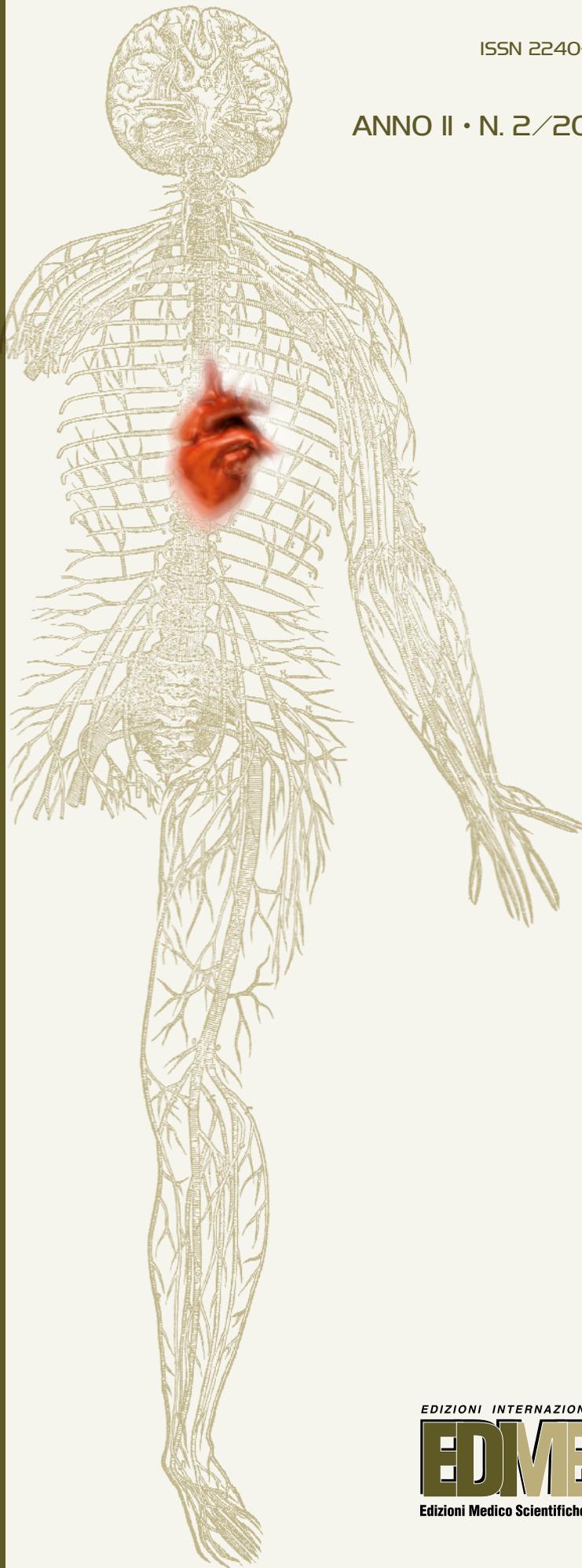


GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI

ISSN 2240-4821

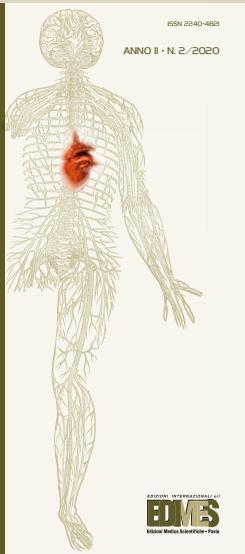
ANNO II • N. 2/2020



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. Salvio
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. Pisciotto (Genova)
A. Poli (Milano)
T. Sampietro (Pisa)
R. Sarzani (Ancona)
G.B. Vigna (Ferrara)
A. Zambon (Padova)

Segreteria editoriale

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

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

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

SOMMARIO

■ **LINEE GUIDA**

Classificazione del rischio cardiovascolare e obiettivi terapeutici alla luce delle recenti linee guida ESC/EAS 7
Cardiovascular risk classification and therapeutic objectives in light of recent ESC/EAS guidelines
Alberto Zambon, Manuela Casula

■ **PRATICA CLINICA**

Tra linee guida e norme regolatorie: è possibile raggiungere i target lipidici nel paziente a rischio cardiovascolare molto elevato? 18
Achieving lipid target in very high-risk patients between guidelines and prescription rules
Claudio Bilato, Marco James Bilato, Maria Chiara Corti

■ **FOCUS**

Cos'è uno studio di randomizzazione mendeliana e quali sono le applicazioni in ambito di dislipidemie 26
What is a Mendelian randomization study and what are the applications in the field of dyslipidemias
Federica Galimberti, Elena Olmastroni

■ **MECCANISMI DI MALATTIA**

Il trattamento dei difetti genetici e acquisiti di lipasi acida lisosomiale? 41
The treatment of primary and secondary lysosomal acid lipase deficiency
Livia Pisciotto, Andrea Pasta, Monica Gomasaschi

■ **FISIOPATOLOGIA**

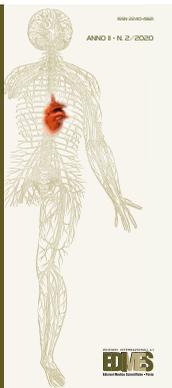
Metabolismo del ferro ed aterosclerosi: implicazioni fisiopatologiche e terapeutiche 53
Iron metabolism and atherosclerosis: pathophysiological and therapeutic implications
Lucia Marconi, Massimo R. Mannarino, Giulio Giordano, Matteo Pirro

■ **MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ**

Alimenti, salute ed ambiente: chi deve fare cosa? 68
Food, health and environment: who should do what?
Andrea Poli

■ **NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI**

American College of Cardiology 2020 72
Manuela Casula



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 Balzaretti, 7
20133 Milano
Tel. 0249636373
Fax 0249633384
E-mail: giornalearteriosclerosi@sisa.it

Condizioni di abbonamento

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

Periodicità

Trimestrale

Scopi

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

Lo scopo della rivista è quello di assistere il lettore fornendogli:

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

TIPOLOGIA E STRUTTURA DEGLI ARTICOLI

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

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

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

Lavori originali

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

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

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

Bibliografia

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

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

Rassegne

Il frontespizio dovrà contenere:

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

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

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

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

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

Glossario: È uno strumento di comunicazione fortemente raccomandato.

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

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

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

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

Casi clinici

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

Forum su Medicina, Scienza e Società

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

NOTE PER GLI AUTORI

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

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

Roma, 7 luglio 2020

Cari Soci,

vi scrivo questa breve nota per darvi un aggiornamento relativo a come il Consiglio Direttivo ha deciso di organizzare il Congresso Nazionale della nostra Società che, vi confermo, si terrà come previsto, nei giorni 22-24 novembre prossimo.

Valutando i suggerimenti dei Presidenti delle Sezioni Regionali e quelli provenienti dal Gruppo Giovani, il Direttivo ha definito il programma scientifico cercando di renderlo il più possibile attuale e centrato sui temi cari alla nostra Società. Ma come potete immaginare, gran parte del lavoro mio e dei Consiglieri è stato dedicato alla definizione delle modalità di svolgimento del Congresso che quest'anno saranno necessariamente innovative.

Come vi avevo anticipato in una mia precedente comunicazione, il Congresso SISA 2020 sarà virtuale utilizzando una modalità mista: alcune sessioni si svolgeranno in *live streaming* mentre altre in modalità registrata fruibili *on demand*. In particolare, lo Spazio Giovani si svolgerà in *live streaming* mentre le Comunicazioni Orali, che anche quest'anno saranno selezionate nel numero di 24, si svolgeranno in modalità registrata *on demand*. Quest'anno abbiamo deciso anche di organizzare 2 Minicorsi, anch'essi con modalità *on demand*.

In virtù di una migliore logistica, si è convenuto di organizzare a Roma le sessioni in *live streaming* che vedranno la presenza in studio solo dei relatori e moderatori coinvolti, oltre che del personale tecnico.

Per le attività *on demand*, si chiederà ai partecipanti di registrare le presentazioni da remoto (ad esempio dalla propria sede) in congruo anticipo e con un adeguato supporto tecnico; le presentazioni saranno poi fruibili *on demand* durante tutto il tempo del Congresso. Allo scopo di mantenere il più possibile l'interattività delle sessioni, saranno comunicati poi dei giorni in cui i presentatori dovranno dare la loro disponibilità ad essere presenti online per rispondere ad eventuali domande o quesiti che posso arrivare da coloro che hanno seguito le Comunicazioni.

Prevediamo infine di accettare anche Poster, che dovranno essere preparati in formato digitale e caricati sulla piattaforma congressuale. Non è prevista una discussione formale dei Poster anche se i presentatori potranno essere raggiunti via e-mail da coloro che volessero chiedere chiarimenti o inviare commenti.

Il Consiglio Direttivo ha inoltre deciso che la partecipazione al Congresso sarà free per tutti i Soci in regola con il pagamento delle quote associative e per tutti coloro che vorranno affiliarsi alla nostra Società.

Ovviamente il programma definitivo del Congresso e tutti gli ulteriori dettagli tecnici (ad es. la deadline per la presentazione degli abstract, le password per accedere alla piattaforma congressuale etc.) vi saranno tempestivamente comunicati dalla Segreteria o potranno essere trovati sia sul sito della nostra Società - www.sisa.it - sia su quello che l'Aristea ha predisposto per il Congresso: www.sisa2020.it

Confidando che anche per questa edizione vorrete confermare la entusiastica partecipazione delle edizioni precedenti, vi invio a nome mio e del Consiglio Direttivo un caro saluto e i migliori auguri per una serena estate



Prof. Marcello Arca
Presidente SISA

34° CONGRESSO NAZIONALE S.I.S.A. VIRTUAL EDITION DAL 22 NOVEMBRE 2020

SEGRETERIA S.I.S.A.

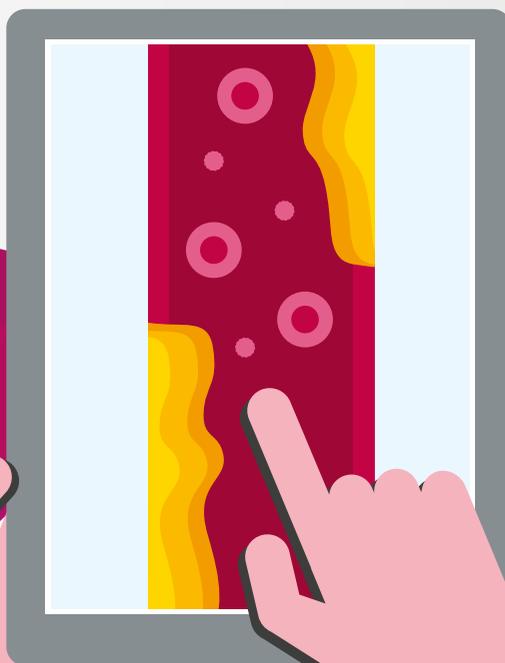


V.le Maresciallo Pilsudski, 118 • 00197 Roma
Tel. 06 845431 • Fax 06 84543700
E-mail info@sisa.it • Web www.sisa.it

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA



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



SOCIETA' ITALIANA
PER LO STUDIO
DELL'ATEROSCLEROSI

SAVE THE DATE

PRESENTAZIONE DEL NUMERO

■ Linee guida

Linee guida ESC/EAS 2019: classificazione del rischio e obiettivi terapeutici.

Le nuove linee guida supportano la valutazione multifattoriale del rischio globale ed integrano nell'algoritmo SCORE altri fattori di rischio oltre quelli lipidici. L'obiettivo è facilitare il processo decisionale degli operatori sanitari nella loro pratica quotidiana.

■ Pratica clinica

Tra linee guida e norme regolatorie: è possibile raggiungere i target lipidici nel rischio molto elevato?

Viene proposta una *flow-chart* che, tenendo conto dei livelli lipidici di partenza e della terapia già in atto, identifichi la migliore strategia terapeutica per raggiungere i valori *target* consigliati dalle linee guida, da applicare alla dimissione o da programmare nel *follow up* dei pazienti con sindrome coronarica acuta.

■ Focus

Cos'è uno Studio di Randomizzazione Mendeliana?

La randomizzazione Mendeliana rappresenta un tentativo di introdurre lo schema di randomizzazione in un contesto osservazionale, tramite l'utilizzo di dati genetici, per definire e stimare l'effetto causale di fattori di rischio modificabili. La rassegna fornisce le basi epidemiologiche di un nuovo strumento di conoscenza a coloro che avranno l'interesse di leggerla.

■ Meccanismi di Malattia

Il trattamento dei difetti genetici e acquisiti di lipasi acida lisosomiale.

Nell'ambito delle malattie da accumulo di colesterolo nei lisosomi, il deficit genetico di lipasi acida lisosomiale (LAL-D) è una rara patologia autosomica recessiva, caratterizzata da accumulo intra lisosomiale di esteri del colesterolo e trigliceridi in particolare nel fegato, milza e macrofagi. L'obiettivo di questa rassegna è fornire un quadro generale sui possibili approcci terapeutici nei pazienti affetti da LAL-D.

■ Fisiopatologia

Metabolismo del ferro ed aterosclerosi.

Esiste una chiara relazione tra metabolismo del ferro e sviluppo del processo aterosclerotico. La variabile espressione di hepcidina, ormone principe della regolazione dell'omeostasi del ferro, gioca un ruolo determinante nella sua distribuzione nei diversi tipi cellulari e nella predisposizione al danno aterosclerotico. La possibilità di modulare l'azione dell'hepcidina, quindi i livelli di ferro intracellulare nelle cellule effettrici del processo infiammatorio aterosclerotico, potrebbe rappresentare una delle prospettive future nell'ambito della terapia dell'aterosclerosi.

■ Medicina, Scienza e Società

Alimenti, salute e ambiente: chi deve fare cosa?

Riflessione sui limiti entro cui sia accettabile che le istituzioni intervengano direttamente per orientare i consumi alimentari del pubblico, con l'obiettivo di migliorarne lo stato di salute e/o la tutela dell'ambiente e quali strumenti possano essere legittimamente impiegati.

■ Notizie da Congressi

Notizie dal congresso dell'American College of Cardiology 2020.

LINEE GUIDA

CLASSIFICAZIONE DEL RISCHIO CARDIOVASCOLARE E OBIETTIVI TERAPEUTICI ALLA LUCE DELLE RECENTI LINEE GUIDA ESC/EAS

Cardiovascular risk classification and therapeutic objectives in light of recent ESC/EAS guidelines

ALBERTO ZAMBON^{1,2}, MANUELA CASULA^{2,3}¹Department of Medicine-DIMED, University of Padua, Padua, Italy;²RCCS MultiMedica, Sesto S. Giovanni (MI), Italy;³Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Epidemiology and Preventive Pharmacology Service (SEFAP), University of Milan, Milan, Italy**SUMMARY**

The aim of the 2019 ESC/EAS Guidelines is to facilitate decision making of health professionals in their daily practice. The new set of Guidelines, in line with the previous ESC/EAS Guidelines, supports the multifactorial evaluation of the global CV risk suggesting the use of the SCORE algorithm, but based on recently published the evidence from randomized clinical trial as well as Mendelian randomization studies introduces new concepts. There is no longer an 'LDL-C hypothesis', but established "facts" that increased LDL-C values are causally related to ASCVD, and that lowering LDL particles and other ApoB-containing lipoproteins as much as possible reduces CV events. Apo B may be a better measure of an individual's exposure to atherosclerotic lipoproteins, and its use is supported, as an alternative to LDL-C, in specific groups of patients such as those with high TG or diabetes. Calcium score by CT and carotid/femoral plaque evaluation by ultrasonography is also supported for a better CV risk stratification of our patients. The 2019 ESC/EAS Guidelines have proposed new LDL-C goals, as well as a revised CV risk stratification, specifically for high- and very-high-risk patients. In these patients, intensification of treatment goals has been recommended achieving the largest LDL-C reduction possible. These Guidelines set both a minimum percentage LDL-C reduction (50%) and an absolute LDL-C treatment goal of <1.4 mmol/L (<55 mg/dL) for very-high-risk patients, and <1.8 mmol/L (<70 mg/dL) for high-risk patients. There is no evidence of adverse effects of very low LDL-C concentrations [e.g. LDL-C<40 mg/dL].

Key words: Cholesterol; Lipid guidelines; Global cardiovascular risk; Treatment goals.

Indirizzo per la corrispondenza

Alberto Zambon
Department of Medicine-DIMED,
University of Padua, Padua, Italy
E-mail alberto.zambon@unipd.it

Nel mese di agosto dello scorso anno sono state pubblicate le nuove linee guida per la gestione delle dislipidemie (1), prodotte congiuntamente dall'*European Society of Cardiology* (ESC) e dall'*European Atherosclerosis Society* (EAS), a tre anni di distanza dalla precedente versione (2).

Il nuovo documento da un lato presenta elementi di continuità rispetto all'approccio precedentemente raccomandato, come la valutazione multifattoriale del rischio cardiovascolare, che integra nell'algoritmo SCORE (*Systematic Coronary Risk Estimation*) (3) altri fattori di rischio oltre quelli lipidici; dall'altro introduce alcuni punti innovativi, maturati sulla base delle più recenti evidenze. Negli ultimi anni, ad esempio, importanti studi clinici hanno dimostrato l'efficacia delle terapie con anticorpi monoclonali contro PCSK9 nel ridurre i livelli di colesterolo LDL (LDL-C) a valori inferiori rispetto a quelli raggiungibili con un trattamento intensivo con statine, con conseguente ulteriore riduzione significa-

tiva degli eventi cardiovascolari nei pazienti con malattia cardiovascolare su base aterosclerotica (ASCVD) e sindrome coronarica acuta (ACS). Una serie di analisi in sottogruppi degli studi FOURIER (4) e ODYSSEY OUTCOMES (5) ha fornito spunti chiave per aiutare i clinici a indirizzare il trattamento in quei pazienti a più alto rischio cardiovascolare assoluto, che verosimilmente trarranno maggiori benefici dall'aggiunta di un inibitore PCSK9. In particolare, i principali candidati all'uso degli inibitori del PCSK9 nella pratica clinica sono gli individui ad alto rischio con eventi coronarici ricorrenti, malattie cardiovascolari aterosclerotiche clinicamente rilevanti, arteriopatia periferica (PAD) e punteggio più alto di rischio cardiovascolare globale. Inoltre, sono emersi ulteriori dati dallo studio IMPROVE-IT (6) con ezetimibe, che hanno dimostrato un beneficio cardiovascolare maggiore nei soggetti ad alto rischio con diabete post-ACS rispetto a soggetti non diabetici, riflettendo il rischio assoluto più elevato di questo gruppo. Accanto alle evidenze dai trial clinici, si è incrementata la conoscenza dell'impatto delle varianti genetiche che influenzano i livelli di LDL-C ed il rischio di cardiopatia ischemica, guidata in gran parte dai risultati degli studi di randomizzazione mendeliana (7), suggerendo ancora l'opportunità di ottenere maggiori benefici con un trattamento precoce dei soggetti a più alto rischio di complicanze cliniche di ASCVD.

L'importanza della prevenzione CV rimane indiscussa e deve essere promossa a diversi livelli:

- 1) nella popolazione generale, promuovendo comportamenti e stili di vita sani;
- 2) a livello individuale, in soggetti a moderato e ad alto rischio di malattia cardiovascolare o in pazienti con CVD conclamata, adottando uno stile di vita sano (ad esempio combattendo la scarsa qua-

Bullet Points

- Le Nuove Linee Guida per la Gestione delle Dislipidemie, prodotte congiuntamente dall'European Society of Cardiology (ESC) e dall'European Atherosclerosis Society (EAS) sono state pubblicate nell'agosto 2019, a tre anni di distanza dalla pubblicazione delle linee guida EAS/ESC 2016.
- Le nuove linee guida confermano l'approccio al paziente, a partire dalla caratterizzazione del rischio cardiovascolare globale e dalla stratificazione in classi di rischio, a ciascuna delle quali viene assegnato un obiettivo terapeutico in termini di livelli di colesterolo LDL: questi obiettivi rispettano l'approccio secondo cui più basso è il livello di LDL-C, migliore è la prevenzione CV in questi pazienti ad alto rischio.
- D'altra parte, le linee guida incorporano le più recenti evidenze dagli studi clinici, che hanno dimostrato l'efficacia di alcuni farmaci innovativi nel ridurre i livelli di colesterolo LDL a valori inferiori di quelli raggiunti con un trattamento intensivo con statine.

lità della dieta, l'inattività fisica e il fumo) e minimizzando l'impatto dei fattori di rischio cardiovascolare quali i livelli lipidici o la pressione arteriosa.

Valutazione del rischio cardiovascolare globale

Le linee guida europee ribadiscono la valutazione del rischio CV globale, attraverso modalità che tengano conto dell'effetto combinato di una serie di fattori di rischio. La prevenzione della ASCVD in una determinata persona dovrebbe essere correlata al suo rischio CV totale: maggiore è il rischio, più intenso dovrebbe essere l'intervento. Sono disponibili numerosi sistemi di valutazione, basati su dati di coorte specifici per singoli Paesi. Nel contesto europeo, le linee guida suggeriscono l'adozione del sistema SCORE (3, 8), che si basa su set di dati di coorti europee estese e rappresentative, e che può essere ricalibrato per l'uso in diverse popolazioni regolando le variazioni secolari nella mortalità per CVD e nella prevalenza dei fattori di rischio. Il sistema SCORE stima il rischio cumulativo a 10 anni di un primo evento aterosclerotico fatale sulla base di età, sesso, fumo, pressione arteriosa sistolica e colesterolo totale. Le stime del rischio sono state prodotte come tabelle grafiche per le regioni ad alto e basso rischio in Europa.

Il documento europeo elenca anche una serie di fattori che possono modulare il rischio stimato dallo SCORE (9). Tra questi, i livelli di HDL-C, particolarmente quando ridotti, che hanno un impatto additivo illustrato da grafici appositamente stratificati in funzione di tali livelli (10). Inoltre, la privazione sociale e lo stress psicosociale pongono le basi per un aumento del rischio (11). Per i soggetti a rischio moderato, altri fattori, inclusi fattori metabolici come au-

mento di ApoB, lipoproteina (a) [Lp (a)], trigliceridi (TG) e proteina C-reattiva, la presenza di albuminuria, la presenza di placche aterosclerotiche nelle arterie carotidee o femorali, o il *calcium score* dell'arteria coronaria (CAC) (12), possono migliorare e raffinare la classificazione del rischio cardiovascolare individuale. Nelle persone asintomatiche ma con segni di danno vascolare aterosclerotico subclinico, il rischio CV totale sarà più elevato di quanto indicato dallo SCORE. Le persone con ASCVD documentato, diabete mellito di tipo 1 o di tipo 2 (T1DM e T2DM, rispettivamente), livelli molto elevati di fattori di rischio individuali o malattia renale cronica (CKD) vanno considerate *per se* a rischio CV molto elevato o elevato. Non sono necessari modelli di stima del rischio per tali soggetti: hanno tutti bisogno di un'efficace gestione attiva di tutti i fattori di rischio eventualmente presenti.

