifica alla Nota 13 di cui alla determina del 26 marzo 2013 (GU n. 156 del 8.07.2014).
29. CTT Collaboration. Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and woman: meta-analysis of individual data from 174000 participants in 27 randomised trials. *Lancet*. 2015; 385: 1397-1405.
30. Stone NJ, et al. Treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular disease risk in adults: synopsis of the 2013 American College of Cardiology/American Heart Association cholesterol guideline. *Ann Inter Med*. 2014; 160: 339-343.
31. Cannon CP, et al. Ezetimibe added to statin therapy after acute coronary syndromes. *NEJM*. 2015; 372: 2387-2397.
32. Chowdhury R, et al. Adherence to cardiovascular therapy: a meta-analysis of prevalence and clinical consequences. *Eur Heart J*. 2013; 34: 2940-2948.
33. EuroQol Group. EuroQol—a new facility for the measurement of health-related quality of life. *Health Policy*. 1990; 16: 199-208.
34. Hunink MG, Weinstein MC, Wittenberg E, Pliskin P, Glasziou MF, Drummond JBW. *Decision Making in Health and Medicine*. Cambridge University Press. 2014.
35. Heagerty PJ, Zheng Y. Survival model predictive accuracy and ROC curves. *Biometrics*. 2005; 61: 91-105.
36. Marubini E, Valsecchi MG, Emmerson M, Analysing Survival Data from Clinical Trials and Observational Studies. John Wiley & Sons, 1995, New-York.
37. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria. 2013. <http://www.R-project.org/>

MECCANISMI DI TERAPIA

CETP ED ATEROSCLEROSI: UNA RELAZIONE CONTROVERSA IN ATTESA DI SOLUZIONI TERAPEUTICHE

CETP and atherosclerosis: a controversial relationship waiting for therapeutic solutions

**GIUSEPPE BATORI, VANESSA BIANCONI, MASSIMO RAFFAELE MANNARINO,
MATTEO PIRRO**

Medicina Interna, Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Perugia

SUMMARY

In an attempt to elucidate the anti-atherogenic effects of HDLs, a multitude of protective properties of this class of lipoproteins have been identified. Among the others, HDLs are known to exert antioxidant, antithrombotic and anti-inflammatory effects and mediate the reverse cholesterol transport (RCT) from the periphery (including the arterial wall) to the liver and other organs. CETP is an enzyme that, produced in the liver and adipose tissue and associated mainly with circulating HDLs, promotes the transfer of cholesterol esters from HDLs to apolipoprotein B-containing particles (mostly VLDL and LDL) in exchange for triglycerides. There are elements to think that CETP can exert both anti-atherogenic and pro-atherogenic activities. CETP can be seen as an enzyme facilitating the flow of cholesterol to the liver, through the so-called indirect route of RCT, which sees in lipoproteins containing apolipoprotein B the vehicle of cholesterol towards the liver receptors and the excretion of cholesterol through the bile. However, this action is also directly responsible for the decrease of HDL cholesterol levels, to which pro-atherogenic significance is known to be attributed. Although Mendelian randomization studies seem to attribute a pro-atherogenic role to CETP, randomized clinical trials with CETP inhibitors have not produced exciting results. A more careful interpretation of the data currently available on the meaning of CETP in different clinical and experimental settings is therefore necessary to better design therapeutic devices that may modulate the activity of CETP and at the same time produce a favourable impact on cardiovascular risk.

Keywords: *CETP; HDL cholesterol; atherosclerosis; reverse cholesterol transport*

Indirizzo per la corrispondenza

Matteo Pirro, MD, PhD
Section of Internal Medicine, Angiology and
Arteriosclerosis Diseases
University of Perugia, Perugia, Italy
Hospital "Santa Maria della Misericordia"
Piazzale Menghini, 1 – 06156, Perugia, Italy
E-mail: matteo.pirro@unipg.it

Introduzione

La proteina di trasferimento degli esteri di colesterolo (CETP) facilita lo scambio di trigliceridi ed esteri del colesterolo tra HDL e lipoproteine contenenti apolipoproteina B (apoB) (1). Questo processo di

trasferimento bidirezionale lipidico è fondamentale nell'uomo per avviare gli esteri del colesterolo ai cosiddetti siti catabolici. Il sistema CETP è generalmente caratteristico delle specie animali superiori; le specie inferiori non sono dotate di questo sistema (1), per tale ragione, queste ultime hanno maggiori quantità di HDL, di dimensioni maggiori ed arricchite in apolipoproteina E (apoE), necessaria all'interazione delle stesse HDL con i recettori dei tessuti periferici.

Da quando CETP è stata identificata per la prima volta le opinioni sul suo presunto ruolo pro- o anti-aterogeno sono risultate assai contrastanti (2). Secondo alcuni CETP svolge un'azione primariamente anti-aterogena in virtù della sua capacità di promuovere il trasporto inverso del colesterolo (RCT), la via attraverso cui il colesterolo nei tessuti periferici viene trasportato nel fegato per l'eliminazione biliare (2). Questo percorso comporta una captazione iniziale del colesterolo cellulare periferico da parte delle HDL, all'interno delle quali il colesterolo viene esterificato prima di essere trasferito dalla CETP alle lipoproteine contenenti apoB. Gli esteri di colesterolo nel pool VLDL/LDL vengono successivamente "consegnati" al fegato e infine eliminati attraverso la bile. Pertanto, nella misura in cui la CETP promuove RCT, può essere considerata un fattore anti-aterogeno (2). Tuttavia, il fatto che CETP trasferisca esteri di colesterolo da lipoproteine anti-aterogene (HDL) a lipoproteine potenzialmente aterogene (VLDL/LDL) implica che l'azione di CETP possa tradursi nella promozione della malattia aterosclerotica (2). La situazione è ulteriormente complicata da una serie di osservazioni secondo cui le proprietà anti-infiammatorie delle HDL, i cui livelli sono ridotti dalla CETP, dipendono dalla concentrazione stessa delle HDL. Pertanto, la

riduzione CETP-mediata dei livelli di HDL colesterolo e la conseguente perdita della funzione anti-infiammatoria di queste lipoproteine possono contribuire alla aterogenicità di CETP (3). Teoricamente CETP può quindi svolgere tanto azioni anti- che pro-aterogene. Questo dilemma ormai assai datato non è stato risolto neppure da studi più recenti, dai quali sono emerse prove a sostegno sia del ruolo pro- che anti-aterogeno.

Studi genetici e di randomizzazione Mendeliana hanno mostrato che varianti polimorfiche del gene *CETP* si associano a livelli aumentati di colesterolo HDL, riduzione dei livelli di colesterolo LDL e minor rischio di sviluppare malattia coronarica aterosclerotica (4-10). Questi dati, unitamente ad una serie di risultati prodotti in studi sperimentali nei modelli animali ed osservazionali nell'uomo, hanno suggerito che l'inibizione farmacologica della CETP potesse essere utile per la prevenzione del rischio cardiovascolare.

Bullet Points

- CETP media il trasporto bidirezionale di colesterolo esterificato e trigliceridi tra HDL e lipoproteine contenenti apolipoproteina B, svolgendo un ruolo chiave nel trasporto inverso del colesterolo.
- L'attività di CETP, nella misura in cui promuove il trasporto inverso del colesterolo, può essere considerata anti-aterogena.
- CETP arricchisce di esteri di colesterolo le lipoproteine contenenti apolipoproteina B e limita il potere anti-infiammatorio delle HDL, potendo quindi esercitare anche un'azione pro-aterogena.
- Studi genetici e di randomizzazione Mendeliana hanno mostrato che varianti polimorfiche del gene *CETP* associate ad aumentati livelli di HDL colesterolo determinano minor rischio di sviluppare malattia coronarica aterosclerotica.
- Trials clinici randomizzati controllati con CETP-inibitori hanno dimostrato che l'inibizione farmacologica di CETP non offre un beneficio cardiovascolare tale da supportarne l'impiego nella pratica clinica.

Ad oggi, 4 inibitori della CETP sono entrati nella fase 3 della sperimentazione su esiti clinici cardiovascolari (11-15). Lo sviluppo clinico del torcetrapib è stato interrotto a causa degli imprevisti effetti sfavorevoli del farmaco che hanno condotto ad un aumentato rischio di morte nel gruppo in trattamento attivo dello studio ILLUMINATE (The Investigation of Lipid Level Management to Understand its Impact in Atherosclerotic Events Outcomes) (11-15). I trial clinici con dalcetrapib ed evacetrapib sono stati interrotti precocemente per futilità (11, 13, 14). Nello studio REVEAL (Randomized Evaluation of the Effects of Anacetrapib through Lipid modification), l'anacetrapib, pur raddoppiando i livelli di colesterolo HDL e riducendo quelli di colesterolo non-HDL, ha prodotto una modesta riduzione degli eventi cardiovascolari maggiori, mostrando altresì un inatteso accumulo nel tessuto adiposo (11, 15). Ad oggi, nonostante le premesse fisiopatologiche e genetiche promettenti, l'inibizione di CETP offre un beneficio cardiovascolare insufficiente per l'impiego nella pratica clinica.

Solo una più attenta interpretazione cumulativa dell'enorme mole di dati, nei diversi *setting* sperimentali e clinici, che cercano di rispondere al quesito riguardante l'azione pro-aterogena od anti-aterogena di CETP, potrà fornire spunti decisivi per lo sviluppo di farmaci modulanti l'attività di questo enzima enigmatico.

CETP e trasporto inverso del colesterolo

Il meccanismo attraverso cui le HDL svolgono la propria azione anti-aterogena è rappresentato principalmente dall'RCT, già ipotizzato alla fine degli anni Sessanta (1). Nello specifico, l'RCT rappresenta la via attraverso cui il colesterolo viene ri-

mosso dai tessuti e veicolato al fegato (*Figura 1*) per essere successivamente eliminato nelle feci attraverso la bile. La via di trasporto in oggetto risulta determinante per regolare l'omeostasi cellulare del colesterolo (16).

Nel contesto dell'aterosclerosi, bersagli cellulari preminenti dell'RCT sono le cellule presenti nello spessore della parete arteriosa, in particolare i macrofagi e, in misura minore, le cellule muscolari lisce vascolari intimali e quelle endoteliali (16). I macrofagi devono il proprio contenuto di colesterolo sia alla sintesi *de novo* che alla fagocitosi di detriti lipidici contenuti o rilasciati da cellule apoptotiche (16). Il sovraccarico macrofagico di colesterolo, presente per lo più in forma non esterificata, promuove alterazioni funzionali e strutturali delle cellule macrofagiche, contribuendo alla loro morte apoptotica (17). La cellula macrofagica, come meccanismo di difesa contro la "tossicità" indotta dall'accumulo di colesterolo libero, utilizza il processo di esterificazione del colesterolo stesso attraverso l'intervento dell'enzima acyl-coenzima A: cholesterol acyltransferase-1 (ACAT1), con conseguente accumulo di colesterolo esterificato in gocce lipidiche intra-citoplasmatiche (2). In aggiunta a quanto descritto, la cellula macrofagica è in grado di indirizzare parte del colesterolo non esterificato, proveniente tra l'altro anche dall'idrolisi delle gocce lipidiche sopra descritte (16), al di fuori della cellula; questo meccanismo di estrusione del colesterolo si realizza attraverso l'azione di trasportatori ATP-dipendenti della famiglia ABC, in particolare ATP binding-cassette transporter 1 (ABCA1) e ATP binding-cassette transporter G1 (ABCG1), la cui trascrizione è stimolata dal fattore di trascrizione sensibile agli steroli liver X receptor (LXR), a sua volta attivato dall'eccesso di colesterolo intra-cellulare (2).

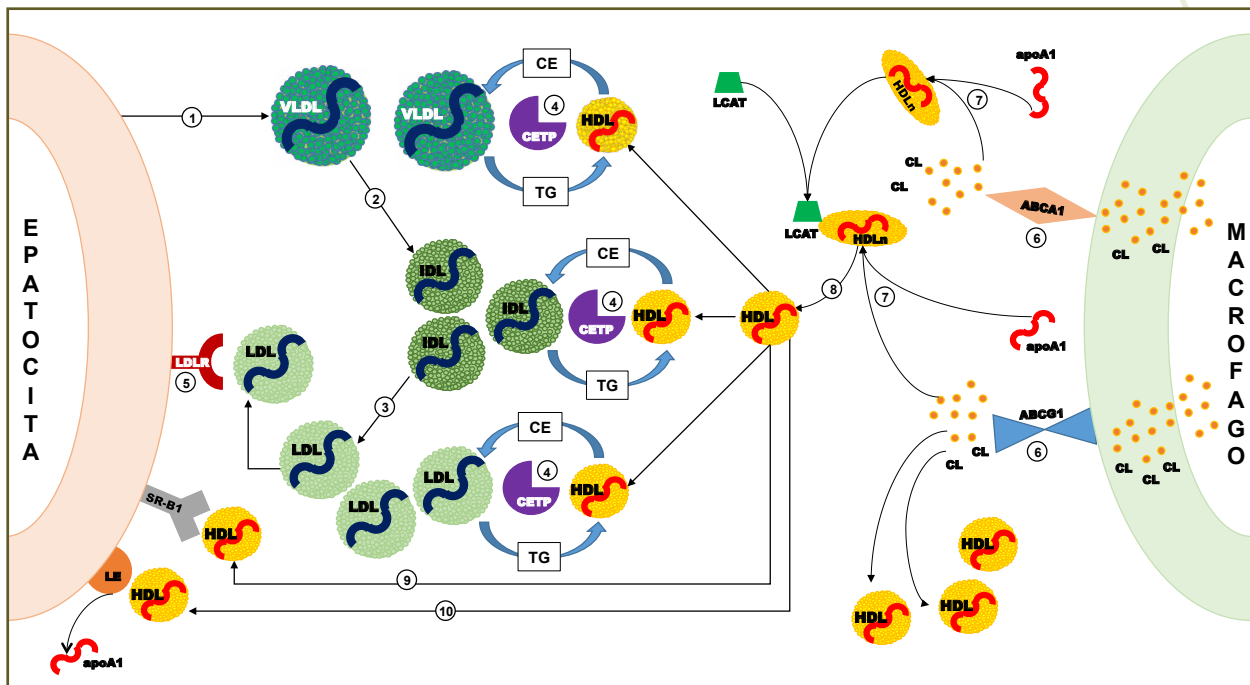


Figura I - CETP e trasporto inverso del colesterolo. Le VLDL sono sintetizzate dalla cellula epatica ed immesse nel circolo ematico (1). Le VLDL vengono convertite ad opera della lipasi lipoproteica in IDL (2) e successivamente in LDL (3). CETP trasferisce trigliceridi (TG) da VLDL, IDL ed LDL alle HDL in cambio di colesterolo esterificato (CE) (4). A seguito dell'azione di CETP, le LDL arricchite in colesterolo esterificato vengono captate dal fegato attraverso l'LDLR (via "indiretta" del trasporto inverso del colesterolo) (5). I macrofagi sono in grado di estrudere parte del colesterolo non esterificato attraverso trasportatori ATP-dipendenti della famiglia ABC (ABCA1 e ABCG1) (6). L'apoA1 delipidata agisce da accettore extra-cellulare di colesterolo non esterificato proveniente dai macrofagi, contribuendo alla formazione delle HDL native (HDLn) immature (7). Il colesterolo non esterificato delle HDL native viene sottoposto ad esterificazione da parte di LCAT, processo che porta alla formazione delle HDL mature (8). Le HDL mature in circolo possono seguire diversi destini: essere sottoposte all'attività enzimatica di CETP, che le impoverisce di colesterolo esterificato e le arricchisce di trigliceridi provenienti dalle lipoproteine contenenti apoB (4); interagire con il recettore SR-B1 epatocitario, che promuove l'uptake selettivo di colesterolo esterificato dalle HDL stesse risparmiandone le componenti proteiche, quali apoA1 (via "diretta" del trasporto inverso del colesterolo) (9); essere rimodellate dalla lipasi epatica (LE) e rilasciare apoA1 delipidata, nuovamente pronta per un nuovo ciclo di trasporto inverso del colesterolo (10).

ABCA1 e ABCG1, nel contesto dell'RCT, rivestono un ruolo chiave e critico nella fase di efflusso cellulare del colesterolo, in particolare a livello delle placche aterosclerotiche, come testimoniato dall'accelerazione del processo aterosclerotico nei topi che ne sono deficitari (18). ABCA1 regola la fuoriuscita di colesterolo non esterificato e fosfolipidi dalla cellula verso l'accettore extra-cellulare costituito dall'apolipoproteina A1 (apoA1), ancora

povera di lipidi o "delipidata" (18), contribuendo alla formazione delle HDL immature di forma discoidale. Il colesterolo non esterificato nelle HDL immature viene sottoposto ad esterificazione da parte di lecitina cholesterol acyltransferase (LCAT) con acquisizione di proprietà idrofobiche e conseguente internalizzazione nel core delle HDL, che acquisisce progressivamente la propria forma matura sferica (18). Le HDL mature possono acquisire ulteriore

colesterolo non esterificato dalle cellule macrofagiche attraverso ABCG1 (19).

Le HDL mature, arricchite di colesterolo esterificato, raggiungono il fegato ed altri tessuti steroidogenici (es. surrene e gonadi), dove si realizza l'interazione con il recettore scavenger receptor class B type 1 (SR-B1); questo processo è facilitato dal rimodellamento lipoproteico prodotto dalla idrolisi di trigliceridi e fosfolipidi da parte delle lipasi epatica ed endoteliale (20, 21). SR-B1 promuove l'*uptake* selettivo di colesterolo dalle HDL risparmiandone le componenti proteiche, quali apoA1, che risultano così rigenerate e pronte per un nuovo ciclo di trasporto inverso (2).

La suddetta modalità di circolazione del colesterolo viene descritta come via "diretta" (HDL-SR-B1) dell'RCT. RCT contempla anche una seconda via "indiretta" di trasporto del colesterolo; il colesterolo esterificato può essere infatti trasferito dalle HDL alle lipoproteine contenenti apoB (VLDL e LDL) in scambio con i trigliceridi (16). Artefice di questo trasferimento bidirezionale di lipidi è l'enzima CETP, glicoproteina plasmatica di 74 KDa (3) prevalentemente associata alle HDL (22) e facente parte della famiglia delle *lipid transfer proteins (LTPs)/lipopolysaccharide binding proteins (LBP)*.

CETP è composta da 476 amminoacidi, codificata nel cromosoma 16 e prodotta nei mammiferi prevalentemente nel fegato (2). La trascrizione del gene *CETP* è sotto il controllo di diversi fattori intrinseci ed estrinseci, quali l'incremento dei livelli del colesterolo e degli acidi biliari, rispettivamente attraverso l'azione dei fattori di trascrizione LXR e farnesoid X receptor (FXR) (23, 24).

Il trasferimento bidirezionale dei lipidi mediato da CETP consta di due meccanismi principali (3). Nel primo meccanismo CETP funge da "navetta" per i lipidi, scon-

trandosi casualmente e ripetutamente con le lipoproteine e determinando quindi lo scambio di trigliceridi e colesterolo esterificato nel contesto del complesso formatosi tra CETP e le diverse lipoproteine (3). Nel secondo meccanismo, invece, si assiste allo scambio di molecole lipidiche attraverso la formazione di un ponte tra CETP, HDL e lipoproteine contenenti apoB; tale scambio si basa sulla presenza di un peculiare tunnel centrale continuo nella struttura di CETP (3).

A seguito dell'azione di CETP, le VLDL e le LDL arricchite in colesterolo esterificato vengono captate dal fegato attraverso il recettore per le LDL (LDLR), configurando quindi la via "indiretta" del trasporto inverso del colesterolo (HDL-LDL/VLDL-LDLR) (2, 16). L'idrolisi delle HDL arricchite in trigliceridi mediata della lipasi epatica (2) contribuisce al rimodellamento delle HDL ed alla generazione di apoA1 povera in lipidi e fruibile per ulteriori cicli di RCT.

La tappa finale dell'RCT prevede l'eliminazione fecale del colesterolo attraverso due vie principali:

- la via epato-biliare, responsabile di circa il 65% dell'eliminazione fecale di colesterolo, che consiste nella idrolisi del colesterolo esterificato e nella successiva escrezione del colesterolo libero nei canalicoli biliari attraverso i trasportatori ATP binding cassette G5 (ABCG5) e ATP binding cassette G8 (ABCG8), direttamente o previa conversione ad acido biliare (16);
- la via di efflusso del colesterolo trans-intestinale (TICE) che prevede l'eliminazione diretta di colesterolo plasmatico nel lume intestinale attraverso gli stessi trasportatori presenti nella via epato-biliare (21) e che risulta responsabile della restante (35%) quota di eliminazione del colesterolo (25).

Altre funzioni di CETP

Il ruolo determinante di CETP nel trasporto inverso di colesterolo ed il suo potenziale impatto sulla storia naturale della malattia aterosclerotica ha portato ad importanti progressi nello studio delle funzioni biologiche di CETP.

Le HDL, oltre ad occupare un ruolo centrale nell'RCT, partecipano alla modulazione della risposta immunitaria innata grazie alla loro capacità di sequestrare lipidi patogeni quali il lipopolisaccaride (LPS) e neutralizzarli attraverso l'eliminazione epatica (26). Studi sperimentali su topi transgenici per *CETP* umano attribuirebbero a quest'ultima molecola un ruolo protettivo nell'immunità innata; infatti, CETP sarebbe in grado sia di promuovere il sequestro di LPS da parte di HDL e LDL e la sua successiva eliminazione epatica attraverso LDLR e SR-B1 (27), sia di ridurre il rilascio di citochine pro-infiammatorie indotte da LPS (28). Studi effettuati sull'uomo suggeriscono invece maggiore cautela nel valorizzare il potenziale ruolo anti-infiammatorio di CETP. In particolare, in uno studio prospettico condotto in pazienti ospedalizzati con sepsi severa, è stata apprezzata una relazione diretta tra la riduzione dei livelli di CETP occorsa durante i primi giorni della sepsi e la mortalità (29). Tuttavia, un secondo studio indica come il guadagno nella funzione biologica sottesa a varianti polimorfiche di CETP sembrerebbe determinare una maggiore riduzione dei livelli di HDL in corso di sepsi facendo venir meno il ruolo protettivo svolto da queste lipoproteine e riducendo i tassi di sopravvivenza (30).

CETP viene espresso anche dagli adipociti presenti nel tessuto adiposo sottocutaneo. In questi promuove in modo significativo l'*uptake* e quindi il deposito di colesterolo via HDL (31), svolgendo un

ruolo importante nell'omeostasi del rapporto colesterolo/trigliceridi all'interno degli adipociti stessi (2). Studi sul ruolo dei polimorfismi di *CETP* nella modulazione dell'espansione del grasso viscerale hanno dimostrato che elevati livelli di CETP esercitano un ruolo protettivo in condizioni di sovr-alimentazione (32) e sono inversamente proporzionali ai principali *markers* di adiposità (2). Seppure le basi biochimiche dell'effetto anti-adipogenico di CETP non siano state ancora del tutto chiarite, sembrerebbe che parte di questo effetto sia mediato dal trasporto preferenziale CETP-mediato degli acidi grassi non esterificati verso il fegato a discapito del tessuto adiposo ed al concomitante accumulo di colesterolo negli adipociti con contestuale incremento del rapporto colesterolo/trigliceridi (2).

Elevati livelli di colesterolo sono spesso correlati ad un'aumentata produzione di β -amiloide, componente fondamentale nell'eziopatogenesi della malattia di Alzheimer (33). In tale contesto, le HDL sembrano svolgere un ruolo protettivo nei confronti della malattia di Alzheimer visto che livelli più alti di HDL colesterolo risultano inversamente correlati al rischio di sviluppare demenza e malattia di Alzheimer (34). Poiché CETP interviene attivamente nella modulazione dei livelli di HDL colesterolo, si è cercato di definire il suo ruolo nella storia naturale del deterioramento cognitivo e della malattia di Alzheimer. A tale riguardo si è visto che diversi polimorfismi di *CETP* mostrano una relazione inversa o diretta con il rischio di sviluppare malattia di Alzheimer e deterioramento cognitivo; il contributo delle varianti geniche di *CETP* sembra essere fortemente dipendente dall'espressione dell'isoforma $\epsilon 4$ di apoE, principale fattore predisponente allo sviluppo della malattia di Alzheimer (35).

CETP: effetti pro-aterogeni

CETP, per la sua azione biologica nel metabolismo delle lipoproteine e nel trasporto inverso del colesterolo, è stato oggetto di numerosi studi sperimentali nei diversi modelli animali e nell'uomo al fine di definirne il suo ruolo nel processo aterosclerotico e cercare di delineare nuove strategie terapeutiche finalizzate a ridurre il rischio di malattie cardiovascolari su base aterosclerotica.

Il ruolo "fisiologicamente" attribuibile a CETP è quello pro-aterogeno (*Tabella 1*). CETP determina infatti una riduzione nella concentrazione plasmatica di HDL colesterolo e quindi un decremento nel trasporto HDL-mediato di colesterolo al fegato, inficiando quindi la funzione atero-protettiva svolta dalle HDL e dalla cosiddetta via "diretta" del trasporto inverso di colesterolo (21). Inoltre, l'arricchimento di colesterolo esterificato, mediato da CETP, delle lipoproteine contenenti apoB è in grado di promuovere un aumentato trasporto dello stesso colesterolo verso i tessuti periferici, tra cui la parete dei vasi (2). Si è visto che l'effetto pro-aterogeno di CETP mediato

dall'incremento di lipoproteine contenenti apoB si realizzerebbe per lo più in presenza di alterazioni di LDLR (2, 36). Il quadro che si viene dunque a configurare è quello di un inefficace RCT, con parte del colesterolo catturato in periferia dalle HDL che sarebbe veicolato ai tessuti periferici ed alla parete arteriosa ad opera delle lipoproteine contenenti apoB arricchite in colesterolo proprio dall'azione di CETP (21).