La valutazione del rischio tramite sistema SCORE può aiutare nella individuazione e nella gestione dei rischi, ma deve essere interpretata alla luce delle conoscenze e dell'esperienza del medico e della probabilità a priori del paziente di sviluppare CVD. Ad esempio, è importante osservare che le stime del rischio sono più basse nelle donne che negli uomini. Tuttavia, il rischio nelle donne è solo differito: il rischio di una donna di 60 anni è simile a quello di un uomo di 50 anni, e in definitiva più donne muoiono per CVD rispetto agli uomini.

Le linee guida affrontano anche la questione della stima del rischio nel paziente anziano. In alcune categorie di età, la maggior parte dei soggetti (in particolare degli uomini) mostrerebbero un rischio stimato elevato solo in virtù dell'età, anche quando gli altri livelli dei fattori di rischio sono relativamente bassi. Questo potrebbe portare a un uso eccessivo di farmaci negli an-

ziani e deve essere attentamente valutato dal medico. Studi recenti hanno dimostrato che gli algoritmi di rischio tendono a sovrastimare il rischio in soggetti oltre i 55 anni. Le carte SCORE pubblicate nel documento sono frutto di una rielaborazione che ha consentito di estendere la valutazione del rischio fino ai 75 anni di età. Si ribadisce, però, che se da un lato sono indubbi i benefici derivati dall'interruzione del fumo e dal controllo dell'ipertensione e della iperlipidemia, la decisione di iniziare una terapia farmacologica nell'anziano deve dipendere da un attento giudizio da parte del medico.

Un altro punto critico riguarda i giovani con alti livelli di singoli fattori di rischio, in quanto un basso rischio assoluto può nascondere un altissimo rischio relativo che richiede drastiche modifiche dello stile di vita. Per motivare i giovani a non ritardare questi cambiamenti, può essere utile illustrare la stima del loro rischio relativo, mostrando che i cambiamenti nello stile di vita possono ridurre sostanzialmente il rischio relativo. Perciò, un uomo di 40 anni, non fumatore, con livelli di colesterolo nella norma ma con livelli pressori sistolici di almeno 180 mmHg avrebbe un rischio assoluto di eventi cardiovascolari fatali a 10 anni inferiore all'1%. Tuttavia, rispetto a un soggetto normoteso (rischio relativo), avrebbe un rischio 3 volte maggiore, solo in virtù del fattore ipertensione. Se si aggiungesse la condizione di fumatore, il suo rischio corrisponderebbe a 6 volte quello di un soggetto con livelli normali dei fattori di rischio.

Un altro approccio alla comunicazione del rischio ed alla sensibilizzazione alla sua gestione nei giovani è usare il concetto di *CV risk age* (13), cioè l'età di un soggetto con lo stesso punteggio di rischio ma con livelli ideali di fattori di rischio. Così, un soggetto quarantenne, iperteso, fumatore

e con livelli di colesterolo tra 200 e 250 mg/dL ha lo stesso rischio di incorrere in un evento cardiovascolare fatale nei successivi 10 anni di un soggetto senza fattori di rischio ma di 60 anni di età. Questo è un modo intuitivo e facilmente comprensibile di illustrare la probabile riduzione della speranza di vita in un giovane con un basso rischio assoluto ma elevato rischio relativo di CVD se non vengono adottate tempestivamente misure preventive.

Le nuove linee guida raccomandano un approccio permanente al rischio CV, implicando che le persone di tutte le età dovrebbero essere incoraggiate ad adottare o sostenere uno stile di vita sano e l'approccio di gestione dei lipidi deve essere personalizzato, stratificando i pazienti in categorie di rischio, ognuna con un obiettivo terapeutico specifico.

Stratificazione dei pazienti in base al rischio cardiovascolare

L'inquadramento del paziente deve partire dalla stima del rischio cardiovascolare (*Tabella 1*). Questa non rappresenta solo un'indicazione al medico per la scelta dell'approccio terapeutico più corretto, ma costituisce un utile strumento nel processo di comunicazione del rischio al paziente, essenziale per sensibilizzare e consapevolizzare in merito all'importanza degli interventi preventivi.

Tuttavia, un punto importante, più volte ribadito all'interno del documento, è che la stima del rischio CV totale fa parte di un continuum. I *cut off* utilizzati per definire il rischio elevato sono, in parte, sia arbitrari che basati sui livelli di rischio a cui è evidente il beneficio negli studi clinici. Come tale, la distinzione in classi di rischio, così come l'indicazione di specifici obiettivi terapeutici, sono da intendersi a supporto della pratica clinica, allo scopo di facilitare

Tabella 1 - Criteri per la classificazione dei pazienti a rischio alto o molto alto secondo le nuove linee guida europee 2019 per la gestione delle dislipidemie.

Rischio molto alto	<ul style="list-style-type: none"> - ASCVD documentata, clinicamente o tramite imaging: sindrome coronarica acuta, angina stabile, rivascularizzazione coronarica, ictus o attacco ischemico transitorio, patologia arteriosa periferica. Una ASCVD documentata tramite imaging include riscontri noti per essere associati allo sviluppo futuro di eventi clinici, come una placca rilevante all'angiografia coronarica, o alla TAC (malattia coronarica multivasale, con due arterie epicardiche principali con stenosi >50%) o all'ultrasonografia carotidea. - Diabete mellito (DM) con danno d'organo (microalbuminuria, retinopatia, neuropatia) o almeno 3 fattori di rischio CV, o DM di tipo 1 comparso precocemente e presente da più di 20 anni. - Nefropatia cronica severa (eGFR <30 mL/min/1,73 m²) - SCORE ≥10% per il rischio a 10 anni di CVD fatale. - Ipercolesterolemia familiare con ASCVD o un altro fattore di rischio CV.
Rischio alto	<ul style="list-style-type: none"> - Singoli fattori di rischio particolarmente elevati, come colesterolo totale >310 mg/dL (>8 mmol/L), LDL-C >190 mg/dL (>4,9 mmol/L) o pressione arteriosa ≥180/110 mmHg. - Ipercolesterolemia familiare senza altri fattori di rischio CV. - Diabete mellito senza danno d'organo, ma presente da almeno 10 anni o in concomitanza ad un altro fattore di rischio CV. - Nefropatia cronica moderata (eGFR 30–59 mL/min/1,73 m²). - SCORE ≥5% e <10% per il rischio a 10 anni di CVD fatale.
Rischio moderato	<ul style="list-style-type: none"> - Diabete in soggetti giovani (T2DM <35 anni, T2DM <50 anni), presente da meno di 10 anni e in assenza di altri fattori di rischio - SCORE ≥1% e <5% per il rischio a 10 anni di CVD fatale.
Rischio basso	<ul style="list-style-type: none"> - SCORE <1% per il rischio a 10 anni di CVD fatale.

la gestione dei pazienti. Questo non esenta il medico da una valutazione accurata e personalizzata.

Target e obiettivi terapeutici

Una dichiarazione di consenso EAS recentemente pubblicata (14), basata su evidenze da studi genetici, studi epidemiologici, studi di randomizzazione Mendeliana e studi clinici randomizzati, ha mostrato chiaramente il ruolo causale del LDL-C nell'aterogenesi. Ciò implica che indirizzare gli sforzi alla gestione dei livelli di LDL-C, e farlo il più presto possibile, avrà maggiori benefici in termini di prevenzione CV. Particolare considerazione è data ai risultati delle meta-analisi che confermano la riduzione dose-dipendente di ASCVD con agenti ipolipemizzanti; maggiore è la riduzione assoluta di LDL-C, maggiore è la riduzione del rischio CV. I benefici relativi alla riduzione di LDL-C non

sono specifici per la terapia con statine (6). Non è stato definito un livello di LDL-C al di sotto del quale il beneficio cessa o si verifica un danno.

L'approccio alla gestione dei lipidi mira principalmente a ridurre il rischio aterosclerotico abbassando sostanzialmente i livelli di LDL-C. Gli obiettivi definiti per inferenza per il colesterolo non-HDL (15) e per ApoB (16) sono considerati secondari in quanto questi marker non sono stati ampiamente studiati negli studi randomizzati. Inoltre, ad oggi, negli studi clinici non sono stati determinati obiettivi specifici per i livelli di colesterolo HDL o di trigliceridi (Tabella 2).

I medici chiedono spesso soglie per stabilire le modalità di intervento. Come già detto, questo può essere problematico, poiché il rischio cardiovascolare è un continuum e non esiste una soglia alla quale, ad esempio, viene automaticamente indicato un farmaco. Questo è vero per tutti i fattori di

rischio continui come colesterolo plasmatico, glicemia o pressione arteriosa. È perciò imperativo che i clinici siano consapevoli del fatto che i valori suggeriti sono meramente indicativi: i punti cardine di una corretta gestione lipidica nell'ottica della prevenzione cardiovascolare sono la valutazione individuale del rischio globale del soggetto, che tenga conto delle condizioni cliniche pregresse e attuali e dei fattori di rischio tradizionali e non, e un intervento che riduca quanto più possibile i livelli di LDL-C, sia questo ottenuto con modifiche dello stile di vita, una terapia farmacologica standard o le più recenti e potenti opzioni terapeutiche. D'altra parte, l'esperienza ha suggerito che l'indicazione di un valore preciso come obiettivo terapeutico semplifica la comunicazione medico-paziente e promuove la consa-

pevolezza e l'aderenza al trattamento del paziente stesso.

In linea generale, i soggetti ad alto rischio dovrebbero essere identificati e gestiti prontamente. I livelli di LDL-C devono essere ridotti il più possibile per prevenire le malattie cardiovascolari. Le raccomandazioni indicano, per i pazienti a rischio molto alto (sia in prevenzione primaria che in quella secondaria), l'obiettivo di <55 mg/dL (o <1,4 mmol/L) e almeno il 50% di riduzione dei livelli basali di LDL-C. Nei pazienti ad alto rischio, l'obiettivo di LDL-C è <70 mg/dL (o <1,8 mmol/L) e almeno il 50% di riduzione dai livelli basali di LDL-C. Questi obiettivi rispettano l'approccio secondo cui più basso è il livello di LDL-C, migliore è la prevenzione CV in questi pazienti ad alto rischio.

Tabella 2 - Target e obiettivi per gli interventi di prevenzione cardiovascolare.

Fumo	Nessuna esposizione
Dieta	Dieta sana a basso contenuto di grassi saturi, con particolare attenzione a prodotti integrali, verdure, frutta e pesce.
Attività fisica	3,5-7 h di attività fisica moderatamente vigorosa a settimana o 30-60 minuti quasi tutti i giorni.
Peso	Indice di massa corporea (BMI) 20-25 kg/m ² e circonferenza della vita <94 cm (uomini) e <80 cm (donne).
Pressione arteriosa	<140/90 mmHg
LDL-C	<i>Rischio molto alto o prevenzione secondaria:</i> Un regime terapeutico che raggiunge una riduzione del LDL-C ≥50% dal basale e un obiettivo di LDL-C <1,4 mmol/L (<55 mg/dL). <i>Rischio alto</i> Un regime terapeutico che raggiunge una riduzione del LDL-C ≥50% dal basale e un obiettivo di LDL-C <1,8 mmol/L (<70 mg/dL). <i>Rischio moderato</i> Un obiettivo di LDL-C <2,6 mmol/L (<100 mg/dL). <i>Basso rischio:</i> Un obiettivo di LDL-C <3,0 mmol/L (<116 mg/dL).
Non-HDL-C	Come target secondario: <2,2, 2,6 e 3,4 mmol/L (<85, 100 e 130 mg/dL) per le persone a rischio molto alto, alto e moderato, rispettivamente.
ApoB	Come target secondario: <65, 80 e 100 mg/dL per le persone a rischio molto alto, alto e moderato, rispettivamente.
Trigliceridi	Nessun obiettivo specifico, anche se livelli <1,7 mmol/L (<150 mg/dL) indica un rischio più basso, mentre livelli più alti indicano la necessità di valutare altri fattori di rischio.
Diabete	Emoglobina glicata (HbA1c): <7% (<53 mmol/L).

Una novità delle linee guida è il riconoscimento del fatto che i pazienti con ACS hanno un rischio molto elevato di eventi ricorrenti. Se i pazienti manifestano un secondo evento vascolare entro 2 anni (non necessariamente dello stesso tipo del primo evento) nonostante la terapia con statine alla massima dose tollerata, può essere considerato un obiettivo di LDL-C <40 mg/dL (<1,0 mmol/L).

D'altra parte, le linee guida ribadiscono che i soggetti a rischio moderato dovrebbero ricevere una consulenza professionale in merito ai cambiamenti dello stile di vita; in alcuni casi, è opportuno avviare una terapia farmacologica per ridurre il rischio aterosclerotico.

Infine, le persone a basso rischio dovrebbero ricevere consigli per aiutarle a mantenere questo status.

Note di confronto tra linee guida ESC/EAS 2019 e linee guida ACC/AHA 2018

Le Linee guida ESC/EAS 2019 per la gestione delle dislipidemie sono state annunciate all'ESC 2019, nove mesi dopo la pubblicazione delle Linee guida multisocietà ACC/AHA 2018 per la gestione del colesterolo plasmatico (17). Una domanda importante per gli operatori sanitari interessati alla prevenzione cardiovascolare è: come si confrontano queste due linee guida? Quali sono le differenze e le somiglianze? Di seguito alcune brevi considerazioni.

Vi sono indubbiamente punti simili in entrambe le linee guida, ad esempio l'aumento dell'uso della terapia con statine e l'intensità del trattamento stesso rispetto ai livelli di rischio. L'enfasi è su LDL-C come obiettivo primario per il trattamento in entrambe le linee guida, sia attraverso la farmacoterapia che le scelte di stile di vita.

Come suggerito dalle attuali evidenze, ogni diminuzione di LDL-C di una mmol/L o 40 mg/dL comporta una riduzione di circa il 22% del rischio di malattie cardiovascolari. In entrambe le linee guida, si raccomanda una riduzione del 50% o più del LDL-C; tuttavia, se questi livelli non vengono raggiunti, si consiglia una terapia non statinica per i pazienti "ad alto rischio". Inoltre, entrambe le linee guida concordano sull'utilizzo di sistemi di punteggio (*Risk Scoring Systems*) accettati per valutare il rischio cardiovascolare. Ad esempio, il ACC/AHA ASCVD (*Atherosclerotic Cardiovascular Disease*) Risk Estimator e lo SCORE europeo, insieme al processo decisionale clinico condiviso. Ambedue i set di linee guida riconoscono che raccomandazioni più specifiche vengono suggerite in presenza di un rischio CV aumentato per il paziente sulla base della presenza di specifici "risk modifiers". L'ACC/AHA ha considerato nelle sue linee guida fattori che potrebbero modificare il rischio di CVD, ad esempio età, storia familiare, ecc. Nelle linee guida ESC/EAS 2019, sono stati inclusi altri ulteriori fattori, ad esempio l'obesità, la depressione sociale ecc. Va notato che questi fattori devono essere ponderati l'uno rispetto all'altro.

D'altra parte, sono anche state osservate differenze importanti nelle definizioni del paziente a rischio CV molto elevato e sugli approcci terapeutici da utilizzare nella gestione clinica di tali pazienti. L'ACC/AHA afferma che questi pazienti a rischio CV molto elevato sono essenzialmente i pazienti in "prevenzione CV secondaria", cioè pazienti con pregressi eventi CV maggiori. Le linee guida ESC/EAS 2019 affermano che un rischio CV molto elevato descrive qualsiasi paziente con una malattia aterosclerotica documentata, clinicamente o attraverso precise metodiche di *imaging*. Appare evidente quindi che le linee guida

europee includono nella coorte di pazienti a rischio CV molto elevato un gruppo di pazienti più ampio.

Per la gestione di questi pazienti, le linee guida ACC/AHA affermano che l'ezetimibe può essere usato dopo che la terapia con statine sia stata massimizzata. In definitiva, l'obiettivo è ridurre LDL-C del 50% o più. L'ESC/EAS 2019 suggerisce, oltre alla riduzione del 50%, che LDL-C dovrebbe essere inferiore a 55 mg/dL ad es. anche nei pazienti con T2DM con un rischio CV molto elevato. Tuttavia, ACC/AHA indica nei pazienti diabetici statine a moderata efficacia, offrendo ai medici la possibilità di passare alla terapia con statine ad elevata efficacia se il paziente è caratterizzato dalla contemporanea presenza di molteplici "risk enhancers" specifici per il diabete.

Le linee guida ACC/AHA, anche alla luce della loro pubblicazione meno recente (2018) rispetto alle linee guida EAS/

ESC 2019, raccomandano una soglia di 70 mg/dL prima dell'uso della terapia non-statinica per i pazienti a rischio CV molto elevato. Questa è la stessa soglia stabilita in entrambi gli studi clinici FOURIER (4) e ODYSSEY OUTCOMES (5). Includere una soglia per le opzioni di trattamento consente al paziente di essere coinvolto nel processo decisionale clinico. Le linee guida ESC/AHA raccomandano inoltre di utilizzare l'ezetimibe come *add-on therapy* di prima scelta, poiché può essere somministrata per via orale ed è generica. L'obiettivo della terapia dal punto di vista ACC/AHA è focalizzato ai pazienti che trarrebbero maggiori benefici clinici, ad esempio quelli con punteggi di rischio elevati per trombolisi nell'infarto miocardico.

Per l'utilizzo degli inibitori del PCSK9, ESC/EAS sono più aggressive negli obiettivi di LDL-C prefissati, puntando ad una riduzione di almeno il 50% o a livelli inferiori a 55 mg/dL, mentre ACC/AHA ha un livello soglia di 70 mg/dL. I risultati degli studi della Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration (18), IMPROVE-IT (6), FOURIER and ODYSSEY-OUTCOMES, sono stati tutti citati e presi in considerazione negli orientamenti ESC/EAS 2019 per supportare l'obiettivo raccomandato di LDL-C inferiore a 55 mg/dL nei soggetti a rischio CV molto elevato. Inoltre, gli studi FOURIER e ODYSSEY-OUTCOMES sono stati utilizzati per supportare l'obiettivo di livelli di LDL-C inferiori a 40 mg/dL per i pazienti che, in terapia massimale con statina, sono andati incontro a ricorrenti eventi cardiovascolari negli ultimi due anni.

Infine, negli orientamenti ACC/AHA sono state prese in considerazione valutazioni di costo/beneficio della terapia ipolipemizzante, mentre nelle raccomandazioni europee ciò non è stato menzionato.

Glossario

ASCVD: malattia cardiovascolare su base aterosclerotica

CHD: malattia coronarica

CV: cardiovascolare

CTT: Cholesterol Treatment Trialists

DM: Diabete mellito

EAS: European Atherosclerosis Society

ESC: European Society of Cardiology

FOURIER: Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk

IMPROVE-IT: Improved Reduction of Outcomes: Vytarin Efficacy International Trial

ODYSSEY: Outcomes Evaluation of Cardiovascular Outcomes After an Acute Coronary Syndrome During Treatment With Alirocumab

LDL-C: colesterolo trasportato da lipoproteine a bassa densità

PCSK9: proprotein convertase subtilisin/Kexin 9

SCORE: Systematic Coronary Risk Estimation

Messaggi chiave conclusivi

Le nuove linee guida ESC/EAS 2019 si basano sulle evidenze più recenti nel trattamento delle dislipidemie in ambito di prevenzione cardiovascolare allo scopo di assistere gli operatori sanitari nella scelta della strategia terapeutica più appropriata in base al rischio cardiovascolare individuale di ciascun paziente. I concetti chiave delle recenti linee guida possono essere riassunti in alcuni punti:

- 1) Il colesterolo LDL è inequivocabilmente una causa di CVD in base a studi epidemiologici, studi prospettici, clinici randomizzati e studi di randomizzazione mendeliana. La correlazione lineare tra riduzione di LDL-C e diminuzione degli eventi CV, *“The Lower The Better”*, è confermata sino a livelli di LDL-C ben al di sotto di 1 mmol/L o 40 mg/dl e tale beneficio clinico è strettamente correlato alla riduzione assoluta (in mg/dL) di LDL-C. Ad oggi non sono noti effetti avversi di concentrazioni di LDL molto basse (ad es. <40 mg/dL).
- 2) Gli inibitori di PCSK9 sono in grado di ridurre ulteriormente il rischio CV quando somministrati in aggiunta a statine in pazienti a rischio CV molto elevato.
- 3) L'uso dell'imaging cardiaco per la stratificazione del rischio, in particolare il calcolo del calcio coronarico, può essere utile per prendere decisioni in merito al trattamento nelle persone a rischio CV. Di simile significato la presenza, valutata ecograficamente, di placche carotidee o femorali.
- 4) I livelli di Non HDL-C, ma soprattutto i livelli di Apo B, rappresentano una efficace e specifica misura dell'esposizione di un individuo alle lipoproteine aterosclerotiche, e quindi ove possibile l'utilizzo di Apo B, può essere particolarmente utile per una valutazione più ac-

Questionario di auto-apprendimento

1. L'algoritmo SCORE (*Systematic Coronary Risk Estimation*) consente

- a) di confrontare il rischio cardiovascolare con e senza trattamento di prevenzione
- b) di stimare il rischio di incorrere in un evento cardiovascolare fatale nei successivi 10 anni
- c) di stimare il rischio di eventi ricorrenti
- d) di conoscere la probabilità di un evento coronarico sulla base dei soli livelli lipidici

2. Il target primario nella prevenzione cardiovascolare attraverso la gestione della dislipidemia

- a) è il colesterolo LDL
- b) sono il colesterolo LDL e l'ApoB
- c) sono il colesterolo LDL e la Lp(a)
- d) è il colesterolo non-HDL

3. Il calcio coronarico

- a) è uno dei target secondari della terapia di prevenzione cardiovascolare
- b) è un modulatore del rischio CV calcolato con l'algoritmo SCORE
- c) va misurato in tutti i soggetti, indipendentemente dal rischio
- d) non ha nessuna utilità clinica

4. I soggetti con diabete mellito

- a) sono da considerarsi a rischio basso se la glicemia è ben controllata
- b) hanno un rischio cardiovascolare simile a quello di pazienti con ipercolesterolemia familiare senza altri fattori di rischio
- c) possono essere considerati come pazienti a rischio CV moderato, alto o molto alto in funzione della durata della malattia, della presenza di danno d'organo e della concomitanza di altri fattori di rischio
- d) vanno sempre considerati come soggetti a rischio molto alto

5. L'indicazione di livelli di colesterolo LDL come obiettivo terapeutico

- a) è in parte arbitraria, in parte basata sui dati dai trial clinici
- b) aiuta il clinico nella comunicazione al paziente
- c) aiuta il paziente a seguire attivamente la terapia
- d) tutte le precedenti

Risposte corrette

1=B, 2=A, 3=B, 4=C, 5=D

curata del rischio CV nelle persone in cui la misurazione di LDL-C sottovaluta tale rischio, ad esempio i pazienti con elevati TG, i diabetici, gli obesi.