Altri studi mostrano che CETP svolgerebbe un'ulteriore azione pro-aterogena promuovendo l'arricchimento in colesterolo esterificato delle VLDL; queste lipoproteine, arricchite in esteri del colesterolo, diverrebbero un substrato meno appetibile per la lipasi lipoproteica, con conseguente aumento di permanenza ed accumulo in circolo di queste lipoproteine (2). Le VLDL ricche in colesterolo esterificato ed i loro *remnant* diverrebbero quindi substrato per la lipasi epatica, contribuendo insieme all'arricchimento delle LDL in trigliceridi mediata da CETP, alla formazione di LDL piccole e dense (sdLDL) (37). Le sdLDL rappresentano una classe di LDL particolarmente aterogena, in virtù della loro spiccata capacità di penetrare la pa-

Tabella 1 – Azione pro-aterogena versus anti-aterogena di CETP

Azione pro-aterogena	Azione anti-aterogena
↓ Eliminazione del colesterolo esterificato circolante attraverso l' <i>uptake</i> epatico delle HDL (via "diretta" del RCT)	↑ Eliminazione del colesterolo esterificato circolante attraverso l' <i>uptake</i> epatico delle lipoproteine contenenti apoB (via "indiretta" dell' RCT)
↑ Trasporto del colesterolo esterificato circolante ai tessuti periferici attraverso le lipoproteine contenenti apoB (soprattutto se deficit funzionale di LDLR)	↑ Attività di LCAT ed <i>uptake</i> epatico SR-B1 del colesterolo esterificato contenuto nelle HDL
↑ Formazione di sdLDL	↓ Livelli circolanti di LDL ossidate
↑ Clearance renale di apoA1 delipidata	↑ Azione atero-protettiva degli estrogeni
↑ Rischio di eventi cardiovascolari in portatori di varianti polimorfiche di <i>CETP</i> che si associano a ridotti livelli circolanti di HDL colesterolo	↓ Progressione aterosclerotica con l'espressione transgenica di CETP in topi <i>SR-B1-knock-out</i>
↓ Rischio di eventi cardiovascolari in portatori di varianti polimorfiche di <i>CETP</i> che si associano a ridotta attività enzimatica di CETP	↑ <i>Uptake</i> colesterolo esterificato SR-B1 indipendente

rete arteriosa, di permanere stabilmente all'interno della stessa tramite specifiche interazioni con la matrice extra-cellulare, e di essere fortemente suscettibili allo stress ossidativo (21).

Le HDL, impoverite in esteri del colesterolo ed arricchite in trigliceridi a seguito dell'azione di scambio lipidico mediato da CETP, diventano quindi substrato della lipasi epatica con conseguente formazione di HDL piccole e dense e dissociazione di apoA1. Come detto, la apoA1 "delipidata" può essere riutilizzata come accettore di colesterolo in un nuovo ciclo di RCT, ma può anche essere rimossa irreversibilmente attraverso l'escrezione renale (38), contribuendo a diminuire il *pool* di HDL presente nel plasma e, di conseguenza, inficiando gli effetti anti-aterogeni di questa classe di lipoproteine.

Nel topo, in cui fisiologicamente sussiste la mancanza di *CETP*, l'introduzione del gene codificante per CETP aumenta sensibilmente la suscettibilità allo sviluppo di aterosclerosi in funzione della dieta assunta (39); tuttavia, in topi con ipertrigliceridemia la CETP mostrerebbe proprietà anti-aterogene (39). Nel coniglio, in cui a differenza del modello murino la CETP è fisiologicamente espressa, diversi studi mostrano un sostanziale incremento dei livelli di HDL colesterolo ed una parallela riduzione nell'incidenza di placche aterosclerotiche a seguito dell'inibizione dell'attività di CETP attraverso oligonucleotidi antisense o vaccinazione (40).

Nell'uomo sono stati condotti diversi studi che hanno esaminato l'impatto di diversi polimorfismi di *CETP* sul rischio aterosclerotico e cardiovascolare.

Uno studio di associazione *genome wide* (GWAS) condotto in oltre 40.000 individui affetti da patologia coronarica aterosclerotica (CHD) ha identificato una variante di CETP (*rs18000775*) associata ad un mag-

gior rischio di CHD (4). Una meta-analisi di 102 studi che ha incluso 113.833 individui ha mostrato che tre varianti polimorfiche comuni nel *locus* di *CETP* sono associate ad un incremento dei livelli di HDL colesterolo, una riduzione di quelli di LDL colesterolo ed un decremento moderato nel rischio di sviluppare eventi ischemici coronarici (5). Un risultato simile è stato raggiunto in uno studio condotto in oltre 18.000 donne sane in cui sono stati identificati numerosi polimorfismi in grado di influenzare i livelli di HDL colesterolo; tra questi, un polimorfismo di *CETP* in particolare (*rs708272*) è risultato essere associato ad un aumento significativo dei livelli di HDL colesterolo e ad una riduzione consensuale del rischio di infarto miocardico del 24% (6). Una meta-analisi più recente confermerebbe il ruolo del polimorfismo *rs708272* di *CETP* nel determinare una ridotta concentrazione di CETP, un ridotto rischio di infarto miocardico, associato ad un incremento dei livelli di HDL colesterolo ed una riduzione dei livelli di LDL colesterolo (7).

Un ulteriore supporto genetico all'azione pro-aterogena di CETP deriva da due recenti studi. Il primo, svolto in Danimarca, ha incluso 10.261 individui seguiti in un *follow-up* di 34 anni durante il quale sono stati registrati gli eventi cardio- o cerebro-vascolari incidenti. In questo studio due polimorfismi di *CETP* determinanti una ridotta attività dell'enzima sono stati associati ad un profilo lipidico favorevole, una maggiore longevità e ad un minor rischio di sviluppare ictus ischemico, infarto del miocardio e malattia cerebrovascolare ischemica cronica (8). Il secondo studio, una meta-analisi di 12 studi che ha coinvolto 58.649 partecipanti, ha studiato la relazione tra varianti troncate di *CETP* ed il rischio cardiovascolare, mostrando come la perdita di attività dell'enzima si

associati a livelli aumentati di HDL colesterolo e ad una riduzione del 30% del rischio di CHD (9).

CETP: effetti anti-aterogeni

Il ruolo attivo di CETP nel promuovere la malattia aterosclerotica è messo in discussione da una serie di evidenze secondo cui questo enzima risulterebbe implicato in funzioni che, al contrario, deporrebbero per un suo ruolo anti-aterogeno (*Tabella 2*).

Se è vero che un'aumentata attività di CETP riduce i livelli di HDL colesterolo e promuove l'arricchimento in colesterolo delle lipoproteine contenenti apoB potenzialmente aterogene, è anche vero che, in presenza di un efficiente sistema recettoriale epatico di rimozione delle lipoproteine contenenti apoB, ciò potrebbe costituire una via di eliminazione del colesterolo circolante (via "indiretta" dell'RCT) tanto efficace quanto quella mediata dalle HDL (via "diretta" dell'RCT). CETP, inoltre, favorisce il trasporto inverso di colesterolo non solo grazie al suo intrinseco effetto sullo scambio bidirezionale di lipidi tra le diverse lipoproteine, ma anche promuovendo l'azione della LCAT e l'*uptake* epatico SR-B1-indipendente del colesterolo esterificato contenuto nelle HDL (41, 42).

CETP svolge inoltre un ruolo coadiuvante nella funzione antiossidante delle HDL. In particolare, diversi studi hanno dimostrato che CETP è capace di ridurre i livelli circolanti di LDL ossidate, promuovendo il trasferimento di colesterolo esterificato dalle LDL ossidate alle HDL più efficacemente rispetto a quanto avviene dalle LDL native; attraverso questo meccanismo di azione, CETP favorirebbe l'eliminazione HDL-mediata di lipidi ossidati (2). Questo ruolo di CETP sembrerebbe essere assai rilevante poiché i pazienti deficitari di *CETP* mostrano livelli di LDL ossidate circolanti più elevati dei pazienti con livelli normali di CETP (43).

CETP potrebbe interagire con gli estrogeni nel meccanismo di protezione dall'aterosclerosi. Gli estrogeni, infatti, svolgono un ruolo ateroprotettivo come evidenziato ad esempio dal fatto che l'efflusso HDL-mediato di colesterolo dai macrofagi viene potenziato da HDL complesse con estrogeni esterificati (44). In uno studio condotto in topi sottoposti ad ovariectomia totale, pertanto deficitari di estrogeni, è stato osservato un minore carico vascolare aterosclerotico nei topi *CETP* transgenici rispetto a quelli privi dell'enzima, supportando l'ipotesi che CETP sarebbe in grado di vicariare la funzione ateroprotettiva degli estrogeni in loro as-

Tabella 2 – Trials clinici con inibitori di CETP.

Trial	Pazienti	Durata	Effetti su colesterolo HDL	Outcomes	Nota bibliografica
ILLUMINATE (torcetrapib)	15.067	18 mesi	↑ 72%	↑ eventi CV ↑ mortalità per tutte le cause ↑ pressione arteriosa sistolica	12
Dal-OUTCOMES (dalcetrapib)	15.871	31 mesi	↑ 25-30%	Interruzione precoce per futilità	13
ACCELERATE (evacetrapib)	12.092	26 mesi	↑ 132%	Interruzione precoce per futilità	14
REVEAL (anacetrapib)	30.449	4.1 anni	↑ 104%	↓ eventi CV	15

senza o di ampliarla in loro presenza (45). È stato anche descritto che CETP sarebbe in grado di promuovere il trasferimento di 17 β -estradiolo esterificato dalle HDL alle LDL, conferendo così protezione contro l'ossidazione dei lipidi in quest'ultima classe lipoproteica (46).

Un possibile ruolo di CETP in senso anti-aterogeno è stato prospettato anche da uno studio condotto utilizzando topi transgenici per *CETP* umano e *knock-out* per il gene codificante apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1 (*APOBEC-1*), enzima implicato nel metabolismo lipoproteico la cui assenza determina, bloccando la sintesi di apoB48, un profilo lipoproteico più simile a quello umano (36). In questi topi l'espressione di CETP ha determinato una riduzione dei livelli di HDL colesterolo; nonostante ciò, si è osservato un aumento dell'RCT come dimostrato dalla aumentata escrezione fecale di 3H-sterolo. Nello stesso studio è stata testata anche l'espressione transgenica di *CETP* in topi *SR-B1-knock-out*; in questo caso CETP ha permesso di supplire all'assenza di *uptake* epatico di colesterolo, facilitando il trasporto di colesterolo esterificato alle lipoproteine contenenti apoB, ed evitando così la marcata progressione del processo aterosclerotico evidente invece nei topi *SR-B1-knock-out* e *CETP-knock-out* (36). Lo studio sopra citato mette in risalto il ruolo di CETP nell'RCT e trova conferma in un precedente studio nell'uomo in cui veniva prospettato che la maggior parte del colesterolo esterificato trasportato dalle HDL venisse veicolato al fegato attraverso le lipoproteine contenenti apoB (47).

In studi compiuti a fine anni '80 è stata osservata un'incrementata longevità in famiglie giapponesi portatrici di polimorfismi con perdita di funzione del gene *CETP* (10). Questi primi risultati

sono stati però smentiti da ulteriori studi compiuti a metà degli anni '90 nella popolazione giapponese di Omagari in cui sono estremamente frequenti mutazioni determinanti deficit di CETP con contestuale incremento dei valori di HDL. È infatti emerso che i soggetti di età superiore agli 80 anni presentavano una minore incidenza di deficit di CETP rispetto agli individui più giovani e che non sussisteva una correlazione diretta tra gli elevati valori di HDL nei soggetti deficitari di CETP e la aspettativa di vita (48).

Inibizione di CETP e rischio cardiovascolare

Il ruolo di CETP nell'RCT e più in generale l'impatto negativo, seppur dibattuto, nel processo aterogenetico, ha portato a considerare questa molecola non solo come possibile indicatore biologico di rischio, ma anche come un potenziale *target* terapeutico per la riduzione del rischio cardiovascolare su base aterosclerotica.

I primi tentativi terapeutici di inibizione di CETP, sperimentati in modelli di conigli in cui si rilevano alti livelli di CETP, hanno visto l'impiego di anticorpi monoclonali neutralizzanti l'enzima (49), oligonucleotidi antisense capaci di bloccare la sintesi di CETP attraverso l'inibizione del suo mRNA (50) e vaccini in grado di determinare immunità umorale nei confronti dell'enzima attraverso la generazione di anticorpi neutralizzanti l'attività plasmatica di CETP. Tutti questi approcci terapeutici hanno prodotto un incremento dei livelli di HDL colesterolo ed una contestuale riduzione dell'aterosclerosi. Né gli anticorpi monoclonali né gli oligonucleotidi antisense sono risultati meritevoli di sviluppo clinico, mentre un vaccino (CETi-1) ha raggiunto la I fase di sperimentazione clinica umana, mostrando tuttavia risulta-

ti estremamente deludenti nell'indurre la produzione anticorpale e quindi influenzare l'attività di CETP ed i livelli di HDL colesterolo (51).

Nuovi margini terapeutici nell'inibizione di CETP sono stati forniti dalla sperimentazione nel modello animale di molecole in grado di legare ed inattivare CETP attraverso la formazione di complessi stabili con le HDL (52), producendo un blocco nello scambio bidirezionale di lipidi tra lipoproteine e, di conseguenza, un incremento del colesterolo esterificato contenuto nelle HDL (*Tabella 2*).

Dopo la fase di studio animale, queste molecole sono approdate nella ricerca in ambito umano. La molecola inibitoria torcetrapib è stato oggetto del primo trial clinico randomizzato denominato ILLUMINATE, condotto su 15,067 pazienti, già in terapia con statina, randomizzati a ricevere atorvastatina più placebo o più torcetrapib. Torcetrapib, rivelatosi un potente inibitore reversibile di CETP, ha consentito di ottenere un incremento del 72% nei livelli di HDL colesterolo ed una riduzione del 25% nei livelli di LDL colesterolo. Nonostante gli effetti favorevoli sul profilo lipidico, il trial è stato interrotto precocemente, dopo soli 18 mesi, per l'eccessiva incidenza di eventi cardiovascolari e mortalità per cancro, infezioni ed eventi cardiovascolari riscontrate nel braccio randomizzato a ricevere torcetrapib rispetto a quello in placebo. Nel braccio in trattamento attivo con l'inibitore di CETP è stato registrato anche un incremento significativo nella sintesi e secrezione di aldosterone e cortisolo, ritenuti responsabili del significativo incremento della pressione arteriosa sistolica e di alterazioni elettrolitiche quali ipernatriemia ed ipokalemia (12). Analisi successive dei dati hanno attribuito questi effetti avversi a meccanismi intrinseci alla molecola specifica piuttosto che all'i-

nibizione di CETP, ipotesi consolidata dal buon profilo di sicurezza delle successive molecole sviluppate allo scopo di inibire CETP. Due analisi *post hoc* del trial ILLUMINATE hanno mostrato che, per quanto la breve durata del trial, interrotto precocemente, non consentisse un'analisi affidabile dei risultati sugli *endpoints* vascolari, torcetrapib non è risultato capace di produrre un effetto sulla regressione di placca nella popolazione globale, mentre un risultato promettente si è evidenziato nei pazienti inclusi nel quartile con livelli più alti di HDL colesterolo (53).

L'aver accertato che gli effetti avversi riscontrati con torcetrapib non fossero correlati all'inibizione di CETP ha permesso lo sviluppo di ulteriori molecole inibitorie da testare in trial clinici randomizzati in pazienti ad alto rischio già in trattamento con statine. Tra queste molecole, il dalcetrapib, inibitore irreversibile di CETP, è stato oggetto di un trial denominato dal-OUTCOMES che ha incluso 15,871 pazienti. Il dalcetrapib si è dimostrato capace di produrre un incremento del 25% dei livelli di HDL, senza mostrare alcun impatto sui livelli di LDL colesterolo. Anche questo trial non ha rilevato un effetto positivo dell'inibitore di CETP sull'*endpoint* primario, rappresentato dall'incidenza di eventi cardio- e cerebro-vascolari, per cui lo studio è stato interrotto precocemente per futilità (13). Lo stesso destino ha interessato evacetrapib, inibitore reversibile di CETP, testato in un trial clinico randomizzato condotto su 12,092 pazienti, denominato ACCELERATE (Assessment of Clinical Effects of Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition with Evacetrapib in Patients with a High Risk for Vascular Outcomes). Il trial in questione è stato interrotto precocemente poiché, al netto di un incremento dei livelli di HDL colesterolo del 132% ed una riduzione dell'LDL

colesterolo del 19%, non è stato rilevato un impatto significativo sull'*endpoint* primario (14).

Il trial che ha avuto la durata maggiore ed ha coinvolto il maggior numero di pazienti è stato il REVEAL (15). In questo trial è stato impiegato l'anacetrapib, inibitore reversibile di CETP a lunga emivita e con peculiare accumulo nel tessuto adiposo (15). Lo studio REVEAL, condotto su 30,449 pazienti seguiti per 4,1 anni, ha mostrato risultati promettenti con un buon profilo di tollerabilità del farmaco (lieve incremento dei valori pressori di circa 0,8 mmHg e lieve riduzione del filtrato glomerulare). In particolare è stata apprezzata una riduzione nel rischio di eventi cardiovascolari del 9% con una contestuale riduzione dei livelli di colesterolo non-HDL ed un incremento del 104% dei livelli di HDL colesterolo (15). È importante sottolineare che nel trial REVEAL gli effetti favorevoli cardiovascolari di anacetrapib sono stati rilevati solo negli ultimi due anni di intervento; alla luce del fatto che lo studio ACCELERATE con evacetrapib è stato interrotto prematuramente dopo appena due anni, si è ipotizzato che l'interruzione precoce dello studio potrebbe aver mascherato parte del beneficio a lungo termine del farmaco (3).

Un risultato degno di nota osservato nel braccio randomizzato a statina ed anacetrapib è la riduzione del rischio di sviluppare diabete mellito, il miglioramento dei valori glicemici e di HbA1c. Questo effetto, già apprezzato nei trials ILLUMINATE ed ACCELERATE e nelle popolazioni geneticamente deficitarie di CETP, sarebbe correlabile all'aumento dei livelli di apoA1 e HDL prodotto proprio dall'inibizione di CETP. Entrambe queste componenti infatti stimolano la sintesi e la secrezione di insulina nelle cellule β pancreatiche (54)

ed aumentano l'ingresso di glucosio nelle cellule muscolari (55). Questo dato risulta ancora più importante se si considera il possibile impatto negativo delle statine sul controllo glicemico (56).

Un dato che complica ulteriormente l'interpretazione della modulazione della CETP deriva dalla osservazione che il probucolo, agonista di CETP, pur riducendo i livelli di HDL colesterolo, si è dimostrato capace di aumentare la rimozione periferica di colesterolo (riduzione di xantomi e xantelasmi), attenuando altresì il danno vascolare aterosclerotico (57).

Glossario

- ABCA1:** ATP binding cassette transporter A1
- ABCG:** ATP-binding cassette transporter G
- ACAT1:** Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase 1
- ACCELERATE:** Assessment of Clinical Effects of Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition with Evacetrapib in Patients with a High Risk for Vascular Outcomes
- apoA1:** apolipoproteina A1
- apoB:** apolipoproteina B
- APOBEC-1:** apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide 1
- apoE:** apolipoprotein E
- CETP:** cholesteryl ester transfer protein
- CHD:** coronary heart disease
- FXR:** farnesoid X receptor
- GWAS:** genome wide association study
- ILLUMINATE:** The Investigation of Lipid Level Management to Understand its Impact in Atherosclerotic Events Outcomes
- LBP:** lipopolysaccharide binding protein
- LCAT:** lecithin-cholesterol acyltransferase
- LDLR:** low-density lipoprotein receptor
- LPS:** lipopolisaccaride
- LXR:** liver X receptor
- LTP:** lipid transfer protein
- RCT:** reverse cholesterol transport
- REVEAL:** Randomized Evaluation of the Effects of Anacetrapib through Lipid modification
- sdLDL:** small dense LDL
- SR-B1:** scavenger receptor class B type 1
- TICE:** transintestinal cholesterol efflux

Conclusioni

La funzione biologica della CETP è quella di mediare lo scambio di colesterolo esterificato e trigliceridi tra le lipoproteine circolanti. In linea teorica, l'effetto netto di questa azione è anti-aterogeno. L'attività di CETP promuove infatti indirettamente l'eliminazione di colesterolo esterificato a livello del fegato tramite la via dell'LDLR e, al tempo stesso, porta alla formazione di HDL impoverite in colesterolo esterificato e perciò più attive nel favorire l'efflusso di colesterolo dai tessuti periferici. Tuttavia, il trasferimento di colesterolo esterifica-

to dalle HDL alle lipoproteine contenenti apoB può anche contribuire al trasporto di colesterolo ai tessuti periferici, esercitando teoricamente un effetto pro-aterogeno. Complessivamente le evidenze provenienti da studi sperimentali, clinici, genetici e di intervento non permettono di fare chiarezza sull'ambigua relazione tra CETP ed aterosclerosi. I dati in nostro possesso suggeriscono piuttosto che la funzione biologica di CETP possa essere influenzata da una serie di fattori genetici e metabolici, lasciando ipotizzare che l'azione di questo enzima sul metabolismo lipoproteico possa variare a seconda del contesto biologico.

Questionario di auto-apprendimento

1. CETP è:

- a. un ormone
- b. un recettore
- c. un enzima

2. CETP promuove:

- a. l'esterificazione del colesterolo intra-cellulare
- b. lo scambio bidirezionale di colesterolo esterificato e trigliceridi tra lipoproteine circolanti
- c. la sintesi epatica di colesterolo

3. Gli effetti anti-aterogeni della CETP potrebbero essere legati:

- a. al trasporto inverso del colesterolo attraverso la via "indiretta" LDLR-mediata
- b. al trasporto inverso dei trigliceridi attraverso la via "diretta" SR-B1-mediata
- c. all'aumentata clearance delle HDL

4. Gli effetti pro-aterogeni della CETP potrebbero essere legati a:

- a. all'aumento dei livelli di estradiolo circolante
- b. al trasferimento del colesterolo dalle HDL alle lipoproteine contenenti apoB
- c. all'aumento dei livelli di HDL colesterolo

5. Il trial ILLUMINATE:

- a. è stato interrotto precocemente per futilità
- b. ha valutato gli effetti dell'inibizione farmacologica di CETP con evacetrapib
- c. ha valutato l'efficacia dell'inibizione farmacologica di CETP con torcetrapib

*Risposte corrette:
1c, 2b, 3a, 4b, 5c*

RIASSUNTO

Nel tentativo di chiarire gli effetti anti-aterogeni delle HDL sono stati identificati una moltitudine di proprietà protettive di questa classe di lipoproteine. Tra le tante, è noto che le HDL esercitano effetti antiossidanti, antitrombotici ed antinfiammatori e mediano il trasporto inverso del colesterolo (RCT) dalla periferia (compresa la parete arteriosa) al fegato e ad altri organi. La CETP è un enzima che, prodotto nel fegato e nel tessuto adiposo ed associato principalmente alle HDL circolanti, promuove il trasferimento di esteri di colesterolo dalle HDL alle particelle contenenti apolipoproteina B (per lo più VLDL e LDL) in cambio di trigliceridi. Esistono elementi per pensare che la CETP possa svolgere sia attività anti-aterogene che pro-aterogene. La CETP può essere vista come un enzima facilitatore del flusso di colesterolo verso il fegato, attraverso la cosiddetta via indiretta del RCT, che vede nelle lipoproteine contenenti apolipoproteina B il veicolo del colesterolo verso i recettori epatici e l'escrezione del colesterolo stesso attraverso la bile. Tuttavia, questa azione è anche direttamente responsabile della diminuzione dei livelli di HDL colesterolo, a cui notoriamente viene attribuito un significato pro-aterogeno. Seppure gli studi di randomizzazione Mendeliana sembrano attribuire alla CETP un ruolo favorente la malattia aterosclerotica, i *trial* clinici randomizzati con CETP-inibitori non hanno prodotto risultati entusiasmanti. È necessaria quindi una più attenta interpretazione dei dati ad oggi disponibili sul significato di CETP in diversi contesti clinici e sperimentali per meglio progettare presidi terapeutici che modulino l'attività di CETP e producano al contempo un impatto favorevole sul rischio cardiovascolare.