- 5) La misurazione dei livelli di Lp (a) va effettuata almeno una volta in ciascun paziente al fine di identificare le persone con Lp (a) molto elevato che possono avere un rischio CV elevato.
- 6) La massima riduzione possibile di LDL-C deve essere perseguita puntando ad una riduzione di almeno il 50% dei valori basali ed obiettivi assoluti <1,4 mmol/L (<55 mg/dL) nei pazienti a rischio molto elevato e <1,8 mmol/L (<70 mg/dL) nei pazienti ad alto rischio. Nei pazienti con eventi CV ricorrenti, l'obiettivo è il raggiungimento di LDL-C <40 mg/dL.
- 7) Il trattamento di pazienti con ACS (infarto miocardico o angina) recente: evidenze recenti supportano una strategia di intensificazione della terapia per abbassare il LDL-C in pazienti ad alto rischio. Se l'obiettivo di trattamento LDL-C specificato non viene raggiunto dopo 4-6 settimane con la più alta dose tollerata di statine ed ezetimibe, va presa in considerazione l'aggiunta di un inibitore PCSK9.

RIASSUNTO

L'obiettivo delle Linee guida ESC/EAS del 2019 è facilitare il processo decisionale degli operatori sanitari nella loro pratica quotidiana. Le nuove Linee guida, in linea con le versioni precedenti, supportano la valutazione multifattoriale del rischio CV globale e suggeriscono l'uso dell'algoritmo SCORE, ma sulla base della recente pubblicazione di studi clinici randomizzati e studi di randomizzazione Mendeliana introducono nuovi concetti. Non esiste più una "ipotesi LDL-C", ma "fatti" accertati che l'aumento dei valori di colesterolo LDL (LDL-C) è causalmente correlato all'ASCVD e che abbassare il più possibile le LDL e altre lipoproteine contenenti ApoB riduce gli eventi CV. L'Apo B può essere una misura migliore dell'esposizione di un individuo alle lipoproteine aterosclerotiche e il suo uso è supportato, in alternativa al LDL-C, in gruppi specifici di pazienti come quelli con trigliceridi elevati o diabete. Anche il *calcium score* coronarico e la valutazione della placca carotidea/femorale mediante ecografia sono suggeriti per una migliore stratificazione del rischio CV dei pazienti. Le Linee guida ESC/EAS del 2019 propongono nuovi obiettivi LDL-C, nonché una stratificazione riveduta del rischio CV, in particolare per i pazienti ad alto e altissimo rischio. In questi pazienti è raccomandata un'intensificazione degli obiettivi del trattamento per ottenere la massima riduzione di LDL-C possibile. Queste linee guida stabiliscono sia una riduzione percentuale minima di LDL-C (50%) sia un obiettivo di trattamento LDL-C assoluto di <1,4 mmol/L (<55 mg/dL) per pazienti a rischio molto alto e <1,8 mmol/L (<70 mg/dL) per pazienti ad alto rischio. Non ci sono prove di effetti avversi di concentrazioni di LDL-C molto basse [ad es. LDL-C <40 mg / dL].

Parole chiave: *Colesterolo, Linee guida lipidiche, Rischio cardiovascolare globale, Obiettivi del trattamento.*

Bibliografia

1. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2020; 41: 111-188.
2. Authors/Task Force M, Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias: The Task Force for the Management of Dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS) Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Atherosclerosis.* 2016; 253: 281-344.
3. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S,

- Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J*. 2003; 24: 987-1003.
4. Sabatin MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2017; 376: 1713-1722.
 5. Schwartz GG, Steg PG, Szarek M, Bhatt DL, Bittner VA, Diaz R, et al. Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome. *N Engl J Med*. 2018; 379: 2097-2107.
 6. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015; 372: 2387-2397.
 7. Burgess S, Harshfield E. Mendelian randomization to assess causal effects of blood lipids on coronary heart disease: lessons from the past and applications to the future. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2016; 23: 124-130.
 8. Cooney MT, Selmer R, Lindman A, Tverdal A, Menotti A, Thomsen T, et al. Cardiovascular risk estimation in older persons: SCORE O.P. *Eur J Prev Cardiol*. 2016; 23: 1093-1103.
 9. Kavousi M, Elias-Smale S, Rutten JH, Leening MJ, Vliedgenhart R, Verwoert GC, et al. Evaluation of newer risk markers for coronary heart disease risk classification: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2012; 156: 438-444.
 10. Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: two prospective cohort studies. *Eur Heart J*. 2017; 38: 2478-2486.
 11. Foster HME, Celis-Morales CA, Nicholl BI, Petermann-Rocha F, Pell JP, Gill JMR, et al. The effect of socioeconomic deprivation on the association between an extended measurement of unhealthy lifestyle factors and health outcomes: a prospective analysis of the UK Biobank cohort. *Lancet Public Health*. 2018; 3: e576-e585.
 12. Mortensen MB, Falk E, Li D, Nasir K, Blaha MJ, Sandfort V, et al. Statin Trials, Cardiovascular Events, and Coronary Artery Calcification: Implications for a Trial-Based Approach to Statin Therapy in MESA. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2018; 11 (2 Pt 1): 221-230.
 13. Berry JD, Dyer A, Cai X, Garside DB, Ning H, Thomas A, et al. Lifetime risks of cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2012; 366: 321-329.
 14. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2017; 38: 2459-2472.
 15. Thanassoulis G, Williams K, Ye K, Brook R, Couture P, Lawler PR, et al. Relations of change in plasma levels of LDL-C, non-HDL-C and apoB with risk reduction from statin therapy: a meta-analysis of randomized trials. *J Am Heart Assoc*. 2014; 3: e000759.
 16. Thompson A, Danesh J. Associations between apolipoprotein B, apolipoprotein AI, the apolipoprotein B/AI ratio and coronary heart disease: a literature-based meta-analysis of prospective studies. *J Intern Med*. 2006; 259: 481-492.
 17. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2019. 73: e285-e350.
 18. Cholesterol Treatment Trialists C, Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010; 376: 1670-1681.

PRATICA CLINICA

TRA LINEE GUIDA E NORME REGOLATORIE: È POSSIBILE RAGGIUNGERE I TARGET LIPIDICI NEL PAZIENTE A RISCHIO CARDIOVASCOLARE MOLTO ELEVATO?

Achieving lipid target in very high-risk patients between guidelines and prescription rules

CLAUDIO BILATO¹, MARCO JAMES BILATO², MARIA CHIARA CORTI³

¹UOC di Cardiologia, Ospedali dell'Ovest Vicentino, Azienda ULSS 8 Berica, Vicenza;

²Università degli Studi, Firenze;

³Direzione Servizi Socio-Sanitari, Azienda Sanitaria Universitaria Giuliano Isontina, Trieste

SUMMARY

The benefit of aggressive lipid lowering strategy on the reduction of cardiovascular events in very high-risk patients has been widely demonstrated. Current European guidelines, therefore, recommend reaching lower LDL cholesterol values than in the past, given the recent availability of new potent lipid-lowering drugs. The prescription rules of the regulatory agencies, however, remain very restrictive both in the choice of the treatment and in the application of the therapeutic strategy. This discrepancy results in an ineffective secondary prevention especially in very high-risk patients, most of whom develop a recurrent cardiovascular event over the years. Deeply revising the current prescription rules of lipid lowering drugs, therefore, is mandatory in order to allow the access to new lipid-lowering agents to all the subjects with very high cardiovascular risk, yielding at the same time appropriateness and care costs containment. In the meantime, the best and immediate therapeutic strategy to achieve the target values, recommended by the guidelines, can be applied according to the flow-chart proposed herein, which taking into account baseline lipid levels and current lipid treatment, identifies the most effective approach to be applied at discharge or to be planned during the post-discharge phase.

Keywords: *Cardiovascular risk, lipid lowering drugs, guidelines, prescription rules.*

Indirizzo per la corrispondenza

Claudio Bilato

UOC di Cardiologia, Ospedali dell'Ovest Vicentino Azienda ULSS 8 Berica

E-mail: claudio.bilato@aulss8.veneto.it

L'attuale complesso normativo sulla prescrizione dei farmaci ipolipidemizzanti dettato dagli organismi regolatori nazionali appare spesso in palese contrasto con i target lipidici e le strategie terapeutiche per raggiungerli raccomandati dalle linee guida correnti. Questo mette talvolta in seria difficoltà l'applicazione di una efficace azione preventiva, soprattutto nel paziente a rischio cardiovascolare molto elevato. Pur riconoscendo che l'appropriatezza e il contenimento della spesa costituiscono l'elemento portante delle scelte regolatorie attualmente in vigore, appare auspicabile una pronta revisione della normativa che tenga conto della crescente mole di dati scientifici a favore di livelli lipidici più stringenti e di terapie ipolipidemizzanti massimali. Contestualmente, tuttavia, proprio in considerazione delle evidenze scientifiche correnti, appare doverosa l'applicazione di strategie di prevenzione cardiovascolari più aggressive, non tralasciando alcuna potenziale opportunità di azione tra le "finestre" della normativa vigente.

Cosa raccomandano le linee guida attuali

Rispetto al passato, le più recenti linee guida europee (1) hanno modificato significativamente i target lipidici desiderabili, correlandoli, come in precedenza, al livello di rischio cardiovascolare del soggetto. In particolare, i pazienti con malattia cardiovascolare documentata clinicamente e/o inequivocabile all'imaging, come sindromi coronariche acute, angina stabile, rivascolarizzazione coronarica o di altri distretti arteriosi, stroke o TIA o arteriopatia obliterante periferica o presenza di placche aterosclerotiche significative alla coronarografia, angiogramma coronarico o all'ecoDoppler carotideo, appartengono alla classe degli individui a rischio cardiovascolare molto elevato.

In tali pazienti sono fortemente (classe di raccomandazione I, livello di evidenza A) raccomandati la riduzione del colesterolo LDL (C-LDL) maggiore o uguale al 50% dei livelli basali e un target di C-LDL inferiore a 55 mg/dL. In aggiunta, per coloro che hanno subito un secondo evento vascolare nei due anni precedenti, anche se non necessariamente nello stesso distretto arterioso e pur in terapia massimale con statine, potrebbe essere considerato un valore di C-LDL target inferiore ai 40 mg/dL (classe di raccomandazione IIb, livello di evidenza B). La scelta è suffragata da numerose osservazioni scientifiche (1), meta-analisi (2, 3) e recenti trial clinici di intervento (4-6). Ad esempio, nello studio IMPROVE-IT (4) la riduzione dei livelli di C-LDL medi inferiore a 55 mg/dL (53,7 mg/dL, per la precisione) ha determinato un beneficio aggiuntivo e significativo del rischio relativo dell'end point composito (morte cardiovascolare, infarto miocardico, ospedalizzazione per angina instabile, rivascolarizzazione coronarica e stroke) del 6,4% (HR 0,936, 95% IC 0,89 to 0,99; p=0,016) rispetto al valore di 69,5 mg/dL (cioè al di sotto della soglia di 70 mg/dL, raccomandato dalle linee guida precedenti).

Ugualmente, gli antagonisti della PCSK9, evolocumab (5) e alirocumab (6) riducono significativamente, in aggiunta alla statina + ezetimibe, il C-LDL rispettivamente del 59% e 55% con valori assoluti di C-LDL compresi tra 30 e 50 mg/dL. Questo calo si traduce in un beneficio del 15% in termini di rischio di morte cardiovascolare, stroke, ospedalizzazione per angina o rivascolarizzazione coronarica (95% IC 0,79-0,92, p<0,001) (5) o di morte coronarica, infarto non fatale, stroke ischemico o ospedalizzazione per angina (95% IC 0,78-0,93, p=0,0003) (6).

Questo vantaggio risulta ancora più manifesto qualora si considerino pazienti in prevenzione secondaria con rischio cardio-

vascolare “estremo” come ad esempio i soggetti diabetici (7-9), con molteplici fattori di rischio (10), arteriopatia periferica (11) o interessamento multi-distrettuale (12).

Le linee guida esplicitano chiaramente anche il tipo di trattamento farmacologico e le modalità temporali di applicazione. Nei pazienti con sindrome coronarica acuta che non presentino controindicazioni o palese intolleranza, è fortemente raccomandato (classe di raccomandazione I, livello di evidenza A) di iniziare o continuare la terapia con statine ad alte dosi il più presto possibile, indipendentemente dai valori di LDL-C misurati all'ingresso (13, 14). Dopo circa 4-6 settimane (sostanzialmente a 1-2 mesi dalla dimissione) i livelli lipidici dovrebbero essere rivalutati per determinare il raggiungimento del target e contestualmente testare la presenza di problemi di sicurezza, con conseguente adattamento delle dosi di trattamento con statine (classe di raccomandazione IIa, livello di evidenza C). Qualora l'obiettivo LDL-C non sia stato raggiunto nonostante la massima dose tollerata di statina, si raccomanda l'associazione con ezetimibe, sulla base del già citato studio IMPROVE-IT (4). Se dopo altre 4-6 settimane l'obiettivo LDL-C non viene ancora raggiunto nonostante la terapia massimale con statina ed ezetimibe, appare indicato, ancora con una classe di raccomandazione I e un livello di evidenza B, aggiungere un inibitore della PCSK9, sulla scorta delle osservazioni degli studi FOURIER (5) e ODYSSEY OUTCOME (6).

La sequenza temporale raccomandata fortemente dalle linee guida prevede dunque almeno un controllo dell'assetto lipidico piuttosto precocemente (4-6 settimane dall'evento indice) e, qualora il target non sia raggiunto, la sua ripetizione dopo analogo intervallo temporale. A ciò si aggiunga che il consenso degli esperti che hanno stilato le linee guida correnti è quello di

considerare l'inizio precoce (possibilmente durante la fase ospedaliera) del trattamento con antagonisti della PCSK9 nei pazienti con sindrome coronarica acuta ed i cui livelli di C-LDL non sono a target, nonostante una già avviata terapia massimale con statine ed ezetimibe.

In base alle succitate raccomandazioni emerge una strategia terapeutica che:

- 1) garantisce il raggiungimento del target e l'efficace riduzione del rischio cardiovascolare residuo anche nello scenario clinico peggiore;
- 2) presenta una modalità a step crescenti, puntuali e ben definiti sia sotto il profilo della scelta (statina ad alta intensità, ezetimibe, antagonisti della PCSK9) che del timing (controllo dopo 4-6 settimana da ripetere dopo altrettante settimane se mancato raggiungimento del target) del trattamento.

Rimane una questione, tuttavia, non trascurabile nella pratica clinica corrente: questi suggerimenti e/o raccomandazioni sono difformi da quanto previsto dalla normativa prescrittiva nazionale, ovvero le restrizioni regolatorie stabilite dalla Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) e dagli altri organismi nazionali ottemperano alle evidenze scientifiche che supportano le raccomandazioni delle linee guida?

Cosa stabiliscono le norme regolatorie

La prescrivibilità e la rimborsabilità delle terapie ipolipidemizzanti sono sostanzialmente regolate dalla Nota 13 e dai Registri Farmaci sottoposti a Monitoraggio di AIFA. Secondo il rapporto OSMED sull'uso appropriato dei farmaci in Italia¹⁵, “le note AIFA definiscono la rimborsabilità di alcuni medicinali e come tali costituiscono uno strumento regolatorio atto a garantire un uso appropriato dei medicinali, indirizzando l'attività prescrittiva dei medici sulla

base delle migliori prove di efficacia presenti in letteratura”. Per rendere tale strumento più rispondente alle nuove evidenze scientifiche e maggiormente flessibile alle necessità della pratica clinica quotidiana sul territorio nazionale, è necessaria, dunque, la revisione periodica di tali note. In effetti, la nota 13 è stata ripetutamente rimangiata nel corso degli anni, introducendo già nel 2004 il concetto di outcome e il criterio di rischio ai fini della rimborsabilità dei farmaci, con l’obiettivo di individuare il rischio cardiovascolare assoluto in ogni singolo paziente e di istituire un’adeguata strategia preventiva che colleghi stili di vita e terapie farmacologiche.

Nella revisione più recente del 2019 (16), pubblicata dopo un mese dalla presentazione delle linee guida, i pazienti con malattia coronarica, stroke ischemico, arteriopatie periferiche, pregresso infarto, bypass aorto-coronarico sono considerati a rischio molto alto (in linea con le linee guida), e come tali debbono soddisfare un target terapeutico di C-LDL <70 mg/dL (e non <55 mg/dL, a differenza delle linee guida) con riduzione di almeno il 50% del C-LDL. In questi pazienti, i farmaci di primo livello prescrivibili a carico del Sistema Sanitario Nazionale in funzione del raggiungimento del target terapeutico sono: atorvastatina (nei pazienti con sindromi coronariche acute o in quelli sottoposti a interventi di rivascolarizzazione percutanea è indicato il dosaggio elevato 40-80 mg/die), pravastatina, fluvastatina, lovastatina, simvastatina. La rosuvastatina può essere utilizzata nei pazienti in cui ci sia stata evidenza di effetti collaterali severi nei primi 6 mesi di terapia, mentre il ricorso ad ezetimibe deve essere considerato un trattamento di secondo livello in associazione estemporanea o preconstituita con statine o in monoterapia nei pazienti che siano intolleranti alle statine.

Dal confronto con quanto raccomandato dalle linee guida emergono alcune discrepanze significative che appaiono, almeno in parte, fortemente vincolanti nella pratica clinica quotidiana. La più evidente è costituita dal mantenimento del vecchio target al di sotto dei 70 mg/dL di C-LDL, probabile conseguenza del mancato recepimento delle nuove linee guida più per motivi temporali (concomitanza cronologica tra presentazione delle linee guida e pubblicazione della NOTA 13) che clinico-scientifici, considerata la forte evidenza del beneficio dell’abbassamento del target al di sotto dei 55 mg/dL, specialmente nei soggetti a rischio cardiovascolare “estremo”.

La scelta di mantenere tra i trattamenti di primo livello tutte le statine, senza considerarne né potenza intrinseca né alti dosaggi, risulta invece inspiegabile oltre che dissonante rispetto alle linee guida. I livelli medi dei pazienti ospedalizzati con una sindrome coronarica acuta si aggirano attorno ai 120 mg/dL (17, 18). Anche considerando il target di 70 mg/dL, la riduzione necessaria è di almeno il 40%: contemplando la possibilità di ricorrere anche a statine a moderata intensità, si rischia di escludere dal raggiungimento del target una porzione consistente di pazienti. La scelta “tranchant” delle linee guida di ricorrere unicamente a statine ad alta intensità e alto dosaggio, per contro, può garantire una riduzione di oltre il 50% e il raggiungimento del target più ambizioso di 55 mg/dL in una porzione maggiore di soggetti.

Ugualmente perentoria appare la sequenza temporale della strategia terapeutica raccomandata dalle linee guida: inizia con una statina ad alta intensità, controlla il raggiungimento del target dopo 4-6 settimane, eventualmente aggiungi ezetimibe e se necessario dopo altre 4-6 settimane ricorri agli antagonisti della PCSK9. Nella

Nota 13, al contrario, “l’impiego di farmaci di seconda ed eventualmente terza scelta può essere ammesso solo quando il trattamento di prima linea a dosaggio adeguato e per un *congruo periodo di tempo* si sia dimostrato insufficiente al raggiungimento della riduzione attesa del C-LDL”, lasciando ampia discrezionalità temporale, che pur essendo idealmente auspicabile nel processo di cura del malato, spesso nel mondo reale si traduce in una pericolosa inerzia terapeutica. Nel già citato studio BLITZ 4 (18), ad esempio, solo il 44,5% degli oltre 11 mila soggetti con sindrome coronarica acuta reclutati nelle UTIC italiane presentava livelli di C-LDL <80 mg/dL (non <55 mg/dL!) a 6 mesi dall’evento acuto, nonostante il 91% di questi soggetti assumesse una statina.

Ancora più stringente appare la normativa che regola la prescrizione degli antagonisti della PCSK9. Per quanto riguarda i pazienti in prevenzione cardiovascolare secondaria, il registro AIFA ne prevede la prescrivibilità solo in pazienti di età ≤80 anni 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 dopo una sola rilevazione di C-LDL in caso di IMA recente (ultimi 12 mesi) o eventi CV multipli, oppure con dimostrata intolleranza alle statine e/o all’ezetimibe. Al di là, ancora una volta del differente criterio temporale, emerge che una porzione significativa di pazienti con sindrome coronarica acuta (nello studio BILTZ 4 il 31% di pazienti dopo 6 mesi dall’evento acuto aveva un C-LDL compreso tra 81 e 100 mg/dL) (18) con C-LDL compreso tra 55 e 100 mg/dL non potrebbe essere candidabile al trattamento con anti PCSK9 e quindi escluso dal raggiungimento del target raccomandato dalle linee guida.

Come si può, dunque, applicare nella pratica clinica quotidiana strategie di pre-

venzione evidence-based considerata la difformità tra evidenza scientifica e norme prescrittive regolatorie?

Possibili soluzioni per una strategia di prevenzione efficace nel mondo reale

Nella pratica clinica la calendarizzazione stringente del controllo dell’assetto lipidico e il conseguente aggiustamento della terapia ipolipidemizzante prevista dalle linee guida appaiono francamente, al di là delle limitazioni della normativa nazionale, poco applicabili se non utopistici in molte realtà italiane. Il risultato è, come detto, il mancato raggiungimento dei target raccomandati¹⁸ come recentemente ribadito dallo studio Euroaspire 5, dove il 71% degli oltre 8 mila pazienti europei con malattia coronarica nota aveva un C-LDL >70 mg/dL (19). Non vi è dubbio che l’implementazione delle linee guida nella pratica clinica corrente richieda un’adozione strutturata di nuovi modelli organizzativi-gestionali e la creazione di percorsi clinici virtuosi, che siano trasversali tra ospedale e territorio e che garantiscano efficacia ed efficienza. Lo sviluppo di una siffatta nuova organizzazione gestionale, tuttavia, è spesso limitata dalla ristrettezza di risorse umane e strutturali, anche in aree ad elevata “performance sanitaria”. In Lombardia, ad esempio, entro l’anno che segue la sindrome coronarica acuta solo il 68% dei pazienti fa almeno una visita cardiologica, il 77% viene sottoposto ad elettrocardiogramma di controllo e all’81% viene controllato il profilo lipidico (19).

Per cercare dunque di garantire l’adesione alle raccomandazioni delle linee guida, senza incorrere nell’inosservanza delle norme regolatorie da una parte, e considerato il necessario contenimento della spesa sanitaria dall’altra, una soluzione potrebbe

Tabella I - Terapia ipolipidemizzante indicata per ridurre C-LDL <55 mg/dL nel paziente a rischio cardiovascolare molto elevato (es. post sindrome coronarica acuta).

LDL di partenza	% di riduzione necessaria	Ipolipidemizzanti già in uso	Ipolipidemizzanti da aggiungere
>130 mg/dL	>60%	no	Statina ad alta dose/efficacia + ezetimibe
		Statina a bassa dose e/o bassa efficacia	Statina ad alta dose/efficacia + ezetimibe
		Statina ad alta dose e alta efficacia	Statina ad alta dose/efficacia + ezetimibe + anti PCSK9
<130 mg/dL	<60%	no	Statina ad alta dose/efficacia
		Statina a bassa dose e/o bassa efficacia	Statina ad alta dose/efficacia
		Statina ad alta dose e alta efficacia	Statina ad alta dose/efficacia + ezetimibe

essere quella di pianificare già durante la fase intraospedaliera la terapia ipolipidemizzante, personalizzandola secondo quanto proposto nella tabella sulla base dei livelli di C-LDL di partenza (e quindi della riduzione percentuale necessaria) e della terapia già in atto al momento dell'evento acuto. Per ogni singolo paziente si può dunque prevedere quali farmaci e a quali dosaggi e se è necessaria una politerapia.

Così, ad esempio, un paziente naïve con C-LDL basali di 110 mg/dL dovrà essere trattato unicamente con una statina ad alte dosi e ad alta intensità, mentre un soggetto con C-LDL di 145 mg/dL, già in trattamento massimale con statine richiederà una polifarmacoterapia con statina, ezetimibe e inibitore della PCSK9 (Tabella 1). In que-

sto caso, qualora le norme regolatorie lo permettano, la politerapia verrà instaurata già prima della dimissione. In alternativa, si potrà provvedere alla programmazione cadenzata secondo uno schema che tenga conto della tempistica dei controlli, dell'introduzione cronologica dei farmaci addizionali già previsti e della sicurezza. Tale strategia, associata al ricorso di combinazioni fisse di statine ed ezetimibe²⁰, alla ottimizzazione della rete prescrittiva (21) e alla prossima introduzione di nuovi agenti ipolipidemizzanti come l'acido bempedoico (22) e l'inclisiran (23), potrebbe garantire il raggiungimento dei target raccomandati in una considerevole porzione di pazienti, in attesa di una auspicata revisione del complesso normativo vigente.

RIASSUNTO

Molteplici evidenze scientifiche hanno dimostrato in maniera inequivocabile il beneficio di un controllo lipidico aggressivo sulla riduzione degli eventi cardiovascolari soprattutto nei pazienti a rischio molto elevato. Conseguentemente, le correnti linee guida europee raccomandano il raggiungimento di valori di colesterolo LDL nettamente più ambiziosi rispetto al passato, anche a seguito della recente disponibilità nella pratica clinica di nuovi farmaci ipolipidemizzanti estremamente efficaci. Per contro, le norme che regolano la prescrivibilità di tali molecole rimangono estremamente limitative sia nella scelta del tipo di trattamento che nelle modalità di applicazione della strategia terapeutica.

Tale difformità determina l'incapacità di adottare una efficace azione preventiva soprattutto nei pazienti a rischio molto elevato, con il risultato che una porzione considerevole di essi presenterà un nuovo evento cardiovascolare nel corso degli anni. Appare dunque imperativo che il complesso normativo regolatorio venga radicalmente rivisto al fine di permettere a tutti i soggetti a rischio cardiovascolare molto elevato l'accesso ai nuovi agenti ipolipidizzanti, pur nel rispetto dell'appropriatezza e del contenimento della spesa pubblica. In attesa di tali modifiche, viene proposta una semplice flow-chart che, tenendo conto dei livelli lipidici di partenza e della terapia già in atto, identifichi la migliore e immediata strategia terapeutica per raggiungere i valori target consigliati dalle linee guida, da applicare già alla dimissione o da programmare step by step nel corso dei mesi a seguire.

Parole chiave: *Rischio cardiovascolare, ipolipidizzanti, linee guida, NOTA 13.*

Bibliografia

1. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *European Heart Journal*. 2020; 41: 111-188.
2. Cholesterol Treatment Trialists Collaboration. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010; 376: 1670-1681.
3. Cholesterol Treatment Trialists Collaboration. Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and women: meta-analysis of individual data from 174,000 participants in 27 randomised trials. *Lancet*. 2015; 385: 1397-1405.
4. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, et al. Ezetimibe added to statin therapy after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2015; 372: 2387-2397.
5. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2017; 376: 1713-1722.
6. Schwartz GG, Steg PG, Szarek M, et al. Alirocumab and cardiovascular outcomes after acute coronary syndrome. *N Engl J Med*. 2018; 379: 2097-2107.
7. Giugliano RP, Cannon CP, Blazing MA, et al. Benefit of Adding Ezetimibe to Statin Therapy on Cardiovascular Outcomes and Safety in Patients With Versus Without Diabetes Mellitus: Results From IMPROVE-IT (Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial). *Circulation*. 2018; 137: 1571-1582.
8. Sabatine MS, Leiter LA, Wiviott SD, et al. Cardiovascular safety and efficacy of the PCSK9 inhibitor evolocumab in patients with and without diabetes and the effect of evolocumab on glycaemia and risk of new-onset diabetes: a prespecified analysis of the FOURIER randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2017; 5: 941-950.
9. Ray KK, Colhoun HM, Szarek M. Effects of alirocumab on cardiovascular and metabolic outcomes after acute coronary syndrome in patients with or without diabetes: a prespecified analysis of the ODYSSEY OUTCOMES randomised controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2019; 7: 618-628.
10. Bohula EA, Morrow DA, Giugliano RP, et al. Atherothrombotic Risk Stratification and Ezetimibe for Secondary Prevention. *J Am Coll Cardiol*. 2017; 69: 911-921.
11. Bonaca MP, Nault P, Giugliano RP, et al. Low-Density Lipoprotein Cholesterol Lowering With Evolocumab and Outcomes in Patients With Peripheral Artery Disease: Insights From the FOURIER Trial (Further Cardiovascular Outcomes Research With PCSK9 Inhibition in Subjects With Elevated Risk). *Circulation*. 2018; 137: 338-350.
12. Jukema JW, Szarek M, Zijlstra LE, et al. Alirocumab in Patients With Polyvascular Disease and Recent Acute Coronary Syndrome: ODYSSEY OUTCOMES Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2019; 74: 1167-1176.
13. de Lemos JA, Blazing MA, Wiviott SD, et al. Early intensive vs a delayed conservative simvastatin strategy in patients with acute coronary syndromes: phase Z of the A to Z trial. *JAMA*. 2004; 292: 1307-1316.
14. Ray KK, Cannon CP, McCabe CH, et al. Early and late benefits of high-dose atorvastatin in patients with acute coronary syndromes: results from the PROVE IT-TIMI 22 trial. *J Am Coll Cardiol*. 2005; 46: 1405-1410.
15. AIFA: osservatorio nazionale sull'impiego dei farmaci. Il consumo di farmaci in Italia. Rapporto 2018.
16. Determina DG/1432/2019. Modifica della Nota AIFA 13 di cui alla determina AIFA n. 617/2014. G.U. Serie Generale. 2019; 238: 10-18.

17. Fresco C, Maggioni AP, Signorini S, et al. Variations in lipoprotein levels after myocardial infarction and unstable angina: the LATIN trial. *Ital Heart J.* 2002; 3: 587-592.
18. Urbinati S, Olivari Z, Gonzini L, et al. Secondary prevention after acute myocardial infarction: drug adherence, treatment goals, and predictors of health lifestyle habits. The BLITZ-4 Registry. *Eur J Prev Cardiol.* 2015; 22: 1548-1556.
19. Kotseva K, De Backer G, Dirk De Bacquer D, et al. Lifestyle and impact on cardiovascular risk factor control in coronary patients across 27 countries: Results from the European Society of Cardiology ESC-EORP EUROASPIRE V registry. *Eur J Prev Cardiol* 2019; 26: 824-835.
20. <https://www.motoresanita.it/wp-content/uploads/2019/05/DOCUMENTO-DI-SINTESI-Milano-/Maggio-209.pdf>
21. Drexel H, Coats AJS, Spoletini I, Bilato C, et al. ESC Position Paper on statins adherence and implementation of new lipid- lowering medications: barriers to be overcome. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother.* 2019 doi: 10.1093/ehjcvp/pvz079. [Epub ahead of print]
22. Bilato C, Anselmi M, Cemin R, et al. A practical tool for easier compilation of AIFA (Italian Medicines Agency) web-based registry for PCSK9 inhibitor prescription. *G Ital Cardiol (Rome).* 2017; 18: 805-807.
23. Ray KK, Bays HE, Catapano AL, et al. Safety and Efficacy of Bempedoic Acid to Reduce LDL Cholesterol. *N Engl J Med.* 2019; 380: 1022-1032.
24. German CA, Shapiro MD. Small Interfering RNA Therapeutic Inclisiran: A New Approach to Targeting PCSK9. *BioDrugs.* 2020; 34: 1-9.

FOCUS

COS'È UNO STUDIO DI RANDOMIZZAZIONE MENDELIANA E QUALI SONO LE APPLICAZIONI IN AMBITO DI DISLIPIDEMIE

What is a Mendelian randomization study and what are the applications in the field of dyslipidemias

FEDERICA GALIMBERTI^{1,2}, ELENA OLMASTRONI^{1,2}

¹*Epidemiology and Preventive Pharmacology Service (SEFAP), Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan, Milan, Italy;*

²*MRC/BHF Cardiovascular Epidemiology Unit, Department of Public Health and Primary Care, University of Cambridge, Worts Causeway, CB1 8RN Cambridge, United Kingdom*

SUMMARY

Different approaches have been implemented to overcome the limitations that typically and differently influence both randomized clinical trials and observational studies. Mendelian randomization studies, in which functional genetic variants serve as tools (“instrumental variables”) to approximate modifiable environmental exposures, have been developed and implemented in the context of observational epidemiological studies to strengthen causal inferential estimates in non-experimental situations. Since genetic variants are randomly transferred from parents to offspring at the time of gamete formation, they can realistically mimic the random allocation process of treatment in a randomized clinical trial, offering a strategy to eliminate, or anyway reduce, the typical residual confounding of observational studies, thus making it possible to obtain generalizable results for the entire population. If correctly conducted and carefully interpreted, Mendelian randomization studies can provide useful scientific evidence to support or reject causal hypotheses that verify the association between environmental exposures and diseases. This evidence may provide useful information to identify new potential drug targets, with a higher probability of success than approaches based on animal studies or in vitro. This review summarizes the history and context of Mendelian randomization, the main features of the study design, the assumptions for a correct use, and a brief discussion on the advantages and disadvantages of this approach. In addition, an overview of what the Mendelian randomization technique has contributed to date in the field of dyslipidemias has also been presented.

Keywords: *Genetic Epidemiology; Mendelian randomization; Genetic variant; Instrumental Variable; Causal inference; Cardiovascular diseases.*

Indirizzo per la corrispondenza

Federica Galimberti

Epidemiology and Preventive Pharmacology Service (SEFAP)

Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan

E-mail: federica.galimberti@unimi.it

Introduzione

Una delle finalità dell'epidemiologia genetica è quella di studiare la frequenza, le cause, la distribuzione e il controllo delle malattie in relazione ai fattori genetici e di approfondire il ruolo di questi e della loro interazione con i fattori ambientali nella frequenza di malattia nelle popolazioni (1). Con l'introduzione di nuove tecniche di studio del genoma umano, questa scienza è via via diventata un supporto all'epidemiologia osservazionale, che studia invece le caratteristiche delle malattie (frequenza, andamento, cause) a livello di popolazione, nel comprendere gli aspetti ereditari delle patologie e la predisposizione individuale a queste, soprattutto in un'ottica di "cura personalizzata" (2).

L'incontro tra queste due scienze nasce da un'esigenza ben precisa: ottenere solide evidenze scientifiche osservando e studiando soggetti "reali", ossia donne e uomini, giovani e anziani che sono sottoposti alla pratica clinico-assistenziale quotidiana, caratterizzati da problemi clinici composti e/o malattie croniche, che spesso comportano l'assunzione di molti farmaci. In altre parole, studiare soggetti che per la loro "complessità" non rientrerebbero nei criteri di inclusione degli studi clinici controllati e randomizzati (RCT), che da sempre sono considerati il *gold-standard* della ricerca clinica, ovvero il disegno di studio più accurato per rispondere ad un quesito diagnostico di causalità, relativo per lo più all'efficacia e alla sicurezza di un trattamento farmacologico (3). In questa tipologia di disegno di studio, la tecnica di randomizzazione, per la quale i soggetti reclutati vengono assegnati in modo casuale al gruppo di intervento (ad esempio esposti al farmaco) o al gruppo di controllo (soggetti non esposti), rende comparabili i gruppi di pazienti per più fattori noti e non

noti ("confondenti"), e consente di accertare che l'associazione fra il fattore di rischio (esposizione) e la malattia outcome sia causale.

Nonostante negli ultimi 40 anni i trial randomizzati e controllati siano stati la pietra angolare per lo sviluppo di innumerevoli strategie terapeutiche, anche in ambito cardiovascolare dove ad esempio gli RCT hanno contribuito a dimostrare il beneficio clinico ottenibile riducendo i livelli delle lipoproteine a bassa densità (LDL), una delle principali criticità di questa tipologia di studio rimane la limitata applicabilità dei risultati in ambito clinico, perché spesso condotti in popolazioni estremamente selezionate e in condizioni assistenziali ideali

Elenco degli argomenti trattati

- La randomizzazione Mendeliana è un metodo di ricerca che fornisce evidenze solide su relazioni causali putative tra fattori di rischio modificabili ed esiti clinici, usando le varianti genetiche per ricreare lo schema di randomizzazione in un contesto osservazionale.
- Gli studi di randomizzazione Mendeliana hanno meno probabilità di essere influenzati da fattori confondenti e da causalità inversa, distorsioni che tipicamente inficiano sulla stima di associazione ottenuta negli studi osservazionali convenzionali.
- Tuttavia, come tutti gli approcci analitici, anche la randomizzazione Mendeliana si basa su assunti, e la plausibilità di queste ipotesi deve essere accertata.
- Gli studi di randomizzazione Mendeliana rappresentano importanti elementi di supporto per il disegno di nuovi trial clinici randomizzati e per l'implementazione delle *policies* e delle misure di sanità pubblica. Tuttavia, la rilevanza delle evidenze ottenute da questo nuovo approccio dovrà essere interpretata alla luce delle evidenze disponibili.
- Gli studi di randomizzazione Mendeliana hanno contribuito alla comprensione della patogenesi della malattia cardiovascolare. In questo ambito, tale approccio, può rappresentare una strategia pratica non solo per personalizzare la prevenzione e il trattamento, ma anche per individuare target farmacologici promettenti per lo sviluppo di nuove terapie.

(limitata validità esterna). E sebbene gli studi osservazionali possano offrire l'opportunità di studiare "situazioni di vita reale", risulta difficile con questi studi provare con certezza un rapporto di causalità, poiché l'associazione fra due variabili non è di per sé una condizione sufficiente a provare una relazione di causa-effetto (4).

L'unica strategia utile a studiare la natura causale di un'associazione utilizzando dati osservazionali, sembra quella di ricreare la tecnica di randomizzazione anche nel contesto osservazionale, per potere da un lato suddividere la popolazione in gruppi omogenei che differiscono solo per il fattore esposizione che si vuole studiare, controllando perciò l'azione di altre variabili estranee all'esposizione, dall'altro lato studiare questa relazione in un campione eterogeneo che consenta di ottenere risultati generalizzabili all'intera popolazione.

L'approccio della "randomizzazione Mendeliana" fornisce una risposta a questa necessità, rappresentando un tentativo di introduzione dello schema di randomizzazione in un contesto osservazionale, tramite l'utilizzo di dati genetici per definire e stimare l'effetto causale di fattori di rischio modificabili (non genetici) (5).

L'approccio della randomizzazione Mendeliana

Il principio della randomizzazione Mendeliana (RM) risale ad almeno 30 anni fa (6) ed è stato attribuito a Katan (7), sebbene nel contesto dell'epidemiologia osservazionale tale termine sia stato utilizzato solo verso la fine dello scorso millennio (8). Thomas e Conti hanno sottolineato che la RM è un'applicazione del metodo delle variabili strumentali, le quali sono comunemente usate in econometria (9). L'uso di questo metodo in epidemiologia ha suscitato un forte interesse e ha subito una rapi-

da crescita, con un ampio riconoscimento delle sue potenzialità statistiche (10-12).

Come suggerisce il nome stesso, il concetto di RM si basa sul principio dell'assortimento indipendente dei caratteri di Mendel (ricordato come "il padre della genetica"), secondo il quale i geni parentali vengono trasferiti alla progenie distribuendosi in maniera casuale (random) al momento della formazione dei gameti. Con questo fenomeno biologico si genera un contesto simile al trial randomizzato controllato, in quanto gli individui di una popolazione ereditano casualmente solo un certo allele di un dato genotipo (variante genetica), proprio come i partecipanti a un trial clinico ricevono casualmente il trattamento che viene testato nel trial (13).

Tuttavia, a differenza del trial randomizzato in cui si valuta l'efficacia di un intervento su un determinato *outcome*, negli studi di RM l'effetto delle varianti geniche (polimorfismo di un determinato gene X) sulla malattia è funzionale alla comprensione del rapporto esistente fra un fenotipo intermedio (come ad esempio i livelli circolanti della proteina codificata dal gene X) ed il rischio di sviluppare l'evento. Nello specifico, il gene polimorfico è uno "strumento" tramite il quale è possibile fare inferenze di causalità fra il suo prodotto (proteina che determina un fenotipo intermedio) e la malattia, in assenza di confondimento, dato che l'effetto dei geni (informazione presente nel corredo genetico sin dalla nascita) è indipendente da fattori ambientali o legati allo stile di vita che, invece, sono elementi tipici di confondimento dell'analisi negli studi osservazionali.

In *Figura 1* è rappresentata l'analogia tra studio di RM e trial randomizzato controllato, richiamando l'attenzione sulla natura non influenzata da fattori confondenti delle esposizioni determinate da varianti genetiche (analogo alla natura libera da

confondimento di un intervento randomizzato), sulla mancanza di possibilità di causalità inversa come influenza dell'associazione esposizione-*outcome* in entrambi i disegni di studio e sull'importanza dei confronti tra i gruppi definiti dalla variante genetica, indipendentemente dall'associazione tra la variante genetica e l'esposizione all'interno di un particolare individuo (14, 15).

Assunti degli studi di randomizzazione Mendeliana e analisi delle variabili strumentali

Nelle analisi di RM si utilizzano varianti genetiche note come strumenti (per questo definite in inglese “*instrumental variables*”, IV) per identificare e provare l'esistenza di un rapporto di causalità tra l'esposizione a fattori di rischio modificabili e *outcome* correlati normalmente al rischio di malattia, in assenza di confondimento.

Più in dettaglio, la variante genetica in studio, che si sa essere associata ad un'esposizione di interesse, funge da *proxy* per livelli più alti o più bassi di esposizione; perciò, un'associazione osservata tra la variante genetica e l'*outcome* sostiene l'ipotesi che l'esposizione in questione sia correlata in maniera causale all'*outcome* stesso (7, 15).

Affinché una variante genetica sia indicata per stabilire delle inferenze di causalità, deve soddisfare tre assunti fondamentali, rappresentati in *Figura 2*:

1. *Assunto di rilevanza*: la variante genetica sia associata in modo causale al fattore di rischio/esposizione di interesse (freccia #1);
2. *Assunto di indipendenza*: i fattori confondenti che intervengono nell'associazione fattore di rischio-*outcome* non siano correlati in alcun modo alla variante genetica (freccia #2);

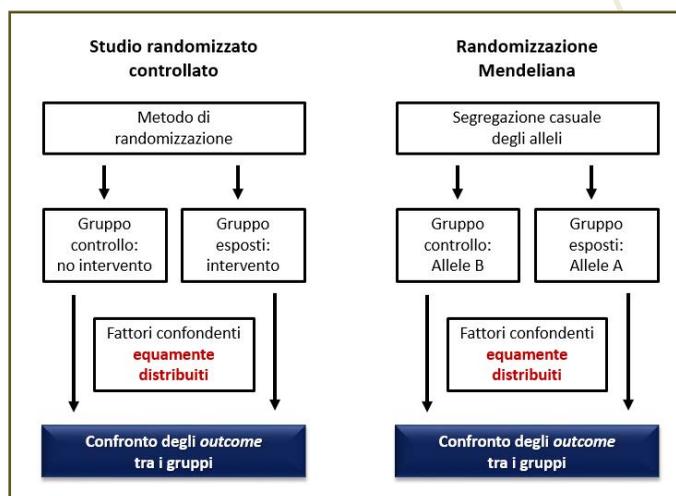


Figura 1 - Confronto tra studio randomizzato controllato e studio di randomizzazione Mendeliana.

3. *Assunto di restrizione di esclusione*: la variante genetica sia associata all'*outcome* solo e soltanto tramite il suo effetto sul fattore di rischio (freccia #3).

Si noti che tali ipotesi devono essere giustificate da una base biologica attendibile (16).

Il primo assunto garantisce che i gruppi definiti dalla variante genetica abbiano livelli medi diversi di esposizione, in modo tale che esista una differenza sistematica tra i due gruppi. Se una variante genetica non è associata in modo significativo (si intenda significatività statistica della forza di associazione) all'esposizione, si parla di variabile strumentale debole, con un potere di predizione di un vero effetto causale che risulterà basso. Il secondo assunto, come già discusso precedentemente, assicura che il confronto tra i gruppi sia libero da *bias*, in quanto tutte le altre variabili possibilmente interferenti sono equamente distribuite tra i gruppi. Infine, il terzo assunto garantisce che il nesso causa-effetto tra la variante genetica e l'*outcome* sia mediato esclusivamente dal fattore di rischio. Questo fa in modo che non vi siano altri *path-*

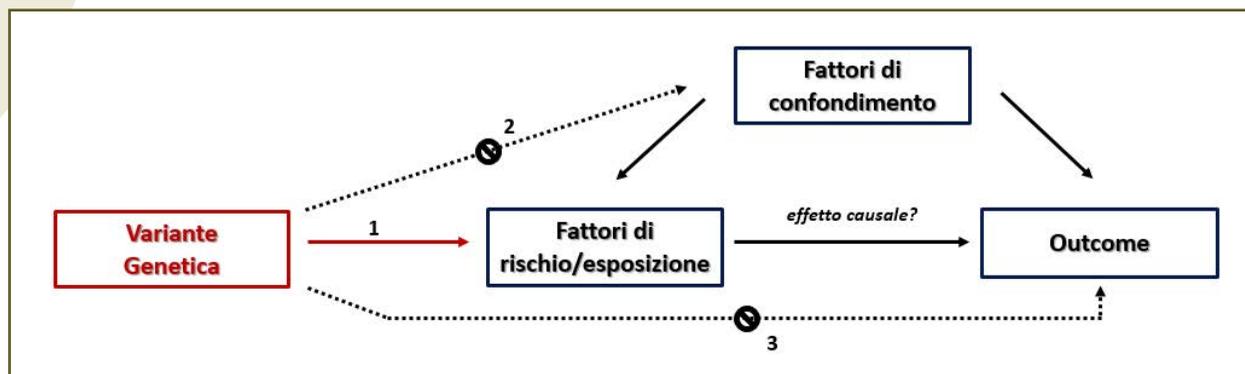


Figura 2 - Rappresentazione grafica del disegno di studio e dei tre assunti (rilevanza, indipendenza, restrizione di esclusione) di una variabile strumentale.

way alternativi a quelle che include l'esposizione oggetto di studio, attraverso i quali la variante possa essere associata all'*outcome* (17).