Keywords: *CETP; colesterolo HDL; aterosclerosi; trasporto inverso del colesterolo.*

Bibliografia

1. Barter PJ, Brewer HB jr, Chapman MJ, et al. Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23: 160-167.
2. Oliveira HC, de Faria EC. Cholesteryl ester transfer protein: the controversial relation to atherosclerosis and emerging new biological roles. *IUBMB Life.* 2011; 63: 248-257.
3. Shrestha S, Wu BJ, Guiney L, et al. Cholesteryl ester transfer protein and its inhibitors. *J Lipid Res.* 2018; 59: 772-783.
4. Webb TR, Erdmann J, Stirrups KE, et al. Systematic Evaluation of Pleiotropy Identifies 6 Further Loci Associated With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2017; 69: 823-836.
5. Thompson A, Di Angelantonio E, Sarwar N, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with CETP mass and activity, lipid levels, and coronary risk. *JAMA.* 2008; 299: 2777-2788.
6. Ridker PM, Paré G, Parker AN, et al. Polymorphism in the CETP gene region, HDL cholesterol, and risk of future myocardial infarction: Genomewide analysis among 18 245 initially healthy women from the Women's Genome Health Study. *Circ Cardiovasc Genet.* 2009; 2: 26-33.
7. Niu W, Qi Y. Circulating cholesteryl ester transfer protein and coronary heart disease: mendelian randomization meta-analysis. *Circ Cardiovasc Genet.* 2015; 8: 114-121.
8. Johannsen TH, Frikke-Schmidt R, Schou J, et al. Genetic inhibition of CETP, ischemic vascular disease and mortality, and possible adverse effects. *J Am Coll Cardiol.* 2012; 60: 2041-2048.
9. Nomura A, Won HH, Khera AV, et al. Protein-Truncating Variants at the Cholesteryl Ester Transfer Protein Gene and Risk for Coronary Heart Disease. *Circ Res.* 2017; 121: 81-88.
10. Inazu A, Brown ML, Hesler CB, et al. Increased high-density lipoprotein levels caused by a common cholesteryl-ester transfer protein gene mutation. *N Engl J Med.* 1990; 323: 1234-1238.
11. Tall AR, Rader DJ. Trials and tribulation of CETP inhibitors. *Circ Res.* 2018; 122: 106-112.
12. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, et al. Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *N Engl J Med.* 2007; 357: 2109-2122.
13. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, et al. Effects of dalcetrapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med.* 2012; 367: 2089-2099.
14. Lincoff AM, Nicholls SJ, Riesmeyer JS, et al. Evacetrapib and Cardiovascular Outcomes in High-Risk Vascular Disease. *N Engl J Med.* 2017; 376: 1933-1942.
15. Bowman L, Chen F, Sammons E, et al. Randomized Evaluation of the Effects of Anacetrapib

- through Lipid-modification (REVEAL)-A large-scale, randomized, placebo-controlled trial of the clinical effects of anacetrapib among people with established vascular disease: Trial design, recruitment, and baseline characteristics. *Am Heart J*. 2017; 187: 182-190.
16. Ouimet M, Barrett TJ, Fisher EA. HDL and Reverse Cholesterol Transport. *Circ Res*. 2019; 124: 1505-1518.
 17. Kavurma MM, Rayner KJ, Karunakaran D. The walking dead: macrophage inflammation and death in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2017; 28: 91-98.
 18. Westerterp M, Murphy AJ, Wang M, et al. Deficiency of ATP-binding cassette transporters A1 and G1 in macrophages increases inflammation and accelerates atherosclerosis in mice. *Circ Res*. 2013; 112: 1456-1465.
 19. Kennedy MA, Barrera GC, Nakamura K. ABCG1 has a critical role in mediating cholesterol efflux to HDL and preventing cellular lipid accumulation. *Cell Metab*. 2005; 1: 121-31.
 20. Annema W, Tietge UJ. Role of hepatic lipase and endothelial lipase in high-density lipoprotein-mediated reverse cholesterol transport. *Curr Atheroscler Rep*. 2011; 13: 257-265.
 21. Sposito AC, Zimetti F, Barreto J, et al. Lipid trafficking in cardiovascular disease. *Adv Clin Chem*. 2019; 92: 105-140.
 22. Armitage J, Holmes MV, Preiss D. Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition for Preventing Cardiovascular Events: JACC Review Topic of the Week *J Am Coll Cardiol*. 2019; 73: 477-487.
 23. Luo Y, Tall AR. Sterol upregulation of human CETP expression in vitro and in transgenic mice by an LXR element. *J Clin Invest*. 2000; 105: 513-120.
 24. Gautier T, de Haan W, Grober J, et al. Farnesoid X receptor activation increases cholesteryl ester transfer protein expression in humans and transgenic mice. *J Lipid Res*. 2013; 54: 2195-2205.
 25. Brufau G, Groen AK, Kuipers F. Reverse cholesterol transport revisited: contribution of biliary versus intestinal cholesterol excretion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31: 1726-1733.
 26. Yao Z, Mates JM, Cheplowitz AM, et al. Blood-Borne Lipopolysaccharide Is Rapidly Eliminated by Liver Sinusoidal Endothelial Cells via High-Density Lipoprotein. *J Immunol*. 2016; 197: 2390-2399.
 27. Topchiiy E, Cirstea M, Kong HJ, et al. Lipopolysaccharide Is Cleared from the Circulation by Hepatocytes via the Low Density Lipoprotein Receptor. *PLoS ONE*. 2016; 11: e0155030.
 28. Venancio, TM, Machado RM., Castoldi A, et al. CETP lowers TLR4 expression which attenuates the inflammatory response induced by LPS and polymicrobial sepsis. *Mediators Inflamm*. 2016; 1784014.
 29. Grion CM, Cardoso LT, PerazoloTF, et al. Lipoproteins and CETP levels as risk factors for severe sepsis in hospitalized patients. *Eur J Clin Invest*. 2010; 40: 330-338.
 30. Trinder M, Genga KR, Kong HJ, et al. Cholesteryl ester transfer protein influences high-density lipoprotein levels and survival in sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019; 199: 854-862.
 31. Vassiliou G, McPherson R. Role of cholesteryl ester transfer protein in selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters by adipocytes. *J Lipid Res*. 2004; 45: 1683-1693.
 32. Terán-García M, Després JP, Tremblay A, et al. Effects of cholesterol ester transfer protein (CETP) gene on adiposity in response to long-term overfeeding. *Atherosclerosis*. 2008; 196: 455-460.
 33. Van der Kant R, Goldstein LSB, Ossenkoppele R. Amyloid- β -independent regulators of tau pathology in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurosci*. 2020; 21: 21-35.
 34. Button EB, Robert J, Caffrey TM, et al. HDL from an Alzheimer's disease perspective. *Curr Opin Lipidol*. 2019; 30: 224-234.
 35. Sundermann EE, Wang C, Katz M, et al. Cholesteryl ester transfer protein genotype modifies the effect of apolipoprotein ϵ 4 on memory decline in older adults. *Neurobiol Aging*. 2016; 41: 200.e7-200.e12.
 36. Tanigawa H, Billheimer JT, Tohyama J, et al. Expression of Cholesteryl Ester Transfer Protein in Mice Promotes Macrophage Reverse Cholesterol Transport. *Circulation*. 2007; 116: 1267-1273.
 37. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17: 3542-3556.
 38. Horowitz BS, Goldberg IJ, Merab J, et al. Increased plasma and renal clearance of an exchangeable pool of apolipoprotein A-I in subjects with low levels of high density lipoprotein cholesterol. *J Clin Invest*. 1993; 91: 1743-1752.
 39. Hayek T, Masucci-Magoulas L, Jiang X, et al. Decreased early atherosclerotic lesions in hypertriglyceridemic mice expressing cholesteryl ester transfer protein transgene. *J Clin Invest*. 1995; 96: 2071-2074.
 40. Okamoto H, Yonemori F, Wakitani K, et al. A cholesteryl ester transfer protein inhibitor attenuates atherosclerosis in rabbits. *Nature*. 2000; 406: 203-207.
 41. Oliveira HC, Ma L, Milne R, et al. Cholesteryl

- ester transfer protein activity enhances plasma cholesteryl ester formation. Studies in CETP transgenic mice and human genetic CETP deficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1045-1052.
42. Zhou H, Li Z, Silver DL, et al. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) expression enhances HDL cholesteryl ester liver delivery, which is independent of scavenger receptor BI, LDL receptor related protein and possibly LDL receptor. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1761: 1482-1488.
 43. Chiba H, Akita H, Tsuchihashi K, et al. Quantitative and compositional changes in high density lipoprotein subclasses in patients with various genotypes of cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Lipid Res.* 1997; 38: 1204-1216.
 44. Badeau RM1, Metso J, Wähälä K, et al. Human macrophage cholesterol efflux potential is enhanced by HDL-associated 17beta-estradiol fatty acyl esters. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2009; 116: 44-49.
 45. Cazita PM, Berti JA, Aoki C, et al. Cholesteryl ester transfer protein expression attenuates atherosclerosis in ovariectomized mice. *J Lipid Res.* 2003; 44: 33-40.
 46. Helisten H, Höckerstedt A, Wähälä K, et al. Accumulation of high-density lipoprotein-derived estradiol-17beta fatty acid esters in low-density lipoprotein particles. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 1294-1300.
 47. Schwartz CC, VandenBroek JM, Cooper PS. Lipoprotein cholesteryl ester production, transfer, and output in vivo in humans. *J Lipid Res.* 2004; 45: 1594-1607.
 48. Hirano K, Yamashita S, Nakajima N, et al. Genetic cholesteryl ester transfer protein deficiency is extremely frequent in the Omagari area of Japan. Marked hyperalphalipoproteinemia caused by CETP gene mutation is not associated with longevity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1053-1059.
 49. Whitlock ME, Swenson TL, Ramakrishnan R, et al. Monoclonal antibody inhibition of cholesteryl ester transfer protein activity in the rabbit. Effects on lipoprotein composition and high density lipoprotein cholesteryl ester metabolism. *J Clin Invest.* 1989; 84: 129-137.
 50. Sugano M, Makino N, Sawada S, et al. Effect of antisense oligonucleotides against cholesteryl ester transfer protein on the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *J Biol Chem.* 1998; 273: 5033-5036.
 51. Davidson MH, Maki K, Umporowicz D, et al. The safety and immunogenicity of a CETP vaccine in healthy adults. *Atherosclerosis.* 2003; 169: 113-120.
 52. Ranalletta M, Bierilo KK, Chen Y, et al. Biochemical characterization of cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *J Lipid Res.* 2010; 51: 2739-2752.
 53. Nicholls SJ, Tuzcu EM, Brennan DM, et al. Cholesteryl ester transfer protein inhibition, high-density lipoprotein raising, and progression of coronary atherosclerosis: insights from ILLUSTRATE (Investigation of Lipid Level Management Using Coronary Ultrasound to Assess Reduction of Atherosclerosis by CETP Inhibition and HDL Elevation). *Circulation.* 2008; 118: 2506-2514.
 54. Cochran BJ, Basisoendial RJ, Hou L, et al. Apolipoprotein A-I increases insulin secretion and production from pancreatic beta cells via a G-protein-cAMP-PKA-FoxO1-dependent mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34: 2261-2267.
 55. Sattar N, Preiss D, Murray HM, et al. Statins and risk of incident diabetes: a collaborative meta-analysis of randomised statin trials. *Lancet.* 2010; 375: 735-742.
 56. Domingo-Espín JM, Nilsson-Wolanin LO, Cushman SW, et al. Dual actions of apolipoprotein A-I on glucose-stimulated insulin secretion and insulin-independent peripheral tissue glucose uptake lead to increased heart and skeletal muscle glucose disposal. *Diabetes.* 2016; 65: 1838-1848.
 57. Sawayama Y, Shimizu C, Maeda N, et al. Effects of probucol and pravastatin on common carotid atherosclerosis in patients with asymptomatic hypercholesterolemia. *Fukuoka Atherosclerosis Trial (FAST).* *J Am Coll Cardiol.* 2002; 39: 610-616.

MEDICINA SCIENZA E SOCIETÀ

Verso l'estinzione di homo sulla terra?

Towards the extinction of homo on earth?

DANIELE AMATI, ROBERTO IENGO*Scuola Internazionale Superiore di Studi Avanzati*

Noi, Daniele e Roberto, gli autori di questa provocazione siamo due vecchi fisici teorici che hanno conservato il piacere di pensare ed elaborare, anche senza attingere alla norma di completezza e puntigliosità di ogni seria ricerca scientifica. A volte questo procedimento viene chiamato interdisciplinare quando queste elaborazioni vengono riprese e professionalizzate da un vero cultore della disciplina attigua. Con l'espandersi impetuoso delle conoscenze scientifiche, non è possibile essere professionisti seri in branche non contigue e, d'altronde, i ricercatori sono così intensamente impegnati nel loro specifico lavoro che difficilmente possono concedersi l'avventura di lasciarsi sedurre da idee inconsuete. Questo è forse un privilegio della tarda età quando ci si può dare il lusso di non dover aggiungere un'altra riga ad un qualche CV.