Nel momento in cui questi assunti sono verificati, è possibile misurare l'associazione tra variante e *outcome*, fornendo una stima, in assenza di confondimento, dell'effetto che l'esposizione "permanente" (*life-long exposure*) al fattore di rischio ha sull'*outcome*, in maniera analoga ad un trial randomizzato a lungo termine.

Violazione degli assunti

Meccanismi biologici

La prima categoria di condizioni che possono determinare una violazione degli assunti, e quindi rendere una variante genetica non valida per stabilire delle inferenze di causalità, è da ricercarsi nei meccanismi biologici sottostanti (17).

Pleiotropia verticale e multifunzionalità dei geni: con questo termine ci si riferisce alla condizione in cui la variante genetica risulta associata a più di un fattore di rischio, rappresentando una *proxy* per più di una esposizione che a sua volta può avere effetto sull'*outcome* di interesse (violazione dell'assunto di restrizione di esclusione).

Se non viene studiata in modo approfondito la variante genetica e il suo effetto sull'esposizione, gli effetti pleiotropici possono rappresentare un problema.

Canalizzazione: il fenomeno di canalizzazione o adattamento biologico consiste nel forzare, o appunto "canalizzare", l'espressione genica verso determinati percorsi. Tale adattamento può essere ottenuto attraverso la ridondanza genetica (più di un gene che ha la stessa o simile funzione) o attraverso percorsi metabolici alternativi.

Eredità non mendeliana

Una seconda categoria di effetti risulta una conseguenza dell'eredità non mendeliana. Sebbene i principi mendeliani affermino che caratteri diversi sono trasmessi indipendentemente l'uno dall'altro, questo non è sempre vero in pratica. Con l'accezione "eredità non mendeliana" ci riferiamo ad un termine che indica un qualsiasi modello ereditario in cui i singoli componenti non segregano secondo le leggi di Mendel, e in particolare secondo la legge di segregazione indipendente (17).

Linkage disequilibrium: è possibile che il *locus* sul cromosoma in studio sia in *linkage disequilibrium* con un altro *locus* polimorfico. In altre parole, un particolare motivo per

cui le varianti genetiche possono essere ereditate insieme è perché queste si trovano fisicamente vicine sullo stesso cromosoma. Ciò sarà fonte di confondimento se sia il *locus* in studio che quello con cui si trova in *linkage disequilibrium* sono entrambi associati all'*outcome* di interesse.

Modificatore di effetto: fenomeno statistico che riguarda l'interazione tra l'effetto di una variabile (tipicamente dell'esposizione) e i valori di una covariata, che determina una variabilità dell'associazione causale dell'esposizione tra gli strati definiti dai livelli della covariata. Fattori che possono determinare questo fenomeno includono ad esempio la variazione epigenetica e *imprinting* genomico. Questa tipologia di effetto raramente da sola comporta una violazione degli assunti per una variabile strumentale; tuttavia potrebbe complicare l'interpretazione dei risultati in uno studio di RM se esistono ragioni biologiche per cui alcune associazioni genetiche risultano più forti, o più deboli, in alcuni strati della popolazione (si pensi ad esempio ad un diverso impatto di alcune varianti genetiche tra uomini e donne). In questi casi la stima ottenuta per questi strati potrebbe non essere rappresentativa dell'effetto nell'intera popolazione.

Effetti di popolazione

Un'ultima categoria di effetti che possono invalidare le variabili strumentali è relativa agli effetti di popolazione (17).

Stratificazione della popolazione: avviene quando esistono sottogruppi della popolazione che differiscono sia per tassi di malattia che per frequenza degli alleli di interesse. Ciò può provocare associazioni spurie (non libere da confondimento) tra genotipo e malattia nell'intera popolazione in studio.

Effetto di determinazione: se la variante genetica è associata con un criterio di arruolamento nello studio, allora la proporzione relativa di soggetti in ogni sottogrup-

po genetico non seguirà la stessa proporzione identificata nella popolazione generale. Di conseguenza, l'associazione genetica con l'*outcome* individuata in questo campione potrebbe non essere rappresentativa di ciò che accade nella popolazione generale. Questo potrebbe rappresentare un problema negli studi che mirano a valutare associazioni genetiche in popolazioni di individui affetti da malattie. Se ad esempio si vuole condurre un trial clinico arruolando pazienti in prevenzione secondaria per la malattia cardiovascolare, si deve considerare che i soggetti con un maggior rischio di malattia geneticamente determinato hanno meno probabilità di sopravvivere fino al reclutamento nel trial, e quindi la randomizzazione degli individui in sottogruppi genetici al momento del concepimento non sarebbe valida nella popolazione in studio, portando ad associazioni genetiche distorte.

Limiti e vantaggi della tecnica di randomizzazione Mendeliana

Sebbene in alcuni casi non sia possibile dimostrare in maniera conclusiva la validità degli assunti per le variabili strumentali selezionate, diverse tipologie di test e valutazioni possono essere condotte per aumentare o diminuire la confidenza dell'utilizzo di una determinata variante genetica. Tuttavia, una conoscenza biologica, piuttosto che un approccio statistico, dovrebbe costituire la "spina dorsale" di qualsiasi giustificazione dell'uso di una particolare variante genetica come variabile strumentale in questa tipologia di disegno di studio. Ne consegue che è necessario prestare la dovuta attenzione all'interpretazione dei risultati di studi di RM a seconda della plausibilità degli assunti (18,19). Sotto l'assunto che la variante genetica è un valido strumento, gli studi di RM possono rispon-

dere a due importanti quesiti riguardanti un possibile effetto causale dell'esposizione sull'*outcome* ed, eventualmente, informarci sulla dimensione dell'effetto. La randomizzazione Mendeliana, infatti, viene ad oggi considerata una delle prospettive più promettenti per migliorare la comprensione della causalità negli studi basati sulla popolazione, sebbene vi siano delle limitazioni che devono essere prese in considerazione. Ad esempio, con questa metodologia è possibile solo esaminare aree per cui esistono varianti e polimorfismi funzionali (o marcatori genetici legati a tali polimorfismi funzionali) che siano rilevanti per l'esposizione modificabile di interesse (14, 20). Inoltre, nel contesto degli studi di associazione genetica più in generale, è stato sottolineato che, in molti casi, anche se un *locus* è coinvolto in un processo metabolico correlato alla malattia, potrebbe non esserci un marcatore adatto o un polimorfismo funzionale per consentire lo studio di questo processo (21). Recentemente, comunque, la riduzione dei costi di genotipizzazione e il conseguente aumento degli studi di associazione su tutto il genoma (studi GWAS) hanno facilitato la scoperta di un numero considerevole di nuove varianti genetiche associate a fattori di rischio e *outcome* di malattia (22). Infine, nonostante l'analogia tra studio di RM e trial randomizzato abbia creato un grande interesse nell'uso di questo disegno di studio per anticipare i risultati attesi dagli studi clinici randomizzati stessi, tale analogia presenta essa stessa delle limitazioni. Se da un lato gli studi di RM infatti valutano l'effetto di cambiamenti geneticamente determinati (che perciò durano da tutta la vita) di un'esposizione su un *outcome*, gli studi clinici randomizzati valutano l'effetto di cambiamenti a breve termine e terapeutamente indotti. La sfida diventa quindi quella di tradurre l'effetto causale di cambiamenti permanen-

ti di un'esposizione (effetto mendeliano) nell'effetto che ci si può attendere in risposta a cambiamenti terapeutici nel breve termine (effetto clinico) (23). Sfortunatamente, questo in uno studio di RM non è sempre realizzabile, dato che spesso l'effetto delle esposizioni genetiche sembra avere effetti cumulativi nel tempo sull'*outcome* associato, con una conseguente sovrastima delle dimensioni dell'effetto atteso rispetto a quanto si potrebbe osservare nella pratica clinica. Nonostante questa limitazione di cui è importante tenere conto, la RM può comunque essere utilizzata per predire in maniera accurata i risultati di studi clinici randomizzati (24,25), confrontando l'effetto di una variante di riferimento che mima una terapia che è stata valutata in studi randomizzati, e stimando il cambiamento che deve essere indotto nell'esposizione per determinare un beneficio nell'*outcome* valutato in un trial randomizzato a breve termine (23).

Applicazione della randomizzazione Mendeliana in ambito di dislipidemie

Solo di recente la ricerca in ambito cardiovascolare ha beneficiato dell'implementazione di studi di RM, i quali hanno avuto un ruolo fondamentale nel confermare molte associazioni causali tra diversi fattori di rischio e alcune patologie. Nella maggior parte dei casi, l'associazione tra questi fattori e le malattie era ben nota e derivata da studi clinici e osservazionali, ma la possibile presenza di distorsione, specialmente in quest'ultimi, ha impedito di stabilire con certezza i meccanismi causali. Nell'ambito delle dislipidemie, di seguito sono riassunti i risultati di alcuni studi di RM (26).

Colesterolo LDL

Negli ultimi anni, numerosi studi di RM hanno stabilito con fermezza la relazione

causale tra il colesterolo LDL (LDL-C) e il rischio di malattia coronarica acuta (CAD). In molti di questi studi le evidenze ottenute, circa la riduzione dei livelli di LDL-C, sono risultate consistenti con quanto supportato dagli studi clinici randomizzati (25, 27). Da un punto di vista clinico, la riduzione dei livelli di LDL-C dovuta a varianti in geni regolatori del metabolismo lipidico sembra essere inferiore a quanto atteso; tuttavia, la riduzione del rischio di CAD risulta paragonabile a quanto osservato clinicamente in seguito al trattamento con statine, suggerendo un beneficio derivante da un'esposizione permanente a bassi livelli di LDL-C, determinata da un particolare genotipo (27, 28).

Evidenze simili si sono riscontrate per un altro farmaco ipolipemizzante. Ezetimibe è un inibitore dell'assorbimento del colesterolo che agisce a livello dell'intestino tenue, con un meccanismo di inibizione dell'attività della proteina NPC1L1 (Niemann-Pick C1-like 1) che comporta un abbassamento dei livelli di LDL-C. Alcune analisi di RM hanno identificato delle variazioni polimorfiche sul gene NPC1L1 che si associano ai livelli sierici di LDL-C e rischio di CAD (24, 29).

L'inibizione di PCSK9 attraverso anticorpi monoclonali si è dimostrata efficace nel ridurre notevolmente gli eventi cardiovascolari (30, 31). Un'analisi fattoriale 2x2 di RM sul gene PCSK9 (proteina convertasi subtilisina/Kexin tipo 9) ha evidenziato un'associazione log-lineare, dose-dipendente, tra l'abbassamento dei livelli di LDL-C mediato da PCSK9 e il rischio di infarto miocardico o morte per CAD (25). Sulla base delle evidenze ottenute da studi di RM, non è però possibile trarre conclusioni in merito ad una maggiore efficacia nel ridurre i livelli di LDL-C degli inibitori di PCSK9 rispetto alle statine. Ad oggi, non esiste un confronto

diretto tra inibitori di PCSK9 e statine in studi clinici. Due recenti studi [FOURIER (31) e ODYSSEY (32)] hanno valutato l'efficacia degli inibitori di PCSK9 in popolazioni ad alto rischio cardiovascolare, riportando una marcata riduzione degli eventi cardiovascolari quando questi venivano usati in combinazione con statine, rispetto alla monoterapia statinica. In questi studi, gli inibitori di PCSK9 e le statine possono aver manifestato un'azione sinergica nel ridurre i livelli di LDL-C attraverso due meccanismi biologici diversi: i primi aumentando il riciclo dei recettori delle LDL e, quindi, il numero di recettori presenti sulla superficie degli epatociti; le statine bloccando il percorso di sintesi del colesterolo nel fegato attraverso l'inibizione della 3-idrossi-3-metil-glutaril-coenzima A (HMG-CoA) reduttasi.

Più recentemente, studi di RM hanno portato alla luce alcune delle più importanti evidenze scientifiche in ambito cardiovascolare. Nel 2015, un ampio studio ha scoperto che la riduzione dei livelli di LDL-C con ezetimibe o con statine (in monoterapia o in combinazione con ezetimibe) dovrebbe comportare una diminuzione del rischio di malattia coronarica comparabile tra le due terapie, in termini di entità del beneficio ottenuto per ogni riduzione di un'unità di LDL-C; l'entità del beneficio clinico osservato risultava inoltre essere proporzionale alla riduzione assoluta dei livelli di LDL-C, indipendentemente dal trattamento utilizzato, o in altre parole, l'effetto della riduzione dei livelli di LDL-C sul rischio di CAD sembra essere determinato dell'esposizione assoluta (in termini di tempo) a bassi livelli, indipendentemente dal meccanismo con cui il colesterolo LDL viene ridotto. Questo, fornisce prove a sostegno del concetto "*lower is better, earlier is better*" (24, 33).

In aggiunta, uno studio che ha valutato

l'associazione di due *score* genetici, costruiti rispettivamente sulla base di varianti su geni regolatori del metabolismo dei trigliceridi (gene LPL) e delle LDL (gene LDLR), con il rischio di eventi cardiovascolari, ha mostrato che le varianti associate ad una riduzione dei livelli di trigliceridi e quelle associate ad una riduzione dei livelli di LDL-C erano associate ad una riduzione di rischio paragonabile per ogni unità di lipoproteine contenenti Apolipoproteina B (ApoB). La riduzione del rischio cardiovascolare sembra quindi essere indipendente, additiva e proporzionale alla variazione assoluta dei livelli di ApoB; in altre parole il beneficio clinico derivante dall'abbassamento dei livelli di trigliceridi è simile a quello ottenibile dalla riduzione dei livelli di LDL-C per ogni variazione unitaria nei livelli di ApoB (34).

Nel loro insieme, i risultati ottenuti dagli studi di RM hanno confermato quanto osservato clinicamente in studi randomizzati sull'associazione causale tra livelli sierici di LDL-C e rischio di CAD. Questa consistenza nelle evidenze ha anche dimostrato che l'approccio di RM può essere utilizzato per anticipare accuratamente i risultati di studi randomizzati, e convalidare nuovi target farmacologici.

Colesterolo HDL

Gli effetti pleiotropici di alcune varianti implicate nel metabolismo lipidico hanno reso difficile stabilire un ruolo causale per il colesterolo contenuto nelle lipoproteine ad alta densità (HDL-C) che fosse indipendente dagli effetti dei livelli del colesterolo LDL o dei trigliceridi, sebbene studi epidemiologici e metanalisi abbiano costantemente riportato un'associazione inversa tra livelli di HDL-C e rischio di CAD (26). Evidenze estrapolate da cinque studi di RM hanno uniformemente mostrato che alterazioni geneticamente definite dei livelli di HDL-C non risultano predittive del ri-

schio di CAD (35-39). Tuttavia, vi sono d'altro canto osservazioni da RM che confermano la natura protettiva di HDL-C per la malattia cardiovascolare, indipendentemente dall'effetto di LDL-C e trigliceridi (40). Diversamente da precedenti tre inibitori della proteina di trasferimento degli esteri del colesterolo (CETP) (torcetrapib, dalcetrapib ed evacetrapib) valutati in ampi studi clinici randomizzati, per i quali non è stata osservata una riduzione del rischio cardiovascolare in seguito all'aumento dei livelli di HDL-C, il recente studio REVEAL ha dimostrato che l'uso di anacetrapib, il più recente inibitore del CETP, in pazienti con aterosclerosi che stavano ricevendo una terapia con statine ad alta intensità, ha comportato un'incidenza minore di eventi coronarici maggiori (41). Tuttavia, è ancora in discussione se l'effetto protettivo osservato possa essere attribuibile all'aumento dei livelli di HDL-C.

Rispetto al colesterolo LDL, il metabolismo e la biologia del colesterolo HDL sono molto più complessi. I livelli di HDL-C forniscono informazioni solo sulla concentrazione sierica, ma non sulle caratteristiche funzionali delle particelle di HDL, come ad esempio sul potenziale efflusso di colesterolo o sulla funzione antinfiammatoria. Pertanto, ulteriori evidenze sulla funzione del colesterolo HDL possono aiutare a identificare nuovi *pathways* genomici che possono fornire nuove strategie terapeutiche per la cura dell'aterosclerosi.

Trigliceridi

Le evidenze ottenute da studi di RM sugli effetti dei trigliceridi (TG) e delle lipoproteine ricche in TG sul rischio di aterosclerosi sono state contrastanti per molto tempo. In due analisi di RM multivariate è stato suggerito un deleterio effetto causale dell'aumento dei trigliceridi sul rischio di malattia coronarica (40, 42). Tuttavia, vi è

poca coerenza nelle associazioni delle singole varianti correlate ai trigliceridi con il rischio cardiovascolare (43), con alcune di queste fortemente associate al rischio di malattia e altre che non mostrano alcuna chiara relazione (44, 45). Successivamente, un altro studio di RM ha riportato che concentrazioni plasmatiche geneticamente ridotte di TG misurate non a digiuno erano associate ad una ridotta mortalità per tutte le cause (46). Utilizzando score poligenici, anche una metanalisi di studi di RM ha uniformemente supportato un effetto causale dei TG sul rischio di CAD (36). Tuttavia, evidenze da un altro studio, dove è stato implementato un metodo di regressione multipla ponderato, ha recentemente dimostrato che il rischio di CAD viene completamente spiegato dai livelli sierici del colesterolo non-HDL, con nessuna associazione con quella del colesterolo HDL e dei TG (47). Utilizzando questo approccio, la rianalisi dei dati di Do et al. (42) non ha più supportato un effetto indipendente dei livelli di TG sul rischio di CAD.

Una fenotipizzazione più dettagliata, come la profilazione delle sottoclassi delle lipoproteine, risulta quindi necessaria per capire la validità degli strumenti genetici utilizzati negli studi di RM per valutare la causalità dei livelli di TG sul rischio cardiovascolare, soprattutto in virtù del fatto che i *remnants* del colesterolo, definiti anche come il colesterolo trasportato nelle particelle di lipoproteine a bassissima densità (VLDL) ricche in TG e nelle lipoproteine a densità intermedia (IDL) insieme ai chilomicroni in condizioni di non digiuno, sono stati recentemente identificati come un fattore di rischio causativo per aterosclerosi (48).

Lipoproteina (a)

Il ruolo della lipoproteina (a) (Lp(a)) nella stima del rischio cardiovascolare è stato e continua ad essere oggetto di dibattito.

La Lp(a) è una particella simile alle LDL che può favorire la formazione di macrofagi e cellule muscolari lisce infarcite di lipidi derivati dalla fagocitosi delle LDL modificate e la deposizione di colesterolo nelle placche, e per questo risulta associata a CAD. A causa della mancanza di farmaci specifici, non è ancora stato disegnato uno studio clinico randomizzato per verificare l'efficacia della riduzione dei livelli di Lp(a), anche se alcune terapie come niacina, anacetrapib ed evolocumab sono in grado di determinare una moderata diminuzione dei livelli sierici. Da un punto di vista genetico, vi sono invece alcune evidenze che potrebbero far presupporre un'associazione causale con la malattia cardiovascolare. Uno studio di RM effettuato su partecipanti europei, ha mostrato che livelli elevati di Lp(a) risultano associati ad un aumento del rischio di infarto miocardico, sia che questi siano determinati da un punto di vista genetico (aumento del rischio del 22%), sia che si valuti l'aumento plasmatico in maniera osservazionale (aumento significativo del rischio dell'8%) (49). Infine, in un altro studio genetico, è emerso un aumento del rischio di malattia cardiovascolare all'aumentare dei livelli di uno score genetico, costruito includendo due varianti utilizzate per approssimare i livelli plasmatici di Lp(a) (50). Queste evidenze hanno aumentato la probabilità che il *pathway* che coinvolge Lp(a) sia causalmente rilevante per le malattie cardiovascolari.

Altri biomarcatori valutati attraverso studi di randomizzazione Mendeliana

Diversi studi di RM sono stati implementati per valutare la rilevanza causale anche di altri numerosi biomarcatori. Partendo da evidenze di studi genetici umani, la tecnica della RM ha confutato la rilevanza causale di alcuni marcatori, tra cui la proteina C reattiva, il fibrinogeno, l'acido urico, l'attività della fosfolipasi A2 associata

alla lipoproteina e l'omocisteina. Al contrario, altri studi di RM hanno invece fornito evidenze sulla rilevanza causale di altri *pathway* nella malattia coronarica, incluso il recettore dell'interleuchina-6 (51).

Prospettive future

Uno studio randomizzato controllato è un *setting* sperimentale in cui vengono te-

state semplici ipotesi predefinite - l'efficacia di interventi mirati sull'uomo. Al contrario, uno studio di RM non presuppone un *setting* sperimentale, ma richiede che il *setting* determinato al concepimento rimanga tale quando i dati sull'esposizione e sulla malattia vengono raccolti. Questo è equivalente a supporre che le relazioni tra il gene e l'esposizione, tra il gene e la malattia e tra l'esposizione e la malattia siano

Glossario

Trial controllato e randomizzato (Randomized Controlled Trial, RCT): Disegno di studio nel quale le condizioni dello studio sono "manipolate" dal ricercatore. I soggetti nei gruppi di studio vengono assegnati al trattamento di interesse in maniera casuale attraverso la randomizzazione. Al gruppo di controllo dello studio viene prescritto un trattamento di cui si conosce l'effetto, oppure nessun trattamento. Il RCT condotto in maniera metodologicamente corretta è considerato al vertice della cosiddetta "gerarchia delle prove di efficacia", secondo solo alla revisione sistematica.

Randomizzazione: Metodo di assegnazione casuale dei pazienti al braccio sperimentale o al braccio di controllo; usato negli studi clinici randomizzati per evitare che i risultati siano falsati da fattori soggettivi o comunque interferenti.

Studio osservazionale: Disegno di studio nel quale si tende a dimostrare i possibili effetti di vari fattori di rischio o protettivi, su un gruppo di persone, osservando gli eventi che si verificano senza alcun intervento da parte dello sperimentatore.

Randomizzazione Mendeliana: Metodo che utilizza le informazioni genetiche (ereditate sin dal concepimento e non modificabili) per determinare le relazioni causali tra fattori di rischio ed esiti della malattia in studi osservazionali.

Variabile strumentale: In statistica, econometria, epidemiologia e discipline correlate, il metodo delle variabili strumentali (*Instrumental Variables, IV*) viene utilizzato per stimare le relazioni causali quando esperimenti controllati non sono realizzabili. In questa rassegna è intesa come variabile associata al fattore di rischio di interesse, non correlata ad altri fattori di confondimento, associata all'esito (*outcome*) solo attraverso il fattore di rischio.

Variabile strumentale debole: Può verificarsi negli studi di randomizzazione Mendeliana quando si utilizzano una o più varianti genetiche che spieghino solo una piccola parte della variabilità del fattore di rischio, unita a una ridotta dimensione del campione.

Cromosoma: Struttura composta di DNA e proteine che porta gran parte dell'informazione genetica cellulare.

Locus: Una specifica regione di un cromosoma. Può essere considerato sinonimo di gene.

Gene: Unità ereditaria.

Allele: Forma alternativa di un particolare carattere genetico, situato in corrispondenza di un particolare *locus* del cromosoma.

Genotipo: La descrizione esatta della costituzione genetica di un individuo per quanto riguarda un singolo carattere oppure un insieme più grande di caratteri.

Linkage disequilibrium: Si riferisce ad un'associazione statistica (o correlazione) tra polimorfismi genetici, di solito perché sono posizionati vicini sul gene.

Pleiotropia: Effetti delle varianti genetiche su più di un sistema biologico (una variante genetica può avere funzioni multiple, portando ad una stima errata del rapporto causa-effetto).

Canalizzazione: Adattamento biologico compensativo degli effetti sul rischio di malattia.

Stratificazione della popolazione: Confondimento dell'associazione gene-malattia per appartenenza etnica; frequenze alleliche, tassi di malattia o di esposizione possono essere molto differenti e variabili tra diversi sottogruppi della popolazione e ciò può portare ad associazioni spurie.

Questionario di auto-apprendimento

1. L'approccio della randomizzazione Mendeliana rappresenta:

- Un tentativo di introduzione dello schema di randomizzazione in un contesto sperimentale.
- Un tentativo di introduzione dello schema di randomizzazione in un contesto osservazionale.
- Un tentativo di introduzione dello schema di randomizzazione sia in un contesto sperimentale che in quello osservazionale.

2. I principali vantaggi che derivano dalla randomizzazione Mendeliana sono:

- L'associazione tra polimorfismo e malattia può mimare l'associazione tra una data esposizione e la malattia stessa, eliminando totalmente il problema di causalità inversa oltre che altri tipi di confondimento.
- L'associazione tra polimorfismo e malattia può mimare l'associazione tra una data esposizione e la malattia stessa, ma non può eliminare il problema di causalità inversa o l'effetto di altri tipi di confondimento.
- L'associazione tra polimorfismo e malattia può mimare l'associazione tra una data esposizione e la malattia stessa, eliminando però solo parzialmente il problema di causalità inversa oltre che l'impatto di altri tipi di confondimento.

3. Gli studi di randomizzazione Mendeliana permettono:

- Di estendere il rischio stimato ad una vita intera, o più in generale di confermare la tendenza del rischio oltre gli anni considerati dallo studio di coorte.
- Di confermare la tendenza del rischio oltre gli anni considerati dallo studio di coorte, ma anche di stimare in maniera consistente il rischio di malattia nel breve termine.
- Di stimare in maniera consistente il rischio di malattia nel breve termine.

4. Sebbene la randomizzazione Mendeliana apra nuove prospettive, la sua applicazione richiede che vengano rispettati alcuni assunti fondamentali. In particolare, è necessario accertare che:

- Vi sia una differente prevalenza dell'allele di rischio all'interno della popolazione; il polimorfismo non sia in *Linkage Disequilibrium* con un'altra variante in grado di influenzare il rischio di malattia e che non sia pleiotropico; sia ben nota la funzione del gene in esame e la sua relazione con la malattia si basi su un valido assunto biologico.
- Vi sia una differente prevalenza dell'allele di rischio all'interno della popolazione; il polimorfismo non sia in *Linkage Disequilibrium* con un'altra variante in grado di influenzare il rischio di malattia e che non sia pleiotropico.
- Non vi sia una differente prevalenza dell'allele di rischio all'interno della popolazione; il polimorfismo non sia in *Linkage Disequilibrium* con un'altra variante in grado di influenzare il rischio di malattia e che non sia pleiotropico; sia ben nota la funzione del gene in esame e la sua relazione con la malattia si basi su un valido assunto biologico.

5. Gli studi di randomizzazione Mendeliana:

- Sebbene siano caratterizzati da una forte validità interna difficilmente possono apportare un importante contributo all'epidemiologia osservazionale data la bassa generalizzabilità dei risultati all'intera popolazione.
- Sebbene siano caratterizzati da una bassa validità interna, rappresentano un approccio fondamentale per la ricerca clinica e per lo sviluppo terapeutico.
- Rappresentano essenziali elementi di supporto per il disegno di nuovi trial clinici randomizzati, per la stesura di linee-guida per la pratica clinica e per l'implementazione delle *policies* e delle misure di sanità pubblica, data la loro validità sia interna che esterna.

Risposte corrette:

1B, 2A, 3A, 4C, 5C

tutte correttamente specificate, permettendo di stabilire una vera relazione di causalità. Pertanto, benché sia necessaria molta cautela nell'interpretare correttamente gli studi che utilizzano la tecnica della randomizzazione Mendeliana, essi possono apportare un importante contributo all'epidemiologia osservazionale, quando svolti con adeguata attenzione alla progettazione dello studio, con uso appropriato dei metodi statistici, e se basati su chiare evidenze circa gli assunti sottesi alle inferenze di causalità.

Inoltre, il continuo sviluppo e i progressi relativi alle tecnologie associate alle discipline "omics", insieme al perfezionamento degli attuali metodi statistici, fanno di questo approccio uno strumento fondamentale per la ricerca clinica e lo sviluppo terapeutico. Di conseguenza, questi studi diventano essenziali elementi

di supporto per il disegno di nuovi trial clinici randomizzati, per la stesura di linee-guida per la pratica clinica e per l'implementazione delle *policies* e delle misure di sanità pubblica. Questo in particolare è vero per l'ambito cardiovascolare dove, sebbene siano stati raggiunti traguardi importanti per il trattamento della malattia cardiovascolare, questa patologia rimane tra le principali cause di morte a livello globale.

L'utilizzo della genomica per identificare la vulnerabilità individuale è un'area di ricerca attiva che può rappresentare una strategia pratica non solo per personalizzare la prevenzione e il trattamento della malattia cardiovascolare (medicina di precisione), ma anche per individuare target farmacologici promettenti e, di conseguenza, per informare adeguatamente la scoperta e lo sviluppo di nuove terapie.

RIASSUNTO

Diversi approcci sono stati implementati per superare i limiti che, tipicamente e in modo diverso, influenzano sia gli studi clinici randomizzati e che gli studi osservazionali. Gli studi di randomizzazione Mendeliana, in cui varianti genetiche funzionali servono da strumenti ("variabili strumentali") per approssimare esposizioni ambientali modificabili, sono stati sviluppati e implementati nell'ambito di studi epidemiologici osservazionali per rafforzare le stime inferenziali causali in situazioni non sperimentali. Poiché le varianti genetiche vengono trasferite casualmente dai genitori alla prole al momento della formazione del gamete, queste possono realisticamente imitare il processo di allocazione casuale del trattamento in uno studio clinico randomizzato, offrendo una strategia per eliminare, o comunque ridurre, il confondimento residuo tipico degli studi osservazionali, permettendo quindi di ottenere risultati generalizzabili all'intera popolazione. Se condotti correttamente e interpretati attentamente, gli studi di randomizzazione Mendeliana possono fornire evidenze scientifiche utili a supporto o rifiuto di ipotesi causali che verificano l'associazione tra esposizioni ambientali e malattie. Queste evidenze possono rappresentare informazioni utili per identificare nuovi potenziali bersagli farmacologici, con una probabilità di successo superiore rispetto ad approcci basati su studi sugli animali o *in vitro*.

Questa rassegna riassume la storia e il contesto della randomizzazione Mendeliana, le caratteristiche principali del disegno di studio, gli assunti per un utilizzo corretto, e una breve discussione sui vantaggi e svantaggi di questo approccio. Viene, inoltre, presentata anche una panoramica di quali sono state le applicazioni fino ad oggi della randomizzazione Mendeliana in ambito di dislipidemie.

Parole chiave: *Epidemiologia Genetica; Randomizzazione Mendeliana; Variante Genetica; Variabile Strumentale; Inferenza Causale; Malattie Cardiovascolari.*

Bibliografia

1. Kaprio J. Genetic epidemiology. *BMJ*. 2000; 320: 1257.
2. Ebrahim S, Smith GD. Mendelian randomization: can genetic epidemiology help redress the failures of observational epidemiology? *Hum Genet*. 2008; 123: 15-33.
3. Meldrum ML. A brief history of the randomized controlled trial. From oranges and lemons to the gold standard. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2000; 14: 745-60.
4. Boyko EJ. Observational Research Opportunities and Limitations. *J Diabetes Complications*. 2013; 27: 10.1016.
5. Burgess S, Foley CN, Zuber V. Inferring Causal Relationships Between Risk Factors and Outcomes from Genome-Wide Association Study Data. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2018; 19: 303-327.
6. Smith GD, Ebrahim S. 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? *Int J Epidemiol*. 2003; 32: 1-22.
7. Katan MB. Apolipoprotein E isoforms, serum cholesterol, and cancer. *Lancet*. 1986; 1: 507-508.
8. Youngman LD, Keavney BD, Palmer A. Plasma fibrinogen and fibrinogen genotypes in 4685 cases of myocardial infarction and in 6002 controls: test of causality by 'Mendelian randomization'. *Circulation*. 2000; 102 (Suppl. II): 31-32.
9. Thomas DC, Conti DV. Commentary: the concept of 'Mendelian Randomization'. *International Journal of Epidemiology*. 2004; 33: 21-25.
10. Thompson JR, Minelli C, Abrams KR, et al. Meta-analysis of genetic studies using Mendelian randomization - a multivariate approach. *Statistics in Medicine*. 2005; 24: 2241-2254.
11. Bautista LE, Smeeth L, Hingorani AD, Casas JP. Estimation of bias in nongenetic observational studies using 'Mendelian triangulation'. *Annals of Epidemiology*. 2006; 16: 675-680.
12. Thomas DC, Lawlor DA, Thompson JR. Re: estimation of bias in nongenetic observational studies using 'Mendelian triangulation' by Bautista et al. *Annals of Epidemiology*. 2007.
13. Smith GD, Hemani G. Mendelian randomization: genetic anchors for causal inference in epidemiological studies. *Hum Mol Genet*. 2014; 23(R1): R89-R98.
14. Lawlor DA, Harbord RM, Sterne JAC, et al. Mendelian randomization: Using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Statist Med*. 2008; 27: 1133-1163.
15. Smith GD, Ebrahim S. Mendelian Randomization: Genetic Variants as Instruments for Strengthening Causal Inference in Observational Studies. In: Weinstein M, Vaupel JW, Wachter KW, editors. National Research Council (US) Committee on Advances in Collecting and Utilizing Biological Indicators and Genetic Information in Social Science Surveys. 2008; 336-365.
16. Sheehan NA, Didelez V, Burton PR, Tobin MD. Mendelian Randomisation and Causal Inference in Observational Epidemiology. *PLoS Med*. 2008; 5: e177.
17. Burgess S, Thompson SG. Mendelian Randomization: Methods for Using Genetic Variants in Causal Estimation. In: Keiding N, Morgan BJT, Winkle CK, van der Heijden P, editors. *Interdisciplinary Statistics Series*. 2015; 25-40.
18. Nitsch D, Molokhia M, Smeeth L, et al. Limits to causal inference based on Mendelian randomization: a comparison with randomized controlled trials. *Am J Epidemiol*. 2006; 163: 397-403.
19. Bennett DA. An Introduction to Instrumental Variables - Part 2: Mendelian Randomisation. *Neuroepidemiology*. 2010; 35: 307-310.
20. Little J, Khoury MJ. Mendelian randomization: A new spin or real progress? *Lancet*. 2003; 362: 930-931.
21. Weis K, Terwilliger J. How many diseases does it take to map a gene with SNPs? *Nature Genetics*. 2000; 26: 151-157.
22. Palmer TM, Lawlor DA, Harbord RM, et al. Using multiple genetic variants as instrumental variables for modifiable risk factors. *Stat Methods Med Res*. 2012; 21: 223-242.
23. Ference BA. How to use Mendelian randomization to anticipate the results of randomized trials. *European Heart Journal*. 2018; 39: 360-362.
24. Ference BA, Majeed F, Penumetcha R, et al. Effect of naturally random allocation to lower low-density lipoprotein cholesterol on the risk of coronary heart disease mediated by polymorphisms in NPC1L1, HMGCR, or both: a 2x2 factorial Mendelian randomization study. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65: 1552-1561.
25. Ference BA, Robinson J, Brook RD, et al. Variation in PCSK9 and HMGCR and risk of cardiovascular disease and diabetes. *N Engl J Med*. 2016; 375: 2144-2153.
26. Hu Q, Hao P, Liu Q, et al. Mendelian randomization studies on atherosclerotic cardiovascular disease: evidence and limitations. *Sci China Life Sci*. 2019; 62: 758-770.
27. Linsel-Nitschke P, Götz A, Erdmann J, et al. Lifelong reduction of LDL-cholesterol related to a common variant in the LDL-receptor gene decreases the risk of coronary artery disease—a Mendelian randomisation study. *PLoS One*. 2008; 3: e2986.

28. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CNB, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. 2004; 110: 227-239.
29. Polisecki E, Peter I, Simon JS, et al. Genetic variation at the NPC1L1 gene locus, plasma lipoproteins, and heart disease risk in the elderly. *J Lipid Res*. 2010; 51: 1201-1207.
30. Sabatine MS, Giugliano RP, Wiviott SD, et al. Efficacy and safety of evolocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2015; 372: 1500-1509.
31. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, et al. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2017; 376: 1713-1722.
32. Schwartz GG, Steg PG, Szarek M, et al. Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome. *N Engl J Med*. 2018; 379: 2097-2107.
33. Ference BA, Yoo W, Alesh I, et al. Effect of long-term exposure to lower lowdensity lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: a Mendelian randomization analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2012; 60: 2631-2639.
34. Ference BA, Kastelein JJP, Ray KK, et al. Association of Triglyceride-Lowering LPL Variants and LDL-C-Lowering LDLR Variants With Risk of Coronary Heart Disease. *JAMA*. 2019; 321: 364-373.
35. Mokry LE, Ahmad O, Forgetta V, et al. Mendelian randomisation applied to drug development in cardiovascular disease: a review. *J Med Genet*. 2015; 52: 71-79.
36. Holmes MV, Asselbergs FW, Palmer TM, et al. Mendelian randomization of blood lipids for coronary heart disease. *Eur Heart J*. 2015; 36: 539-550.
37. Voight BF, Peloso GM, Orho-Melander M, et al. Plasma HDL cholesterol and risk of myocardial infarction: A mendelian randomisation study. *Lancet*. 2012; 380: 572-580.
38. Wu Z, Lou Y, Qiu X, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene polymorphism, high density lipoprotein cholesterol and risk of coronary artery disease: a meta-analysis using a Mendelian randomization approach. *BMC Med Genet*. 2014; 15: 118.
39. Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Stene MCA, et al. Association of loss-of-function mutations in the ABCA1 gene with high-density lipoprotein cholesterol levels and risk of ischemic heart disease. *JAMA*. 2008; 299: 2524-2532.
40. Burgess S, Freitag DF, Khan H, et al. Using multivariable Mendelian randomization to disentangle the causal effects of lipid fractions. *PLoS One*. 2014; 9: e108891.
41. HPS3/TIMI55-REVEAL Collaborative. Effects of anacetrapib in patients with atherosclerotic vascular disease. *N Engl J Med* 2017; 377: 1217-1227.
42. Do R, Willer CJ, Schmidt EM, et al. Common variants associated with plasma triglycerides and risk for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2013; 45:1345-1352.
43. Rosenson RS, Davidson MH, Hirsh BJ, et al. Genetics and causality of triglyceride-rich lipoproteins in atherosclerotic cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2014; 64: 2525-2540.
44. The TG, HDL Working Group of the Exome Sequencing Project. Loss-of-function mutations in APOC3, triglycerides, and coronary disease. *New England Journal of Medicine*. 2014; 371: 22-31.
45. Do R, Stitzel NO, Won HH, et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. *Nature*. 2014; 518: 102-106.
46. Thomsen M, Varbo A, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Low nonfasting triglycerides and reduced all-cause mortality: a Mendelian randomization study. *Clin Chem*. 2014; 60: 737-746.
47. Helgadóttir A, Gretarsdóttir S, Thorleifsson, et al. Variants with large effects on blood lipids and the role of cholesterol and triglycerides in coronary disease. *Nat Genet*. 2016; 48: 634-639.
48. Würtz P, Kangas AJ, Soininen P, et al. Lipoprotein subclass profiling reveals pleiotropy in the genetic variants of lipid risk factors for coronary heart disease. *J Am College Cardiology*. 2013; 62: 1906-1908.
49. Kamstrup PR, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Nordestgaard BG. Genetically elevated lipoprotein(a) and increased risk of myocardial infarction. *JAMA*. 2009; 301: 2331-2339.
50. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC, et al. Genetic Variants Associated With Lp(a) Lipoprotein Level and Coronary Disease. *N Engl J Med*. 2009; 361: 2518-28.
51. Zhao W, Lee JJ, Rasheed A, Saleheen D. Using Mendelian Randomization Studies to Assess Causality and Identify New Therapeutic Targets in Cardiovascular Medicine. *Curr Genet Med Rep*. 2016; 4: 207-212.

MECCANISMI DI MALATTIA

IL TRATTAMENTO DEI DIFETTI GENETICI E ACQUISITI DI LIPASI ACIDA LISOSOMIALE

The treatment of primary and secondary lysosomal acid lipase deficiency

LIVIA PISCIOTTA^{1,2}, ANDREA PASTA¹, MONICA GOMARASCHI³

¹Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova;

²Policlinico San Martino, Genova;

³Centro Enrica Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

SUMMARY

Lysosomal acid lipase (LAL) is responsible for the hydrolysis of cholesteryl esters and triglycerides, that reach the lysosomal compartment through the endocytosis of lipoproteins, or from the cytosol through the autophagic process. When LAL activity is lacking, cholesteryl esters and triglycerides accumulate in the body, causing severe pathologic manifestations, especially in the liver, spleen and hematopoietic cells, in the presence of atherogenic dyslipidemia.

Two forms of genetic LAL deficiency (LAL-D) have been described: Wolman disease, the severe and fulminant type, and cholesteryl ester storage disease, a milder and late form. In addition, acquired LAL-D has been described in some pathologic conditions, as NAFLD and other advanced hepatopathies.

To date, a guideline for the management of genetic LAL-D is not available, but early diagnosis and treatment is essential. Pharmacological management has been recently transformed by the availability of a recombinant human LAL for enzyme replacement therapy, which has been shown effective and safe in patients with genetic LAL-D. In addition, monitoring and management of associated complications is indicated. Regarding acquired LAL-D, dedicated studies are needed to clarify the relationship between LAL-D and NAFLD and, in particular, the possible prognostic role of LAL activity in NAFLD progression.

Keywords: *Lysosomal acid lipase; pharmacological treatment; dyslipidemia; steatosis.*

Il deficit di lipasi acida lisosomiale

La lipasi acida lisosomiale (LAL) è l'enzima responsabile dell'idrolisi di esteri del colesterolo e trigliceridi che giungono al compartimento lisosomiale in seguito all'endocitosi delle lipoproteine circolanti o dal citosol per attivazione del processo autofagico. I prodotti della reazione cata-

Indirizzo per la corrispondenza

Monica Gomaraschi
Centro Enrica Grossi Paoletti, Dipartimento
di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,
Università degli Studi di Milano
E-mail: monica.gomaraschi@unimi.it

lizzata da LAL, colesterolo non esterificato e acidi grassi, sono veicolati al citosol, dove regolano la propria biosintesi e il loro metabolismo (1). Riduzioni dell'attività di LAL possono essere causate da mutazioni geniche o essere secondarie ad altre condizioni fisiopatologiche. Nel deficit di LAL (LAL-D) si assiste ad un accumulo intralisosomiale di esteri del colesterolo e trigliceridi. Poiché l'enzima ha espressione ubiquitaria, l'eccessivo accumulo di lipidi può localizzarsi in qualsiasi organo, tuttavia i più colpiti risultano essere il fegato, la milza e il sistema ematopoietico, in particolare i macrofagi (2). Inoltre, il mancato rilascio di colesterolo non esterificato e acidi grassi nel citosol altera il metabolismo lipidico sia a livello cellulare che sistemico (1). L'obiettivo di questa rassegna è fornire un quadro generale sui possibili approcci terapeutici nei pazienti affetti da LAL-D su base congenita o acquisita.

Forme congenite

L'enzima LAL è codificato dal gene *LIPA* sul cromosoma 10; ad oggi sono state de-

scritte più di 100 mutazioni che riducono l'attività di LAL. Il deficit genetico di LAL è una patologia autosomica recessiva molto rara. Allo stato attuale dell'arte, ne esistono due forme principali: una più severa ad esordio precoce e fulminante, la malattia di Wolman (*Wolman disease*, WD), e un'altra più moderata e tardiva, la malattia da accumulo degli esteri del colesterolo (*cholesterol ester storage disease*, CESD) (3).