Indirizzo per la corrispondenza

Daniele Amati
E-mail: daniele.amati@sissa.it

Roberto Iengo
E-mail: roberto.iengo@sissa.it

Noi due abbiamo preso l'abitudine di chiacchierare a ruota libera per un'oretta dopo il pranzo di mezzogiorno (del tutto analcolico) alla mensa della SISSA la nostra casa madre. Oltre ad eventuali commenti quotidiani, ci piace lasciarci trascinare a scambiarci punti di vista e commenti su come percepiamo la tumultuosa trasformazione della società e della natura del nostro mondo se non dell'universo la cui conoscenza avanza impetuosamente. Ed è rinfrescante provare a guardare le cose da lontano, come da un punto del cosmo da cui il nostro mondo si vede piccolo piccolo sperduto nel vuoto cosmico. E così emerge un tema centrale: come si è modificato e come si sta rapidamente modificando il posto dell'uomo nella natura e quali prospettive per il futuro possiamo immaginare.

Il dialogo che abbiamo intrecciato ci ha divertito e ci ha portato ad inanellare punti di vista e idee (delle quali non rivendichiamo alcuna paternità) che avremmo volute fissare per evitare lo sfilacciamento della nostra instabile memoria. Come farlo? Non certo col linguaggio scientifico a noi

consono in quanto non si pretende alcuna originalità scientifica. Scrivere un dialogo è arduo, specialmente quando è difficile inventare un Simplicio sempliciotto e un Salviati-Galileo con idee chiare e misure precise.

Allora abbiamo pensato di proporre due modi di espressione, uno di seguito all'altro. Cominciamo provando a coniugare ironia e serietà, in una vena ironicamente-seria o seriamente-ironica, ingabbiando le nostre riflessioni e la nostra fantasia con la metrica il ritmo e la cadenza delle rime. Ecco allora come introduzione una poesia che tocca anche se in breve tutte le suggestioni della nostra visione:



ESTINZIONE?

Un messaggio nella bottiglia

I

*Dei viventi lo scopo principale
è riprodursi cercando nicchie e vie
ove affermare il proprio potenziale
con forme nuove oltre alle stantie
sempre correndo ad inseguir lo scopo
di dominare ed asservire il mondo per
farsene poi che? Se al dunque dopo
si può soltanto rigirarlo in tondo.*

II

*Così dal virus all'erba assai infestante
tutti i viventi cercano successo
e con la seduzione di un amante
perpetuano la specie in un amplesso
perchè per selezione più si espande
chi più si riproduce con vantaggio
a rendere la specie forte e grande
per parare dell'altre il sabotaggio.*

III

*È certo che c'è poi competizione
equilibrio ne viene pur precario
sia dinamicamente nell'agone
tramutandosi in modo sempre vario
ma mai una specie a dominar da sola
unica potestà sopra la terra
a imporre a tutto il resto la sua scuola
non s'era vista in tutta questa guerra.*

IV

*E invece eccola qua c'è il sapientone
sapiens s'è detto con gran sicumera
unica specie in tutto il generone
dell'omo (in romanesco voce vera)
i poveri cugini neandertali
e anche i denisova e quanti altri
sono pure scomparsi tali e quali
ma erano rivali meno scaltri.*

V

A vincere comincia con la mole della demografia che non perdona dai primi pochi all'ultima lor prole con ritmo esponenziale che impressiona così tra alcuni anticipi e ritardi ma sempre più veloce anno per anno di persone ne vengono miliardi procurando al pianeta gran affanno.

VI

È una specie però assai singolare con cervello più grande e ben connesso che si esprime mettendosi a parlare e ricorsivamente e con se stesso e per immaginare la magia l'arte la scienza e tutta la cultura e sviluppando la tecnologia per farsi forte (almen finché la dura).

VII

Ha fatto fuori tutti i vertebrati (salvo pochi esemplari da museo) tenendo solo specie di allevati mucche galline pecore e il corteo di quelli da mangiare e cani e gatti per averne a buon mercato affetto anche se vari parassiti e ratti nascostamente popolano un ghetto.

VIII

L'evoluzione viene poi stravolta anche per sapiens vivo così a lungo che età per riprodursi è bell'e tolta invecchiando per cosa? E poi aggiungo che la velocità di rimescolamento di qualsiasi bio-gene innovazione la diluisce a favorir l'avvento dell'uniformità della popolazione.

IX

Bio-evoluzione forse s'è fermata ma esplosiva è quella culturale nell'arco di una vita è già passata dal neolitico all'era digitale dalle radici bio nasce e si espande crescere sempre è questo imperativo a costo di sconvolgere le lande del territorio in modo autolesivo.

X

Nel passato si stava molto peggio paradiso perduto è solo un mito è nostalgia che prende dal saccheggio di quel che resta del paesaggio avito migliorare bisogna ecco il dilemma benessere per tutti certamente se siamo troppi non c'è stratagemma per procurarlo sostenibilmente.

XI

Vale anche pei ricchi niuno escluso l'economia si immagina sia aperto il mondo e invece è su se stesso chiuso non è infinito quello che ci è offerto ed è una verità lapalissiana più attività vuol dire più rifiuti riciclare non basta a far lontana la trappola in cui siamo caduti.

XII

E quindi in conseguenza l'estinzione? o un mondo tutto quanto artificiale di robot senza eros seduzione? Punto sperduto nel cosmo abissale sta il pianeta difficile è fuggire ma una sfida e salvezza è forse Marte con bello sforzo che può il mondo unire già solo questo ne varrebbe l'arte.

E poi, di seguito, proviamo a esporre la nostra visione in una versione più corposa, elaborata secondo i modi tradizionali del discorso razionale-scientifico. Ecco quindi, dopo la poesia, la prosa:

L'impressionante caratteristica (la principale) dei viventi, siano microbi, virus, funghi, piante, animali: riprodursi. Un insieme di sofisticate strategie per questo supremo scopo. L'individuo funge semplicemente da veicolo; una volta esaurito il compito non serve più. Ma chi glielo fa fare al virus di riprodursi a tutti i costi? A invadere le cellule, magari silente per lunghi periodi, e poi esplodere in vari tipi di starnuti per colonizzare altri portatori? Vuole conquistare tutto il mondo, e poi? Ha anche imparato, come un'intelligenza artificiale, a mitigare l'aggressività: un virus troppo virulento rischia l'estinzione.

Infatti, la riproduzione è la componente fondamentale della selezione naturale che ha generato l'evoluzione dei sistemi viventi. L'altra componente fondamentale del sistema darwiniano, le mutazioni, creano modifiche al patrimonio genetico dell'individuo causate da effetti naturali esterni, quindi aleatori e non finalizzati a vantaggi evolutivi. Le mutazioni sono però ereditarie, quindi se una portasse chi l'avesse subito ad un vantaggio competitivo rispetto agli altri membri della specie, essa tenderebbe a stabilizzarsi nell'agone della vita, soprattutto se la prole che la eredita è numerosa.

Un'idea di sviluppo equilibrato tra specie diverse nelle risposte chimico-molecolari alle mutazioni naturali deve essere all'opera nel sistema Darwiniano per mantenere l'equilibrio evolutivo. Equilibrio che ha mostrato un'eccezionale efficacia nell'ambiente terra generando un'evoluzione continua dall'insorgere di organismi monomolecolari fino alle strutture ultra complesse di noi primati. Eliminando ma-

gari fluttuazioni inconvenienti (vedi l'estinzione dei dinosauri), riportando all'equilibrio dominante senza scossoni dirompenti che scardinerebbero il meccanismo già ben rodato e potrebbero portare ad un drastico arretramento del sistema vivente, se non alla sua estinzione.

Che l'ambiente terra abbia potuto ospitare un così lungo equilibrio tra mutazioni aleatorie e competizione evolutiva dando luogo allo sviluppo della vita da proto-organismi monocellulari in condizioni ambientali estreme, ad esseri complessi e intelligenti, è di per se quantomai sorprendente. Altro che disegno intelligente! Tanto da spingerci a cercare nell'infinità di analoghe o alternative condizioni ambientali nell'universo – o almeno nel sistema solare a noi più accessibile – segnali di altri casi di un così raffinato processo.

Questa straordinaria continuità della vita sul nostro pianeta che il genio e le osservazioni di Darwin ci hanno insegnato a capire senza assegnare alcun obiettivo preconditionato in un lungo susseguirsi di cause random e competizioni senza quartiere, rischia d'arrivare a fine corsa a causa dell'incredibile successo dell'ultimo meraviglioso frutto: noi esseri umani moderni!

L'uomo moderno con le sue notevoli capacità cognitive è già frutto di un'evoluzione non strettamente darwiniana. Infatti in accordo con la comune visione antropologica, esso rappresenta una recente (50-70 mila anni fa) evoluzione dell'homo sapiens geneticamente e anatomicamente maturo, che era già in giro per la terra da più di 100.000 anni. È forse possibile che le peculiari capacità cognitive di noi uomini moderni, distinte dalle proto-capacità animali e dei nostri predecessori ominidi, derivino anche da una causa neurale frutto di fattori epigenetici in un cervello già assai evoluto.

È incredibile quanto questo essere umano sia stato capace in queste poche decine di migliaia d'anni, di comprendere la natura e di sviluppare gli strumenti tecnologici per sfruttarla e modificarla. Unica specie capace di sviscerare le dinamiche dei processi naturali dai livelli subatomici fino all'universo nel suo insieme analizzandone i segnali che ci permettono di seguire la sua evoluzione sin dal big bang iniziale. È riuscito a creare sistemi artificiali intelligenti, capaci di competere coll'uomo dotato da quella straordinaria macchina che è il suo cervello frutto risultante da milioni d'anni d'evoluzione. Ha debellato malattie portando la vita media umana a raddoppiare nell'ultimo secolo. Ha creato mezzi di comunicazione che rendono piccolo il nostro globo terrestre, creando anche mezzi di distruzione capaci di estinguere la vita sulla terra in pochi istanti. Ma quel che è impressionante è la tumultuosa progressione di questo processo, tanto che ci permette di speculare che abbiamo personalmente assistito ad una percentuale non indifferente (forse addirittura un 5-10%) del totale dello sviluppo dall'emergere di noi sapiens cognitivamente maturi ad oggi!

Comunque, l'uomo non solo ha cambiato la natura (basta guardare fuori dalla finestra per rendersene conto) ma è anche pesantemente intervenuto sull'evoluzione delle specie sovvertendo il meccanismo darwiniano e quindi l'equilibrio in atto sin dall'insorgere dei sistemi viventi. Ha modificato piante ed animali per asservirli ai suoi bisogni alimentari, praticamente estinguendo quelli che non entrano in questo novero, o che rappresentano un'interferenza non desiderata (come insetti, batteri e virus). Ma l'esempio più lampante della fine della selezione naturale esso stesso: ossia il sapiens moderno. Tanto per cominciare, l'uomo compete coi suoi simili sin

dagli albori per appropriarsi delle risorse disponibili. Ma più che l'abbondanza della sua prole (fatto apparentemente determinante nella sua contesa con le forme ancestrali più prossime come Neanderthal o Denisoviani) conta l'evoluzione degli strumenti che inventa e produce grazie alle sue nuove capacità cognitive e dall'organizzazione di progetti collettivi per dotarsene e migliorarli. Questo sviluppo tecnologico, non solo è all'opera nella selezione ormai non più naturale, ma anche nell'impedire la stabilizzazione di eventuali ulteriori mutazioni. L'effetto mutante è in sé combattuto dall'uomo, ma anche qualora apparisse silente in qualche parte del globo, esso non troverebbe la nicchia isolata per propagarsi e imporsi. Le uniche modifiche accettabili all'uomo sono quelle che sono convenienti all'intera specie. Quasi sempre introdotte dall'uomo stesso con manipolazioni genetiche o come risultato di fattori epigenetici. Un buon esempio di una caratteristica umana (forse anche precedente al sapiens nelle specie antropomorfe, ma a quanto pare non al resto del regno animale) è il distacco del richiamo sessuale dalla procreazione e quindi al dilagare dell'eros fuori dall'ambito evolutivo.

Ma se l'equilibrio della vita sulla terra è cambiato, è lecito chiederci (o immaginarci) come potrebbe evolvere l'uomo e la sua società. Il primo fatto ovvio è che l'aspettazione di vita dell'uomo seguita ad aumentare come lo ha fatto nel periodo che a noi ci è toccato di vivere. Di questo passo la società sarà piena di vecchi. E anche se la qualità della loro vita sarà probabilmente migliore di quella che disponiamo oggi, è ovvio che il dinamismo e la vitalità della specie sarà notevolmente ridotta. Inoltre, se i progressi della scienza e della medicina in particolare, aiutano l'essere umano a sopravvivere, non sembra prevedibile che riusciranno a modificare sostanzialmente

il loro periodo di fertilità. Questo resterà prevedibilmente confinato dai 20 a 50 anni e anche se la spinta a procreare tardi venisse meno, implica un lunghissimo periodo, addirittura sui 100 anni se l'aspettazione dovesse arrivare a 150 a metà secolo come molti valutano. Quindi non solamente un aumento continuo della popolazione, ma anche un costante e inarrestabile invecchiamento. Ed è anche ovvio che l'eros pur se slegato dalla riproduzione come prima notato, non manca (e non mancherà) di subire l'invecchiamento e quindi a condizionare i meccanismi e le aspettative sociali. Quindi una società che evolverà in modo nuovo e non necessariamente sano e attraente per chi sarà destinato a viverla. Forse potrà andare incontro all'estinzione o a qualcosa di molto diverso di quello che intendiamo per "umano".