Nella malattia di Wolman, l'attività di LAL è pressoché assente (<1% rispetto al normale). I pazienti mostrano manifestazioni cliniche dopo la nascita, spesso entro 2-4 mesi, a causa dell'accumulo massivo di CE e TG negli organi viscerali e la conseguente insufficienza multiorgano conduce al decesso entro il primo anno di vita (4). Invece, i soggetti affetti da CESD presentano un'attività LAL residua (circa 4-12%) che si riflette in una sintomatologia più modesta e tardiva, con comparsa variabile dei sintomi dall'infanzia all'età adulta. Infatti, la maggioranza dei casi descritti in letteratura presenta insorgenza dei sintomi e conseguente diagnosi nei primi 5-10 anni di vita ed è rappresentativa delle forme più severe di CESD (5). Tuttavia, nelle forme più lievi, la diagnosi può avvenire in modo casuale nell'età adulta. Dal punto di vista biochimico, i pazienti CESD presentano un aumento delle transaminasi e una dislipidemia spesso mista, associata a ridotti livelli di colesterolo HDL. Il quadro clinico è caratterizzato da epatosplenomegalia, steatosi microvescicolare, malassorbimento ed aterosclerosi accelerata (5). Differentemente dalla malattia di Wolman, la prognosi dei pazienti con CESD è decisamente migliore e, al momento, non è stato completamente chiarito se vi sia una reale diminuzione dell'aspettativa di vita per questi pazienti (2). Il decesso avviene generalmente per progressione della malattia epatica o per

Elenco degli argomenti trattati

- Il deficit di lipasi acida lisosomiale (LAL-D) è una malattia autosomica recessiva responsabile dell'accumulo intralisosomiale di esteri di colesterolo e trigliceridi in tutto l'organismo, ma in particolare a livello di fegato, milza e sistema emopoietico.
- La forma più severa di LAL-D è fatale nei primi mesi di vita. La forma meno severa è compatibile con l'età adulta ed è caratterizzata da steatosi microvescicolare a rapida evoluzione e dislipidemia mista.
- Il trattamento del deficit genetico di LAL è ancora una problematica aperta. Oggi è disponibile una terapia enzimatica sostitutiva, che deve essere associata al controllo delle complicanze.
- Forme acquisite di LAL-D sono state descritte nei pazienti affetti da NAFLD. Lo studio delle possibili implicazioni terapeutiche di questa scoperta è una sfida attualmente aperta per la ricerca biomedica.

malattia cardiovascolare su base ischemica. La velocità di progressione della steatosi epatica a fibrosi e cirrosi nei pazienti CESD sembra più rapida rispetto ad altre patologie epatiche croniche, quali steatosi non-alcolica (NAFLD) o epatite C; infatti, l'intervallo medio tra la prima manifestazione clinica di CESD e l'insorgenza di fibrosi o cirrosi è stato stimato in 3.1 anni (6). Similmente, diversi studi hanno evidenziato valori di ispessimento medio-intimale carotideo (cIMT, indice di aterosclerosi preclinica) più elevati nei pazienti CESD rispetto a soggetti sani di paragonabile sesso ed età (7).

La splenomegalia e la possibile alterazione a livello midollare causata dal deficit di LAL possono causare anemia, trombocitopenia e alterazioni dell'emostasi, anche se in misura meno frequente rispetto ad altre malattie da accumulo lisosomiale quali Gaucher e Niemann-Pick (8). Inoltre, sono state descritte alterazioni a livello gastrointestinale quali diarrea, vomito, dolori addominali, steatorrea e possibili segni di malassorbimento (8). Infine, la dislipidemia può comportare deposizione di lipidi a livello dei vasi renali con alterazione della funzionalità renale.

Forme acquisite

Recentemente, numerosi studi si sono soffermati su condizioni fisiopatologiche che possono essere associate a moderate riduzioni dell'attività di LAL. In particolare, recenti evidenze hanno chiaramente dimostrato che i pazienti con NAFLD generalmente presentano riduzioni dell'attività LAL anche superiori al 50% (9-15). Tale riduzione sembra peculiare della NAFLD. Infatti, studi su casistiche italiane hanno dimostrato come l'attività LAL sia inferiore nella NAFLD rispetto a malattia epatica da HCV e nella cirrosi criptogenetica rispetto alle cirrosi ad eziologia nota.

È possibile ipotizzare una base metabolica per l'associazione tra LAL-D e NAFLD. La riduzione dell'attività di LAL, compromettendo il rilascio di colesterolo e acidi grassi liberi nel citosol, causa l'attivazione dei fattori di trascrizione della famiglia *sterol regulatory element-binding protein* (SREBP) con conseguente stimolazione della lipogenesi (16). Tale effetto supporta l'aumento degli acidi grassi intracellulari ed altre alterazioni metaboliche alla base dello sviluppo e della progressione della NAFLD (17). D'altra parte, l'accumulo citosolico di acidi grassi e trigliceridi tipico della NAFLD può causare una inibizione da prodotto dell'attività di LAL, poiché gli acidi grassi sembrano muoversi tra lisosoma e citosol per semplice diffusione (9,18). In accordo con tale ipotesi, la stimolazione del catabolismo degli acidi grassi mediante attivazione dei recettori della famiglia *peroxisome proliferator-activated receptors* (PPAR) di tipo α ripristina l'attività di LAL *in vitro* ed *in vivo* (9).

Il trattamento del difetto congenito di LAL

Analisi storica degli approcci terapeutici

Per quanto riguarda la più grave WD, fin dalla sua scoperta ad opera di Wolman Moshe tra il 1956 e il 1961 (19) sono stati valutati numerosi approcci terapeutici che sono risultati fallimentari nella maggior parte dei casi. Tra la scoperta della patologia e gli anni '70 sono state valutate varie strategie di intervento basate sull'utilizzo di terapie sintomatiche come la colestiramina, D-tiroxina, clofibrato, corticosteroidi e farmaci depressori dell'attività gastrointestinale, associate ad un'alimentazione arricchita in acidi grassi a media catena. Il successo di questi approcci è stato alterno e, in definitiva, poco soddisfacente (20). Nel 1972, al fine di fornire una

dieta semplificata che potesse attenuare le manifestazioni gastrointestinali ed epatiche, è stato valutato un approccio basato su un regime alimentare a basso contenuto di fibre seguito da nutrizione parenterale, anch'esso fallimentare (20). Successivamente, negli anni '80 furono applicati vari regimi dietetici finalizzati a ridurre l'accumulo progressivo di lipidi a livello epatico e perciò basati sulla restrizione di esteri idrofobici, come il latte materno. Tuttavia, i miglioramenti registrati furono limitati al breve termine, senza influenzare la sopravvivenza complessiva dei neonati affetti (21). A partire dagli anni '90, diversi neonati affetti da WD sono stati sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche; sebbene siano stati documentati miglioramenti dell'epatopatia in alcuni pazienti, sono stati riportati numerosi casi di fallimento terapeutico e importanti effetti collaterali, anche mortali (22).

In pazienti affetti da CESD, la forma di LAL-D ad insorgenza più tardiva, fino alla metà degli anni 2000 i trattamenti sono stati principalmente mirati alla gestione della dislipidemia e, in minor misura, dell'epatopatia. Pertanto, questi pazienti sono stati sottoposti a diete a basso contenuto di grassi associate a varie terapie farmacologiche ipolipemizzanti, quali statine, ezetimibe e colestiramina. Seppur in assenza di studi controllati, si può affermare che tale approccio ha un effetto variabile sul controllo della dislipidemia, ma generalmente non è in grado di influenzare l'epatopatia (2, 23). In questo ambito, studi più approfonditi sarebbero necessari per chiarire il ruolo di ezetimibe. Valutazioni condotte nel modello animale di LAL-D hanno evidenziato una riduzione dell'accumulo epatico ed intestinale di lipidi in seguito al trattamento con ezetimibe (24). Inoltre, in tre pazienti affetti da CESD il trattamento a lungo termine con

ezetimibe ha causato una riduzione delle transaminasi; tuttavia, non è stata effettuata una valutazione strumentale della steatosi epatica (25). L'uso degli inibitori di PCSK9 nei pazienti con deficit di LAL non è stato ad oggi documentato. Infine, sono stati descritti miglioramenti del profilo lipidico e dei parametri epatici in pazienti CESD in cui il trapianto di fegato si è reso necessario ad un'età media di 16 anni, a causa della rapida progressione dell'epatopatia; tuttavia, il trapianto non ha effetto sulle conseguenze sistemiche della carenza enzimatica (2, 26-29).

La terapia enzimatica sostitutiva con sebelipasi alfa

A partire dal 2010, il trattamento del deficit genetico di LAL è stato rivoluzionato dallo sviluppo di una proteina umana ricombinante, che è oggi disponibile per la terapia enzimatica sostitutiva di pazienti affetti da deficit completi e parziali di LAL in vari Paesi (30). Sebelipasi alfa è una proteina LAL ricombinante umana espressa nell'albume di galline transgeniche (31). La proteina è glicosilata; in particolare, la presenza di residui di mannosio-6-fosfato ne garantisce la captazione da parte di molti tipi cellulari, inclusi epatociti e macrofagi, ed il corretto trasporto nel compartimento lisosomiale. Attualmente, l'efficacia di questo enzima ricombinante è stata valutata su oltre 100 soggetti affetti da WD o CESD, di cui circa la metà in età pediatrica (32-37).

Per quanto riguarda i neonati affetti da WD, sebelipasi alfa è stata testata in 9 pazienti e la loro sopravvivenza è stata paragonata al decorso di una coorte storica 21 neonati con le medesime caratteristiche, nessuno dei quali sopravvissuto oltre gli 8 mesi di vita (34). Tra i casi trattati con sebelipasi alfa, 6 pazienti hanno raggiunto i 12 mesi di vita, 5 dei quali hanno succes-

sivamente superato i 24 mesi. Inoltre, la sopravvivenza è associata al miglioramento di numerosi parametri, quali crescita ponderale, anemia, transaminasi, livelli di albumina e linfadenopatia, evidente fin dalle prime settimane di trattamento ai dosaggi più bassi.

Tra gli studi che hanno valutato l'effetto di sebelipasi alfa nei pazienti affetti da CESD, il più significativo è lo studio di fase 3 multicentrico, randomizzato e in doppio cieco ARISE (Acid Lipase Replacement Investigating Safety and Efficacy) (35). Sono stati arruolati 66 pazienti CESD di età superiore a 4 anni, che sono stati trattati per 20 settimane con placebo o con infusioni di sebelipasi alfa alla dose di 1 mg/kg ogni

due settimane. La fase in doppio cieco è stata seguita da un periodo di estensione in aperto, in cui tutti i pazienti sono stati trattati con il farmaco. L'obiettivo primario dello studio era la normalizzazione dei livelli di alanina aminotransferasi, raggiunto nel 31% dei pazienti trattati con sebelipasi alfa rispetto al 5% dei pazienti trattati con placebo. Inoltre, sebelipasi alfa ha causato un significativo miglioramento di altri parametri biochimici, quali LDL- e HDL-colesterolo, trigliceridi e aspartato aminotransferasi. Per quanto riguarda l'epatopatia, il trattamento con sebelipasi alfa ha ridotto del 32% il contenuto di grasso epatico, e in un sottogruppo di 20 pazienti è stata anche riscontrata una riduzione

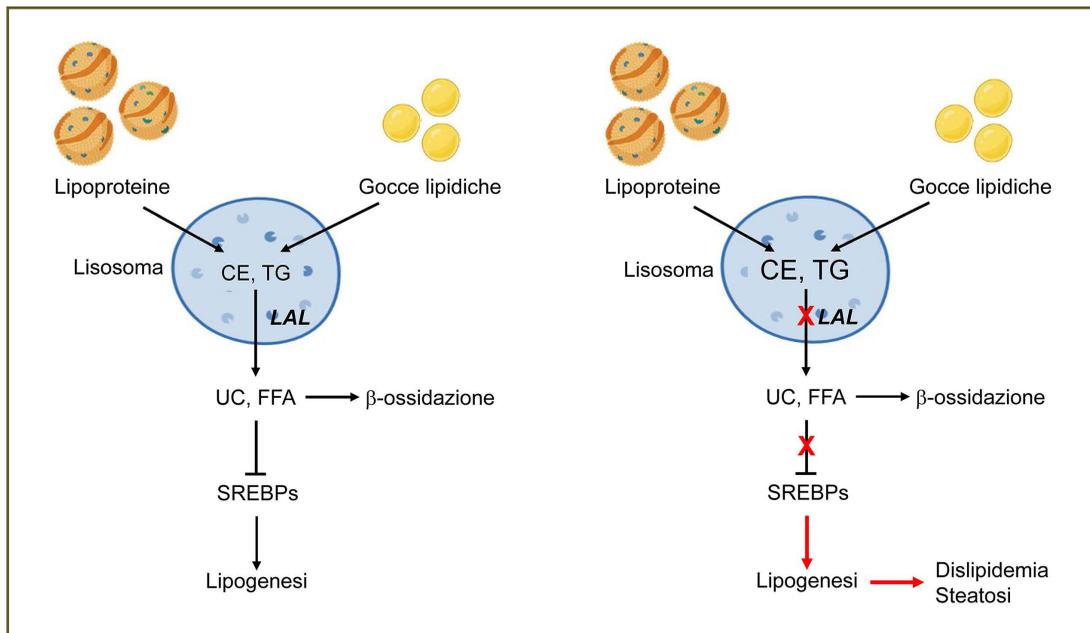


Figura 1 - Ruolo di LAL nel metabolismo lipidico cellulare. La lipasi acida lisosomiale (LAL) è responsabile dell'idrolisi di esteri del colesterolo (CE) e trigliceridi (TG) nel compartimento lisosomiale. I lipidi possono giungere nel lisosoma per endocitosi delle lipoproteine circolanti o per trasporto delle gocce lipidiche citoplasmatiche durante l'attivazione del processo autofagico. I prodotti della reazione di idrolisi, colesterolo non esterificato (UC) e acidi grassi liberi (FFA), vengono rilasciati nel citosol dove inibiscono l'attivazione dei fattori di trascrizione della famiglia *sterol regulatory element-binding proteins* (SREBPs). Nel pannello a destra, il deficit di LAL causa un accumulo di CE e TG nel compartimento lisosomiale. Inoltre, il mancato rilascio di UC e FFA nel citosol causa la traslocazione nucleare di SREBPs e l'attivazione della lipogenesi. Immagine parzialmente elaborata con *BioRender*.

del grado di fibrosi dopo un anno di trattamento (38). Non sono ad oggi disponibili dati sull'efficacia del trattamento a lungo termine con sebelipasi alfa in termini di prevenzione dell'arteriosclerosi e delle relative complicanze cardiovascolari.

Il farmaco ha mostrato un buon profilo di tollerabilità; solo nel 3% dei pazienti si sono manifestate reazioni significative in seguito all'infusione per anafilassi o ipersensibilità (34, 35, 39). I segni e sintomi hanno incluso fastidio al torace, iniezione congiuntivale, dispnea, esantema pruriginoso ed eruzione generalizzata, iperemia, lieve edema delle palpebre, rinorrea, grave sofferenza respiratoria, tachicardia, tachipnea e orticaria. Non sono state registrate reazioni avverse letali. Lo sviluppo di anticorpi diretti contro la proteina ricombinante è stato evidenziato nel 14% dei pazienti CESD nell'ambito dello studio ARISE entro 3 mesi dall'inizio della terapia, per poi ridursi nel proseguo della stessa (35, 39). La presenza di anticorpi non è risultata correlata all'efficacia del trattamento o all'insorgenza di eventi avversi. Nello studio condotto su neonati affetti da WD, trattati una volta alla settimana con dosi di sebelipasi alfa fino a 5 mg/kg, lo sviluppo di anticorpi è stato evidenziato nel 57% dei casi (34, 39).

Sebelipasi alfa è stato approvato nel 2015 dalla European Medicines Agency (EMA) per il trattamento di pazienti di tutte le età affetti da LAL-D (39). In Italia, l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ha indicato l'infusione endovenosa di sebelipasi alfa nei neonati al dosaggio di 1 mg/kg fino ad un massimo di 3 mg/kg una volta alla settimana, e in bambini e adulti al dosaggio di 1 mg/kg a settimane alterne (40). AIFA ha inoltre inserito questo enzima ricombinante nel registro dei farmaci sottoposti a monitoraggio con specifici criteri di rimborsabilità. In particolare, la rimborsabilità è indicata per la terapia

enzimatica sostitutiva a lungo termine in pazienti affetti da deficit di LAL ad esordio precoce (entro il primo anno di vita) e a rapida progressione.

Infine, in Italia esiste un fondo nazionale istituito con la Legge n. 326 del 2003 per l'impiego a carico del SSN di farmaci orfani, al quale dal 2017 si può accedere per il trattamento con sebelipasi alfa dei pazienti affetti da CESD. La rimborsabilità attraverso questo tipo di fondo è subordinata alla preparazione di adeguata richiesta e al vaglio da parte dell'autorità competente (41).

Il trattamento delle forme acquisite di LAL-D

Benché sia stata dimostrata l'associazione tra LAL-D e alcune forme di patologia epatica, in particolare la NAFLD e forme avanzate di insufficienza d'organo, il ruolo del deficit di LAL nel decorso della NAFLD non è ancora stato chiarito. Di conseguenza, anche l'effetto del ripristino dell'attività LAL non è stato valutato. Poiché le due condizioni presentano alcune alterazioni metaboliche comuni, anche gli interventi terapeutici potrebbero agire su entrambe le patologie. Ad oggi, la terapia della NAFLD prevede il trattamento dell'epatopatia affiancato alla gestione delle comorbilità metaboliche che possono essere presenti. Il principale approccio per la gestione della NAFLD è la modifica dello stile di vita, finalizzata alla correzione della sedentarietà e al controllo del peso corporeo. Le linee guida AASLD (42) raccomandano un regime dietetico ipocalorico, ipoglicidico (in particolare povero di fruttosio) e ipolipidico, oppure, in alternativa, la dieta mediterranea isocalorica. Tuttavia, per ottenere un'efficace remissione della steatoepatite (NASH) è indispensabile ottenere un calo ponderale di almeno il 7%. L'effetto della correzione dello stile di vita

sull'attività LAL nel paziente con NAFLD non è ad oggi noto.

Nonostante i numerosi studi clinici condotti negli ultimi anni, non è ancora disponibile un trattamento farmacologico specifico per la NAFLD. In particolare, molti farmaci utilizzati per trattare le comorbilità associate, quali ipoglicemizzanti e ipolipidemizzanti, sono in fase di valutazione sulla base di evidenze di un possibile effetto diretto sulla patologia (42). L'attenzione è rivolta soprattutto ai pazienti con diagnosi istologica di NASH e fibrosi. Al momento, le molecole che hanno come bersaglio il metabolismo lipidico e glucidico, quali gli agonisti dei recettori PPAR, stanno mostrando i risultati più promettenti. Ad esempio, l'agonista di PPAR γ pioglitazone, farmaco ipoglicemizzante della famiglia dei tiazolidinedioni, ha migliorato il profilo istologico in pazienti diabetici e non con biopsia positiva per NASH (43, 44). Anche l'agonista misto α/δ elafibranor è attualmente in fase 3 di spe-

rimentazione clinica in pazienti con NASH (NCT02704403, 45). Per quanto riguarda l'effetto di questi farmaci sull'attività di LAL, studi pilota suggeriscono che il trattamento con il classico agonista di PPAR α fenofibrato si associ ad un aumento significativo dell'attività LAL in pazienti con NAFLD o con dislipidemia mista (9,46). Infine, anche l'acido obeticolico, analogo semi-sintetico degli acidi biliari in grado di attivare i recettori FXR (*farnesoid X receptors*), è in fase 3 di sperimentazione per il trattamento di pazienti con NASH (NCT02548351, 47).

Conclusioni e prospettive future

Ad oggi non esiste una linea guida per il trattamento del deficit genetico di LAL. È tuttavia certo che anche per il paziente affetto da CESD sono necessari una diagnosi e un approccio terapeutico precoci per rallentare la comparsa dei sintomi e la progressione della patologia (2). Per quanto concerne la forma più grave, l'approccio

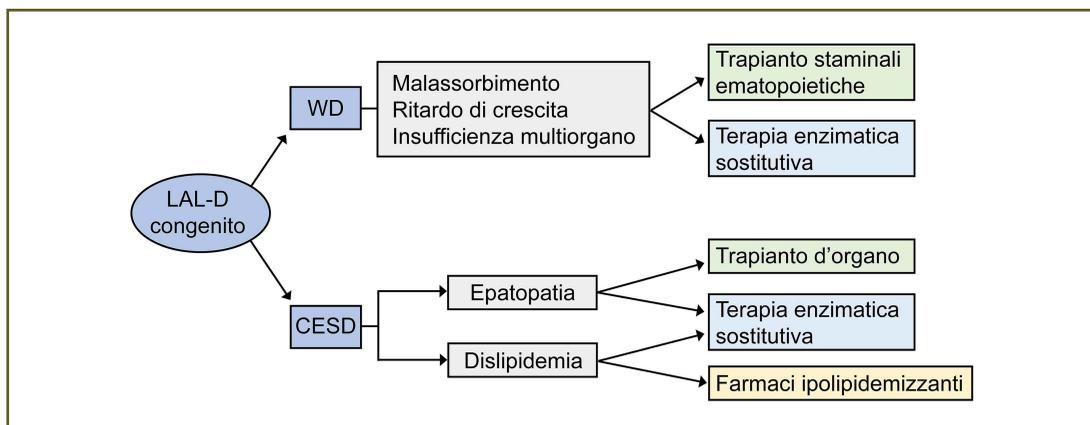


Figura 2 - Principali opzioni terapeutiche per il difetto congenito di LAL.

Nella forma più grave, Wolman Disease (WD), i neonati affetti presentano malassorbimento, ritardo di crescita e alterazione funzionale di diversi organi, che conducono al decesso per insufficienza multiorgano nei primi mesi di vita. Le opzioni terapeutiche disponibili includono la terapia enzimatica sostitutiva ed il trapianto con cellule staminali ematopoietiche. Nella forma meno severa, Cholesteryl Ester Storage Disease (CESD), i pazienti presentano steatosi microvescicolare a rapida evoluzione e dislipidemia. La dislipidemia può essere gestita con l'uso di farmaci ipolipidemizzanti. Il trapianto di fegato si rende necessario quando l'epatopatia sfocia in insufficienza d'organo. La terapia enzimatica sostitutiva permette di controllare sia la dislipidemia che l'accumulo di grasso epatico.

dietetico non migliora complessivamente la prognosi infausta ed il trapianto di cellule staminali emopoietiche è stato usato con risultati contrastanti. La terapia enzimatica sostitutiva è cruciale e ben tollerata. Tuttavia, esistono ancora delle problematiche legate sia alla variabilità interindividuale nella risposta clinica registrata negli studi di intervento, sia agli altissimi costi della terapia a lungo termine, che ne minano significativamente l'accessibilità a

livello globale (48). Da parte di alcuni autori è stato ipotizzato l'utilizzo della terapia enzimatica sostitutiva come trattamento ponte per il seguente trapianto di cellule staminali emopoietiche (2). Nel paziente CESD la terapia enzimatica sostitutiva genera miglioramenti significativi del profilo biochimico e clinico. Parallelamente è indicato il controllo delle complicanze, quali l'insufficienza surrenalica mediante la somministrazione di corticosteroidi e

Glossario

Autofagia: processo finemente regolato utilizzato dalle cellule per la degradazione di componenti cellulari non necessari o alterati. È caratterizzato dalla formazione di una vescicola a doppia membrana, l'autofagosoma, che si fonde con il lisosoma, sede della degradazione.