Tutte queste ipotesi fondate sull'extrapolazione potrebbero però non verificarsi. È possibile infatti che le future dinamiche dell'evoluzione fin qui arrivate darwinianamente, ma ormai più e più condizionate dall'intervento umano, ivi compreso su processi fisicochimici a noi accessibili, possano introdurre elementi nuovi finora inaspettati.

Per non parlare di una svolta tecnologica che permetta l'espansione della specie nel sistema solare (Marte sembrerebbe la meta più accessibile) o addirittura (fantascienza?) nel resto del cosmo.

Così come i nostri nonni non avrebbero mai potuto immaginare il mondo d'oggi come extrapolazione del loro, è possibile che la nostra analisi sull'evoluzione ad oggi, manchi fattori del tutto nuovi che ne condizioneranno il futuro.

NOTIZIE DAI CONGRESSI

LONGEVITÀ IN BUONA SALUTE

Dalla Dieta Mediterranea alla Mima Digiuno, opportunità preventive e terapeutiche

ROBERTO VOLPE*CNR Roma*

Nel convegno “Longevità in buona salute: dalla Dieta Mediterranea alla Mima Digiuno, opportunità preventive e terapeutiche”, che il Servizio Prevenzione e Protezione del CNR di Roma ha organizzato con la collaborazione di alcune fondazioni e società scientifiche nazionali (Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria-CREA, Fondazione Dieta Mediterranea-FDM, Nutrition Foundation of Italy-NFI, Società Italiana di Nutaceutica-SINUT, Società Italiana di Pediatria-SIP, Società Italiana per la Prevenzione Cardiovascolare-SIPREC, Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi-SISA) e internazionali (European Heart Network-EHN di Bruxelles) e che si è tenuto presso il CNR di Roma nella mattinata di mercoledì 23 ottobre 2019, si è affrontato il tema di come vivere più a lungo e meglio combattendo, attraverso uno stile di vita sano e attivo, i fattori di rischio (genere, diabete, dislipidemie, ipertensione arteriosa, obesità, fumo, vita sedentaria) correlati all'invecchiamento patologico e all'insorgenza delle patologie cronico-degenerative (malattie cardio-cerebrovascolari, malattie autoimmuni, cancro, Alzheimer, Parkinson).

A proposito di fattori di rischio, *Maria Grazia Modena* della SIPREC ha sottolineato come, quando parliamo di malattie cardiovascolari, pensiamo che esse siano di appannaggio soprattutto del genere maschile. Nella realtà, invece, esse rappresentano la principale causa di mortalità e disabilità femminile, risultando di gran lunga più frequenti di tutti i tumori femminili considerati nel loro insieme. Le donne sono più svantaggiate rispetto agli uomini perché:

- a) spesso trascurano la propria salute per dedicarsi all'assistenza dei familiari;
- b) hanno una bassa percezione del rischio e quindi sottovalutano i sintomi con conseguente ritardo nell'accesso ai servizi di Pronto soccorso;
- c) presentano manifestazioni cliniche specifiche e dunque di difficile inquadramento diagnostico;
- d) sono trattate farmacologicamente e chirurgicamente in modo meno aggressivo dei maschi, in quanto anche i medici ne sottovalutano il rischio cardiovascolare.

Inoltre, utilizzano farmaci che sono stati studiati su campioni prevalentemente maschili che, notoriamente, hanno una

diversa massa magra/massa grassa e un diverso metabolismo. Così pure si assiste, non di rado, ad avventi avversi e complicanze nell'utilizzo dei cateteri per angioplastica delle coronarie e degli stent, che vengono utilizzati anche nelle donne, ma senza considerare che le donne hanno vasi più piccoli e sottili.

Sandro Muntoni della SISA ha ricordato come, dalle nuove Linee Guida Europee 2019 delle Società Europee di Cardiologia (ESC) ed Aterosclerosi (EAS) per il trattamento delle dislipidemie, emerge la riduzione ulteriore, rispetto alle Linee Guida del 2016, dei livelli di LDL-colesterolo da raggiungere per ogni categoria di rischio (<55 mg/dL per i soggetti a rischio molto alto, e <70 mg/dL per i soggetti a rischio alto). Altro elemento fondamentale è rappresentato dai nuovi farmaci ipocolesterolemizzanti, gli inibitori della PCSK9, molto efficaci in caso di intolleranza alle statine o di mancato raggiungimento dell'obiettivo terapeutico nonostante l'utilizzo delle statine a massimo dosaggio più ezetimibe.

Per quanto riguarda l'argomento clou della giornata, l'importante e fondamentale ruolo preventivo e terapeutico dell'alimentazione, *Lorenzo Maria Donini* dell'Università "La Sapienza" di Roma ha sottolineato come il modello alimentare Mediterraneo continui a rappresentare un punto di riferimento dal punto di vista nutrizionale stante le tante dimostrazioni di efficacia nella prevenzione delle malattie cronico-degenerative, dallo storico Seven Countries Study al recente Studio Predimed. Essa è caratterizzata da alimenti prevalentemente di origine vegetale, come olio di oliva e olive, frutta, ortaggi, cereali (preferibilmente non raffinati), legumi, frutta secca, ma anche di origine animale, come pesce, moderato consumo di latte e derivati del latte, dall'occasionale consu-

mo delle parti magre di carne e affettati e con la moderata assunzione di vino durante i pasti principali.

Caratteristica di diversi alimenti mediterranei è anche e soprattutto la loro freschezza e stagionalità, con l'apporto di vitamine e polifenoli la cui azione antiossidante è in grado di contrastare i danni dei radicali liberi i quali, andando ad interagire con le cellule e con il nostro patrimonio genetico, con gli anni, sono causa di un invecchiamento patologico e dello sviluppo delle su citate malattie cronico-degenerative, a partire dalla demenza. Per la prevenzione di quest'ultima, *Stefania Maggi* della FDM, ha parlato dell'effetto contrastante la neuro-infiammazione da parte di omega-3, folati, vitamina E, carotenoidi e flavonoidi. La Maggi ha fatto notare come la maggior parte degli studi relativi all'introduzione di singole sostanze nutritive non abbia riscontrato un effetto benefico sulla cognizione, mentre gli stessi elementi valutati nel contesto di una dieta equilibrata e sana si sono spesso rivelati efficaci nel prevenire il declino cognitivo.

Se è vero che nessun alimento o ingrediente è definibile come "tossico" di per sé e che gli eventuali effetti negativi sulla salute vanno misurati sulla base dei livelli di esposizione (il sempre valido concetto di Paracelso "La dose fa il veleno"), è anche vero che gli alimenti ricchi di grassi idrogenati (chiamati anche acidi grassi insaturi a conformazione trans) appaiono associati positivamente alla demenza e non solo: a tal proposito, *Andrea Poli* della NFI, ha ricordato come questi ultimi abbiano effetti sfavorevoli a livello cardiovascolare e sulla mortalità per tutte le cause. Al contrario, interessanti sono i risultati di meta-analisi sugli acidi grassi saturi, in particolare di quelli a catena corta o a numero dispari di atomi di carbonio (C15, C17) tipici della filiera del latte, il cui consumo non si asso-

cia a un incremento degli eventi cardiovascolari o della mortalità totale.

Alessandro Laviano, dell'Università "La Sapienza" di Roma, ha evidenziato come le attività cellulari (ad esempio, trascrizione del DNA, sintesi proteica, rilascio di mediatori nello spazio circostante) non siano costanti, ma piuttosto fasiche, cosa che si traduce in ritmi circadiani specifici con una dinamica alternanza di fasi di maggiore e di minore attività metabolica. Tra i principali regolatori delle diverse fasi di attività cellulare vi sono la luce solare e il cibo. Sulla base di solide evidenze in modelli animali, è stato sviluppato il cosiddetto "time restricted feeding", approccio che si basa sulla restrizione oraria della finestra di alimentazione, che non dovrebbe superare le 8 ore. Ciò, in un attuale stile di vita che prevede un'alimentazione temporalmente incontrollata, non appare di facile modifica. Tuttavia, buoni risultati metabolici e nutrizionali sono stati raggiunti ritardando semplicemente di un'ora e mezzo la colazione e anticipando di un'ora e mezzo la cena evitando di mangiare dopo cena.

La "lettura" del convegno è stata affidata a *Valter Longo* dell'University of Southern California e responsabile del programma "Oncologia e Longevità" dell'IFOM (Istituto di Oncologia Molecolare della Fondazione Italiana Ricerca Cancro), che ha illustrato i risultati delle sue più che ventennali ricerche in laboratorio e di recenti studi clinici che hanno portato a sviluppare la cosiddetta "Dieta Mima Digiuno" (DMD o Fasting Mimicking Diet-FMD). Essa consiste in un regime alimentare basato sul consumo di cereali integrali, legumi, verdure e frutta di stagione, ma con una riduzione delle calorie tra il 50 e il 70%, che va seguito per cinque giorni e ripetuto a cicli (due-tre o più volte l'anno, a seconda dello stato di salute della per-

sona e del consiglio del medico curante). Nei topi di laboratorio, ad esempio, cicli di DMD hanno notevolmente ridotto sintomi e segni associati, ad esempio, a diabete, sclerosi multipla, malattie intestinali croniche, tumori. A proposito di intestino, la DMD ha dimostrato non solo di ridurre il grasso addominale (fonte di molecole pro-infiammatorie) ma, nel contempo, di stimolare anche un processo di riprogrammazione e rigenerazione cellulare. Questo "reset" del nostro organismo è stato evidenziato anche in studi clinici con una ricaduta positiva non solo sui parametri di infiammazione sistemica (ad esempio, sulla proteina C-reattiva), ma anche sui principali fattori di rischio cardiometabolici. Ne consegue un importante impatto positivo sulla prevenzione dell'invecchiamento prematuro e patologico e delle malattie cronico-degenerative. Inoltre, la DMD, al pari della Dieta Mediterranea, grazie al buon contenuto in acidi grassi monoinsaturi e in grassi omega-3 (grassi fondamentali nel mantenimento della struttura delle membrane delle cellule nervose), appare in grado di contrastare anche il declino della memoria spesso presente nell'invecchiamento e, pertanto, prevenire la demenza, garantendo un invecchiamento di qualità.

Ma, come ricordava Ippocrate circa 2.400 anni fa ("Se l'alimentazione o l'esercizio fisico sono inadeguati, il corpo si ammalerà"), la pratica regolare dell'attività fisica rappresenta, insieme alla corretta alimentazione e al non fumare, l'elemento fondamentale di uno stile di vita sano, in grado di produrre effetti positivi sulla salute sia fisica che psicologica delle persone, senza distinzione di genere e di età. Di questo ha parlato *Michelangelo Giampietro*, docente presso la Scuola dello Sport del CONI, evidenziando la chiara correlazione positiva tra l'entità dell'atti-

vità fisica e il miglioramento di molte alterazioni indotte dalla vita sedentaria come, ad esempio, la glicemia, l'insulino-resistenza, l'assetto lipidico, i valori di pressione arteriosa sistolica e diastolica, l'eccesso di tessuto adiposo, l'infiammazione. A tal riguardo, l'azione antinfiammatoria dell'attività fisica si esplicita mediante la produzione di miochine, adipochine, citochine antinfiammatorie prodotte e rilasciate dai muscoli scheletrici proprio durante la loro contrazione. Ma per vivere bene e più a lungo non dobbiamo solo prati-

care un'attività fisica programmata (pianificata) e organizzata, ma è altrettanto importante la cosiddetta "Termogenesi indotta dall'attività fisica non attribuibile all'esercizio fisico" (NEAT, Non Exercise Activity Thermogenesis), vale a dire l'energia spesa con i movimenti giornalieri spontanei legati alla vita di relazione e alle nostre abitudini (scuola, lavoro, attività domestiche, tempo libero) che possono rappresentare una grande opportunità per aumentare il nostro NEAT quotidiano a costo zero.

NOTIZIE DAI CONGRESSI

NOTIZIE DALL'AHA 2019

MANUELA CASULA

SEFAP - Servizio di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva,
Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

Nello scorso mese di novembre si è tenuto a Filadelfia (Pennsylvania, USA) il meeting annuale dell'American Heart Association (AHA). Tra gli argomenti discussi durante il congresso ricordiamo il ruolo dell'intervento percutaneo coronarico (PCI) nella cardiopatia ischemica e i risultati dell'International Study of Comparative Health Effectiveness with Medical and Invasive Approaches-Chronic Kidney Disease trial (ISCHEMIA-CKD) e di altri recenti studi clinici.

ISCHEMIA trial: intervento chirurgico o farmaci?

Considerato da molti come l'ultima possibilità di determinare il valore della rivascolarizzazione nella malattia coronarica stabile, il trial ISCHEMIA non è riuscito a mostrare un numero minore di eventi cardiovascolari (CV) con una strategia invasiva rispetto alla terapia farmacologica ottimale. Durante il follow-up (mediana 3,3 anni), le curve di Kaplan-Mayer per l'*end point* primario (composito di morte per cause cardiovascolari, infarto miocardico, ospedalizzazione per angina instabile,

ospedalizzazione per insufficienza cardiaca e risuscitazione dopo arresto cardiaco) erano simili nei due bracci; la strategia conservativa ha avuto meno eventi CV nei primi 2 anni, mentre la strategia invasiva mostrava esiti migliori tra il 3° e il 5° anno. Gli autori hanno calcolato che, per ogni paziente asintomatico in cui viene evitata l'angioplastica, si risparmierebbero \$ 500 milioni ogni anno.

ISCHEMIA-CKD: nessun guadagno con la strategia invasiva

La maggior parte dei pazienti con CKD in fase avanzata e ischemia da moderata a grave non avrebbe benefici in termini di sopravvivenza o di prevenzione dell'infarto in caso di intervento immediato di rivascolarizzazione, secondo il trial ISCHEMIA-CKD, uno dei pochi studi clinici focalizzato su questo sottogruppo di

Indirizzo per la corrispondenza

Manuela Casula
SEFAP, Dipartimento di Scienze Farmacologiche
e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano
Via Balzaretti, 9 - 20133 Milano
E-mail: manuela.casula@unimi.it

pazienti. Tuttavia, gli autori invitano alla cautela nell'estensione di questi risultati a pazienti nefropatici diversi da quelli inclusi nello studio.

COLCOT: colchicina promettente nella riduzione degli eventi nel post-infarto

L'aggiunta dell'anti-infiammatorio colchicina allo *standard of care* entro 30 giorni dall'infarto miocardico (IM) ha mostrato di ridurre significativamente l'*end point* composito di eventi CV. Nel trial COLCOT, 4745 soggetti dopo IM sono stati randomizzati a colchicina a bassa dose (0,5 mg) o a placebo; il trattamento attivo ha portato a una riduzione significativa dell'*end point* primario del 23% e di evento cardiovascolare ischemico (primo o ricorrente) del 34%. La ricollocazione di un farmaco ben noto come la colchicina potrebbe costituire uno strumento a basso costo per gestire il rischio di eventi CV ricorrenti nel post-infarto.

Programma ORION: notevole riduzione delle LDL con inclisiran

Il trial ORION-10 di fase 3 sul nuovo agente ipolipemizzante inclisiran, che viene somministrato due volte all'anno tramite iniezione sottocutanea, ha mostrato una riduzione del 58% dei livelli di colesterolo LDL (c-LDL) in un periodo di 18 mesi in soggetti con malattia aterosclerotica conclamata e già in trattamento con statine, con un profilo di *safety* paragonabile a quello del placebo. I risultati confermano quelli di un precedente trial di fase 3 con la stessa molecola, l'ORION-11. L'efficacia di inclisiran nei pazienti con ipercolesterolemia familiare è stata testata dal trial ORION-9: in questi soggetti il farmaco ha portato a una riduzione del 50% del c-LDL

in pazienti già trattati con la massima dose tollerata di statine, di cui metà in terapia combinata con ezetimibe.

Silenziamento genico: altri approcci per la riduzione lipidica

Altre due nuove terapie basate sul silenziamento di geni coinvolti nel metabolismo lipidico hanno mostrato risultati preliminari promettenti nei trial clinici: si tratta dei siRNA ARO-APOC3, diretto contro il gene dell'apolipoproteina C-III, e ARO-ANG3, contro il gene codificante per angiopoietin-like 3. Il primo è stato sviluppato per l'ipertrigliceridemia severa e la sindrome chilomicronemica familiare, il secondo per l'ipercolesterolemia familiare e altre malattie metaboliche. I siRNA hanno un'azione catalitica, e la stessa molecola è in grado di agire sull'RNA tramite diversi meccanismi, assicurando una durata sostanziale all'effetto farmacologico.

DAPA-HF: nuova opzione terapeutica per l'insufficienza cardiaca

Nel trial DAPA-HF, il trattamento con il inibitore del co-trasportatore 2 sodio/glucosio (SGLT2) dapagliflozin, *on top* ai trattamenti standard in soggetti con insufficienza cardiaca e ridotta frazione di eiezione, ha mostrato di ridurre significativamente il rischio non solo dell'*end point* primario composito, ma anche di mortalità e di diversi esiti secondari. I benefici non erano mediati dal ben noto effetto ipoglicemizzante di dapagliflozin, poiché il farmaco sembra essere efficace indipendentemente dalla presenza di diabete di tipo 2; inoltre, il risultato sull'*end point* primario era lo stesso in pazienti con livelli basali differenti di emoglobina glicata.

TWILIGHT-ACS: monoterapia con ticagrelor nei pazienti gravi con sindrome coronarica acuta

I pazienti con sindrome coronarica acuta (ACS) sembrano avere gli stessi benefici di altri pazienti ad alto rischio dalla monoterapia con ticagrelor dopo PCI, secondo i risultati del trial TWILIGHT-ACS. Le linee guida correnti raccomandano esplicitamente la doppia terapia antiplastrinica (DAPT) per un anno in presenza di ACS. Il trial TWILIGHT, tuttavia, aveva mostrato che l'interruzione di aspirina dopo 3 mesi e la prosecuzione di ticagrelor in monoterapia riduce il rischio di sanguinamento senza aumentare il rischio di eventi ischemici in soggetti con PCI e almeno due fattori di rischio, uno clinico e uno angiografico. Nel sottostudio su pazienti con angina instabile o infarto del miocardio, a un anno, l'*end point* primario di sanguinamento si è verificato meno frequentemente nel braccio con ticagrelor in monoterapia che in quello con ticagrelor più aspirina, con un beneficio indipendente dal livello di rischio del paziente.

Benefici di Sacubitril/Valsartan nei pazienti con insufficienza cardiaca (HF) e frazione di eiezione moderatamente ridotta

Ulteriori analisi dei trial PARADIGM e PARAGON su sacubitril/valsartan in pazienti con HF sembrano mostrare che i benefici della combinazione, osservati in pazienti con bassa frazione di eiezione (EF), si estendono a pazienti con EF moderatamente ridotta, e a *range* di EF maggiori nelle donne che negli uomini. PARA-

DIGM, riportato nel 2014, aveva mostrato chiari benefici di sacubitril/valsartan in pazienti con HF e ridotta EF rispetto a enalapril. Tuttavia, nel più recente PARAGON in pazienti con HF sintomatica ma EF preservata, la combinazione era associata a una modesta riduzione degli eventi, che non ha raggiunto significatività statistica rispetto al trattamento con solo valsartan.

EVAPORATE: prime evidenze sui meccanismi alla base dei benefici di Vascepa

I risultati *ad interim* di uno studio disegnato per spiegare i risultati del trial REDUCE-IT mostrano che un acido etileicosapentaenoico EPA sintetico (Vascepa) ad alte dosi è in grado di ridurre, ma non invertire, la progressione delle placche coronariche. In 67 soggetti ipertrigliceridici trattati con statine, non si è osservata una significativa differenza (variazione delle placche a bassa attenuazione) tra trattamento e placebo, anche se nel braccio attivo si è osservata una significativa minor progressione delle placche totali, non calcifiche, fibrose e calcifiche.

TST: portare le LDL sotto i 70 mg/dL riduce gli ictus ricorrenti

Il trattamento dei pazienti con livelli di c-LDL inferiori ai 70 mg/dL dopo un ictus ischemico di origine aterosclerotica comporta una riduzione del 22% nell'incidenza di ictus ricorrenti o di eventi CV maggiori rispetto al raggiungimento di livelli compresi tra 90 e 110 mg/dL, nonostante il trial sia stato sospeso precocemente per assenza di finanziamenti.

LETTERA AL GIORNALE

Caro editore,

gli autori dell'articolo "L'aterosclerosi è (anche) una malattia epigenetica", edito sul numero 3/2019 del "Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi", al di là dei dati molecolari e del taglio scientifico, hanno suscitato stimoli in un diabetologo clinico quale sono: complimenti! L'oggetto della richiesta è il seguente: a pagina 8 scrivete "...il fumo ha un forte effetto sulla metilazione del DNA su scala genomica, anche dopo cessazione...". È dato osservazionale che 24-36 mesi dopo la cessazione del fumo, diminuisce la morbilità per malattie cardiovascolari negli ex fumatori, quasi sino al livello dei controlli sovrapponibili per età e fattori di rischio. Come concorda con la vostra affermazione? A proposito di epigenetica, i soggetti concepiti in Olanda nel tragico inverno 1944-45, in cui più di un individuo morì di fame, nel corso della vita svilupparono in maniera statisticamente significativa intolleranza ai carboidrati (IGT), condizione prediabetica. L'altra domanda quindi è: esistono dati osservazionali sulle malattie CV nella discendenza dei fumatori, che siano padre, madre od entrambi? Se, come dite, le alterazioni epigenetiche restano nel genoma, dovrebbero rappresentare un fattore pro-aterogeno aggiuntivo a dispetto delle abitudini della discendenza. Grazie per lo stimolante articolo.

Maurizio Gianfreda

E-mail: gianfrediab@gmail.com

Gli autori rispondono

Caro collega,

grazie per l'interesse ed il *feedback* positivo! Crediamo che lo studio a cui fai riferimento sia quello pubblicato nel 2002 (G. Kaati et al., "Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period" Eur J Hum Genet, 10: 682-8, 2002). Noi stessi menzioniamo a lezione il possibile effetto epigenetico delle drastiche restrizioni alimentari del 1944, visto che le nipotine delle donne che hanno subito la carestia del 1944, sebbene perfettamente ben nutrite, hanno partorito neonati di peso ridotto ("Decreased birthweights in infants after maternal in utero exposure to the Dutch famine of 1944-1945," Paediatr Perinat Ep, 6: 240-53, 1992). Per sottolineare i possibili effetti epigenetici della nutrizione, va menzionato uno studio del 2003 in cui topine gravide vennero nutrite con cibi altamente metilanti. Tanto più ricca era la dieta in gruppi metilici, tanto più il pelo dei topini figli appariva giallo. E lo stesso si verificava nella generazione successiva, a seguito dell'attivazione "epigenetica" del gene aguti (MCB, 2003: 5293- 5300. <https://mcb.asm.org/content/23/15/5293>).

Un caso simile potrebbe verificarsi anche per quel che riguarda il fumo. Ossia, il “fumo” durante la gravidanza potrebbe avere un impatto sul profilo epigenetico della progenie. Alcuni lavori suffragano l'ipotesi che gli effetti del fumo sulla metilazione del DNA possano essere “persistenti”, in maniera tale da essere trasmessi dalla madre ai figli. Riteniamo che la questione (stabilità degli effetti epigenetici del fumo) sia aperta, così come la connessione tra questi effetti e malattie cardiovascolari. A tale proposito un lavoro recentissimo associa il fumo materno durante la gravidanza con la persistenza delle modificazioni epigenetiche nei neonati ed il rischio di malattie cardiovascolari nell'adolescenza della progenie. E con questo mi collego alla prima domanda: l'effetto epigenetico del fumo rimane uno (non l'unico) dei fattori di rischio per le malattie cardiovascolari. Alcune modifiche epigenetiche potrebbero essere reversibili (contrastate da modifiche concomitanti dello stile di vita?), altre meno. Potrebbe essere importante per quanto tempo e quanto la paziente ha fumato. Probabilmente, (anche a parità di altri fattori di rischio) ci sono influenze di genere e di razza. Pertanto, secondo noi, ci sta che la cessazione del fumo diminuisca la morbilità per CVD negli ex fumatori, quasi (!) sino al livello dei controlli.

M. Romano
F.E. Baralle

34° CONGRESSO NAZIONALE S.I.S.A. TRIESTE, 22/24.11.2020



SOCIETÀ ITALIANA
PER LO STUDIO
DELL'ATEROSCLEROSI



SEDE CONGRESSUALE

Trieste Terminal Passeggeri
Punto Franco Vecchio
C/o Mag. 1 - Molo IV
34135 Trieste

SEGRETARIA S.I.S.A.



V.le Maresciallo Pilsudski, 118
00197 Roma
Tel. 06 845431 • Fax 06 84543700
E-mail info@sisa.it • Web www.sisa.it

SEGRETARIA ORGANIZZATIVA



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



www.sisa.it