Cellule staminali ematopoietiche: cellule non differenziate pluripotenti da cui si originano le cellule del sangue e del sistema immunitario. In caso di difetti genetici, il trapianto da un donatore sano compatibile garantisce nel paziente ricevente la produzione di cellule del sistema ematopoietico prive dell'alterazione genica.

Endocitosi delle lipoproteine: processo di captazione cellulare delle lipoproteine circolanti mediato principalmente dai recettori della famiglia *LDL-receptor*. Il complesso lipoproteina-recettore viene internalizzato e veicolato al lisosoma per la degradazione nei componenti basilari quali aminoacidi, colesterolo non esterificato e acidi grassi.

Farmaco orfano: farmaco utilizzato per la diagnosi, la prevenzione o il trattamento di una malattia rara. La designazione di farmaco orfano da parte delle Agenzie Regolatorie consente di accedere ad incentivi economici e ad una procedura di approvazione dedicata.

Gocce lipidiche: depositi citosolici di acidi grassi e colesterolo sotto forma di lipidi neutri. Per soddisfare le necessità energetiche della cellula, le gocce lipidiche vengono idrolizzate direttamente nel citosol da lipasi neutre, oppure sono veicolate al lisosoma per attivazione del processo autofagico.

Linfoistocitosi emofagocitica: malattia rara e potenzialmente fatale ad insorgenza infantile, caratteriz-

zata dalla iperattivazione di istiociti e linfociti. Può essere congenita oppure secondaria ad altre patologie, quali il deficit di LAL.

Lisosoma: organello cellulare con funzione digestiva dei componenti macromolecolari cellulari. È formato da una membrana a doppio strato lipidico che delimita un ambiente acido contenente una serie di idrolasi quali proteasi, nucleasi, lipasi e glicosidasi. Si forma per gemmazione dall'apparato di Golgi.

Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: condizione caratterizzata dall'accumulo eccessivo di lipidi a livello epatico non causato dall'assunzione di alcool. Sotto il termine NAFLD si raccoglie uno spettro di patologie: dalla semplice steatosi, alla sua evoluzione a steatoepatite (NASH) e fibrosi. La NASH può sfociare in complicazioni quali cirrosi, carcinoma epatico e malattie cardiovascolari.

Peroxisome proliferator-activated receptors: famiglia di recettori nucleari che agisce da fattore di trascrizione per numerosi geni coinvolti nel metabolismo di lipidi e carboidrati. I recettori PPAR si distinguono in tre isoforme (α , δ e γ), caratterizzate da una differente espressione tissutale e dal diverso spettro di geni modulati. I recettori PPAR α sono il bersaglio molecolare dei fibrati, farmaci ipotrigliceridemizzanti, mentre i recettori PPAR γ sono il bersaglio molecolare dei tiazolidinedioni, farmaci ipoglicemizzanti.

Sterol regulatory element-binding proteins: famiglia di fattori di trascrizione composta da due geni (SREBF1 e SREBF2) codificanti tre diverse proteine: SREBP1a, SREBP1c e SREBP2. Regolano la trascrizione di geni coinvolti nella biosintesi e captazione di lipidi e lipoproteine.

mineralcorticoidi ed il malassorbimento con il supporto nutrizionale (2,48). Infine, è poco noto l'impatto del deficit genetico di LAL su altri organi e sistemi. Ad esempio, studi nel modello animale LAL^{-/-} hanno evidenziato alterazioni significative del sistema immunitario; in accordo, casi di linfocitopenia emofagocitica secondaria (HLH) sono stati descritti in pazienti affetti da WD (1). Saranno pertanto necessari studi approfonditi per evidenziare ulteriori alterazioni nei pazienti affetti da LAL-D per un migliore monitoraggio del paziente e del conseguente intervento terapeutico.

Per quanto riguarda il deficit acquisito di LAL nel paziente con NAFLD, sono certamente necessari ulteriori studi dedicati a rafforzare le conoscenze sulla complessa interazione tra le due condizioni. Innanzitutto, sarà necessario valutare il possibile ruolo dell'attività di LAL quale predittore della progressione della NAFLD. Inoltre, nonostante la correzione del deficit enzimatico tramite terapia sostitutiva con sebelipasi alfa permetta il miglioramento dell'epatopatia associata al deficit genetico

di LAL (35), ad oggi non esistono studi che valutino l'effetto del miglioramento della NAFLD sull'attività di LAL e viceversa. A tale proposito, è stata recentemente proposta la possibilità di utilizzare sebelipasi alfa come opzione terapeutica in pazienti con NAFLD/NASH e concomitante riduzione secondaria di LAL (49). Tuttavia, l'elevato costo della terapia enzimatica sostitutiva rappresenta un limite rilevante all'ipotesi applicativa di questa terapia in pazienti con deficit non congeniti di LAL. Inoltre, in campioni di tessuto epatico di pazienti con NAFLD è stata evidenziata una riduzione dell'attività ma non dell'espressione di LAL, a suggerire interventi mirati a rimuovere i fattori limitanti l'attività enzimatica (9). A tal riguardo, sarà interessante approfondire il ruolo del sistema PPAR, grazie alla disponibilità di numerosi agonisti sia specifici per le diverse isoforme, sia misti (50). Dato il suo ruolo centrale nel metabolismo energetico cellulare, il sistema PPAR potrebbe rappresentare il bersaglio ottimale per la gestione sia della NAFLD che del difetto acquisito di LAL.

RIASSUNTO

La lipasi acida lisosomiale (LAL) è l'enzima responsabile dell'idrolisi di esteri del colesterolo e trigliceridi, che giungono al compartimento lisosomiale in seguito all'endocitosi delle lipoproteine circolanti o dal citosol per attivazione del processo autofagico. In assenza di attività LAL (LAL-D), esteri del colesterolo e trigliceridi si accumulano nell'organismo causando gravi manifestazioni patologiche a carico soprattutto di fegato, milza e sistema ematopoietico, in presenza di una caratteristica dislipidemia mista aterogena. In letteratura sono descritte due forme congenite dovute a mutazioni a carico del gene *LIPA*: la malattia di Wolman (*Wolman disease*, WD), più severa ad esordio precoce e fulminante, e la malattia da accumulo degli esteri del colesterolo (*cholesteryl ester storage disease*, CESD), forma più moderata e tardiva. Inoltre, recentemente sono state identificate forme di LAL-D secondarie ad altre condizioni patologiche, come ad esempio nei pazienti affetti da NAFLD e da altre epatopatie in stadio avanzato. Ad oggi non esiste una linea guida per il trattamento del deficit congenito di LAL, tuttavia in entrambe le forme è essenziale una diagnosi ed un trattamento precoce; quest'ultimo è stato recentemente rivoluzionato dalla disponibilità di una proteina ricombinante umana per la terapia enzimatica sostitutiva, trattamento risultato efficace e ben tollerato. Inoltre, è di fondamentale importanza il controllo delle complicanze. Per quanto concerne l'associazione tra NAFLD e LAL-D sono necessari ulteriori studi per chiarire la relazione tra queste due entità patologiche e soprattutto l'eventuale effetto prognostico dell'attività LAL sull'evoluzione dell'epatopatia nella NAFLD.

Parole chiave: *Lipasi acida lisosomiale; trattamento; dislipidemia; steatosi.*

Questionario di auto-apprendimento

A. Nel deficit di LAL (LAL-D):

1. Si ha un accumulo intralisosomiale di esteri del colesterolo e trigliceridi esclusivamente nel fegato.
2. Si ha un accumulo intralisosomiale di esteri del colesterolo e trigliceridi in particolare in fegato, milza e sistema ematopoietico.
3. Si ha un accumulo di trigliceridi esclusivamente nel fegato.

B. Nei soggetti affetti da CESD:

1. L'attività della LAL è residua (circa 4-12%).
2. L'attività della LAL è pressoché assente (<1%).
3. L'attività della LAL è conservata.

C. La riduzione dell'attività di LAL determina:

1. Riduzione della lipogenesi.
2. Non ha effetto sulla lipogenesi.
3. Attivazione della lipogenesi.

D. Sebelipasi alfa:

1. È stato approvato dalla European Medicines Agency (EMA) per il trattamento di pazienti di tutte le età affetti da LAL-D.
2. Non ha ottenuto l'approvazione dalla European Medicines Agency (EMA) per il trattamento di pazienti di tutte le età affetti da LAL-D.
3. Non si è dimostrato efficace per il trattamento di pazienti di tutte le età affetti da LAL-D.

E. Qual è attualmente il primo approccio per la gestione del paziente con NAFLD?

1. Il trattamento farmacologico.
2. La modifica dello stile di vita, finalizzata alla correzione della sedentarietà e al controllo del peso corporeo.
3. Dieta iperlipidica e iperglicidica.

F. Nella malattia di Wolman, la comparsa delle manifestazioni cliniche avviene:

1. Dopo la nascita, spesso entro 2-4 mesi.
2. In età adulta.
3. Dall'infanzia all'età adulta.

Risposte corrette:

A2, B1, C3, D1, E2, F1

Bibliografia

1. Gomaschi M, Bonacina F, Norata GD. Lysosomal Acid Lipase: From Cellular Lipid Handler to Immunometabolic Target. *Trends Pharmacol Sci.* 2019; 40: 104-115.
2. Pericleous M, Kelly C, Wang T, *et al.* Wolman's disease and cholesteryl ester storage disorder: the phenotypic spectrum of lysosomal acid lipase deficiency. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017; 2: 670-679.
3. Fasano T, Pisciotta L, Bocchi L, *et al.* Lysosomal lipase deficiency: molecular characterization of eleven patients with Wolman or cholesteryl ester storage disease. *Mol Genet Metab.* 2012; 105: 450-456.
4. Jones SA, Valayannopoulos V, Schneider E, *et al.* Rapid progression and mortality of lysosomal acid lipase deficiency presenting in infants. *Genet Med.* 2016; 18: 452-458.
5. Bernstein DL, Hülkova H, Bialer MG, *et al.* Cholesteryl ester storage disease: review of the findings in 135 reported patients with an underdiagnosed disease. *J Hepatol.* 2013; 58: 1230-1243.
6. Burton BK, Silliman N, Marulkar S. Progression of liver disease in children and adults with lysosomal acid lipase deficiency. *Curr Med Res Opin.* 2017; 33: 1211-1214.
7. Arnaboldi L, Ossoli A, Giorgio E, *et al.* LIPA gene mutations affect the composition of lipoproteins: enrichment in ACAT-derived cholesteryl esters. *Atherosclerosis.* 2020; 297: 8-15.
8. Kohli R, Ratzu V, Fiel MI, *et al.* Initial assessment and ongoing monitoring of lysosomal acid lipase deficiency in children and adults: Consensus recommendations from an international collaborative working group. *Mol Genet Metab.* 2020; 129: 59-66.
9. Gomaschi M, Fracanzani AL, Dongiovanni P, *et al.* Lipid accumulation impairs lysosomal acid lipase activity in hepatocytes: Evidence in NAFLD patients and cell cultures. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2019; 1864: 158523.
10. Baratta F, Pastori D, Del Ben M, *et al.* Reduced Lysosomal Acid Lipase Activity in Adult Patients With Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *EBioMedicine.* 2015; 2: 750-754.
11. Tovoli F, Napoli L, Negrini G, *et al.* A Relative Deficiency of Lysosomal Acid Lipase Activity Characterizes Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2017; 18: 1134.
12. Ferri F, Mischitelli M, Tozzi G, *et al.* Reduced Lysosomal Acid Lipase Activity in Blood and Platelets Is Associated With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Transl Gastroenterol.* 2020; 11: e00116.

13. Shteyer E, Villenchik R, Mahamid M, et al. Low Serum Lysosomal Acid Lipase Activity Correlates with Advanced Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2016; 17: 312.
14. Selvakumar PKC, Kabbany MN, Lopez R, et al. Reduced lysosomal acid lipase activity - A potential role in the pathogenesis of non alcoholic fatty liver disease in pediatric patients. *Dig Liver Dis.* 2016; 48: 909-913.
15. Vespasiani-Gentilucci U, Gallo P, Piemonte F, et al. Lysosomal Acid Lipase Activity Is Reduced Both in Cryptogenic Cirrhosis and in Cirrhosis of Known Etiology. *PLoS One.* 2016; 11: e0156113.
16. Fon Tacer K, Rozman D. Nonalcoholic Fatty liver disease: focus on lipoprotein and lipid deregulation. *J Lipids.* 2011; 2011: 783976.
17. Bessone F, Razori MV, Roma MG. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. *Cell Mol Life Sci.* 2019; 76: 99-128.
18. Dubland JA, Francis GA. Lysosomal acid lipase: at the crossroads of normal and atherogenic cholesterol metabolism. *Front Cell Dev Biol.* 2015; 3: 3.
19. Wolman M, Sterk VV, Gatt S, et al. Primary Familial Xanthomatosis with involvement and calcification of the adrenals: Report of Two More Cases in Siblings of a Previously Described Infant. *Pediatrics.* 1961; 28: 742-757.
20. Crocker AC, Fisher JN, Filler RM. Nutritional Support, Including Intravenous Alimentation, for the Infant with Wolman's Disease. *Sphingolipids, Sphingolipidoses and Allied Disorders: Proceedings of the Symposium on Sphingolipidoses and Allied Disorders.* Springer. 1972: 661-670.
21. Meyers WF, Hoeg JM, Demosky SJ, et al. The use of parenteral hyperalimentation and elemental formula feeding in the treatment of Wolman disease. *Nutr Res.* 1985; 5: 423-429.
22. Krivit W, Peters C, Dusenbery K, et al. Wolman disease successfully treated by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 26: 567-570.
23. Pisciotta L, Tozzi G, Travaglini L, et al. Molecular and clinical characterization of a series of patients with childhood-onset lysosomal acid lipase deficiency. Retrospective investigations, follow-up and detection of two novel LIPA pathogenic variants. *Atherosclerosis.* 2017; 265: 124-132.
24. Chuang JC, Lopez AM, Turley SD. Quantitation of the rates of hepatic and intestinal cholesterol synthesis in lysosomal acid lipase-deficient mice before and during treatment with ezetimibe. *Biochem Pharmacol.* 2017; 135: 116-125.
25. Di Rocco M, Pisciotta L, Madeo A, et al. Long term substrate reduction therapy with ezetimibe alone or associated with statins in three adult patients with lysosomal acid lipase deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2018; 13: 24.
26. Ferry GD, Whisennand HH, Finegold MJ, et al. Liver Transplantation for Cholesteryl Ester Storage Disease. *J Ped Gastroenterol Nutr.* 1991; 12: 376-378.
27. Martínez Ibañez V, Iglesias J, Lloret J, et al. 7 years' experience with hepatic transplantation in children. *Cir Pediatr.* 1993; 6: 7-10.
28. Ambler GK, Hoare M, Brais R, et al. Orthotopic liver transplantation in an adult with cholesterol ester storage disease. *JIMD Rep.* 2013; 8: 41-46.
29. Leone L, Ippoliti PF, Antonicelli R, et al. Treatment and liver transplantation for cholesterol ester storage disease. *J Pediatr.* 1995; 127: 509-510.
30. Sheridan C. FDA approves "pharmaceutical" drug from transgenic chickens. *Nat Biotechnol.* 2016; 34: 117-119.
31. Rader DJ. Lysosomal Acid Lipase Deficiency—A New Therapy for a Genetic Lipid Disease. *N Engl J Med.* 2015; 373: 1071-1073.
32. Balwani M, Breen C, Enns GM, et al. Clinical effect and safety profile of recombinant human lysosomal acid lipase in patients with cholesteryl ester storage disease. *Hepatology.* 2013; 58: 950-957.
33. Valayannopoulos V, Malinova V, Honzík T, et al. Sebelipase alfa over 52 weeks reduces serum transaminases, liver volume and improves serum lipids in patients with lysosomal acid lipase deficiency. *J Hepatol.* 2014; 61: 1135-1142.
34. Jones SA, Rojas-Caro S, Quinn AG, et al. Survival in infants treated with sebelipase Alfa for lysosomal acid lipase deficiency: an open-label, multicenter, dose-escalation study. *Orphanet J Rare Dis.* 2017; 12: 25.
35. Burton BK, Balwani M, Feillet F, et al. A Phase 3 Trial of Sebelipase Alfa in Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *N Engl J Med.* 2015; 373: 1010-1020.
36. Wilson DP, Friedman M, Marulkar S, et al. Sebelipase alfa improves atherogenic biomarkers in adults and children with lysosomal acid lipase deficiency. *J Clin Lipidol.* 2018; 12: 604-614.
37. Jones SA, Plantaz D, Vara R, et al. Effect of sebelipase alfa on survival and liver function in infants with rapidly progressive lysosomal acid lipase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2015; 114: S59.
38. Goodman ZD, Burton B, Alaparthi L, et al. Change in liver fibrosis in children and adults with lysosomal acid lipase deficiency after 52 weeks of sebelipase alfa (ARISE Trial). *Hepatology.* 2016; 64(S1): 279A.

39. Kanuma. European Medicines Agency 2018; Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kanuma>
40. Determina 2005/2017, Kanuma, Aifa. Available from: https://www.aifa.gov.it/documents/20142/241028/Determina_2005-2017-Kanuma.pdf/f3c1cc7b-d83b-1622-5876-9fce25143fde
41. Il Fondo Nazionale AIFA (Fondo 5%). AIFA Agenzia Italiana del Farmaco. Available from: <http://www.agenziafarmaco.gov.it/content/il-fondo-nazionale-aifa-fondo-5>
42. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018; 67: 328-357.
43. Belfort R, Harrison SA, Brown K, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2006; 355: 2297-2307.
44. Cusi K, Orsak B, Bril F, et al. Long-Term Pioglitazone Treatment for Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis and Prediabetes or Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. 2016; 165: 305-315.
45. Ratziu V, Harrison SA, Francque S, et al. Elafibranor, an Agonist of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α and - δ , Induces Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis Without Fibrosis Worsening. *Gastroenterology*. 2016; 150: 1147-1159.
46. Pavanello C, Baragetti A, Branchi A, et al. Treatment with fibrates is associated with higher LAL activity in dyslipidemic patients. *Pharmacol Res*. 2019; 147: 104362.
47. Younossi ZM, Ratziu V, Loomba R, et al. Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet*. 2019; 394: 2184-2196.
48. Pastores GM, Hughes DA. Lysosomal Acid Lipase Deficiency: Therapeutic Options. *Drug Des Devel Ther*. 2020; 14: 591-601.
49. A-Kader HH. Lysosomal acid lipase deficiency: a form of non-obese fatty liver disease (NO-FLD). *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 11: 911-924.
50. Boeckmans J, Natale A, Rombaut M, et al. Anti-NASH Drug Development Hitches a Lift on PPAR Agonism. *Cells*. 2019; 9: 37.

FISIOPATOLOGIA

METABOLISMO DEL FERRO ED ATEROSCLEROSI: IMPLICAZIONI FISIOPATOLOGICHE E TERAPEUTICHE

Iron metabolism and atherosclerosis: pathophysiological and therapeutic implications

LUCIA MARCONI¹, MASSIMO R. MANNARINO¹, GIULIO GIORDANO², MATTEO PIRRO¹

¹Sezione di Medicina Interna, Angiologia e Malattie da Arteriosclerosi.

Dipartimento di Medicina. Università degli Studi di Perugia, Perugia;

²S.C. Medicina Interna, Servizio di Ematologia, Ospedale "A. Cardarelli", Campobasso

SUMMARY

The first hypotheses about the correlation between iron metabolism and the development of atherosclerosis were advanced over 25 years ago in the so-called "iron hypothesis". The authors hypothesized that a high iron level could increase cardiovascular risk by promoting atherosclerosis. To confirm this assumption, it was observed that depletion or mild iron deficiency exerted anti-atherosclerotic effects. Elemental iron can induce oxidative stress *in vivo*, thus promoting and perpetuating inflammation. Since atherosclerosis is notoriously characterized by an overactivation of oxidative and inflammatory responses, iron accumulation could, at least in part, contribute to these phenomena, thereby promoting the progression of atherosclerotic disease. However, results of studies in patients with hemochromatosis, a disorder characterized by a systemic iron overload, are in contrast with the "iron hypothesis"; in fact, these patients seem to be protected from the development of atherosclerosis. These paradoxical observations could be explained by the variable distribution of intracellular iron within the macrophages involved in the atherosclerotic process. Particularly, the variable expression of hepcidin, a key hormone regulating iron homeostasis, affects iron distribution in various cell types and the propensity to develop atherosclerosis. Modulation of hepcidin expression may represent a new therapeutic strategy aimed at regulating iron metabolism with a potential anti-atherosclerotic effect.

Key words: Iron, Atherosclerosis, Hepcidin, oxidized LDL, Macrophages.

Indirizzo per la corrispondenza

Massimo R. Mannarino, MD, PhD

Medicina Interna, Angiologia

e Malattie da Arteriosclerosi

Dipartimento di Medicina

Università di Perugia

E-mail: massimo.mannarino@unipg.it

Introduzione

Il ferro è un elemento essenziale che partecipa come gruppo prostetico in molti processi fisiologici, permettendo il normale funzionamento di proteine ed enzimi. Garantisce la funzionalità mitocondriale attra-

verso il trasporto di elettroni nella respirazione cellulare, contribuisce alla sintesi ed alla riparazione del DNA nonché ai processi di crescita e morte cellulare. Inoltre, essendo un componente fondamentale dell'emoglobina, risulta cruciale nel processo di eritropoiesi e nel trasporto tissutale dell'ossigeno. D'altra parte, partecipando a reazioni di ossido-riduzione, il ferro contribuisce alla generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) risultando potenzialmente tossico se prodotto in quantità eccessive. Viste le molteplici attività e funzioni regolate dal ferro, sono attivi numerosi sistemi finalizzati a regolarne la sua omeostasi, garantendo così livelli marziali costanti sia nel plasma che nei diversi organi.

In virtù della attività pro-ossidante e pro-infiammatoria del ferro, della sua spiccata attitudine a promuovere l'ossidazione delle LDL e la polarizzazione macrofagica verso un fenotipo pro-infiammatorio, si è ritenuto che il ferro potesse svolgere un'azione pro-aterogena. Tuttavia, il modello classico di patologia da accumulo marziale, l'emocromatosi ereditaria, non è caratterizzato da un eccesso di rischio cardiovascolare su base aterosclerotica. Pertanto, la

visione semplicistica secondo cui l'eccesso di ferro si debba sempre tradurre in un aumento del rischio aterosclerotico si è andata perfezionando nel corso degli anni; ciò in seguito al chiarimento del ruolo svolto da una serie di nuovi attori molecolari coinvolti nella regolazione del metabolismo del ferro. Tra questi ultimi, l'epcidina sembra suscitare il maggiore interesse sia sul piano fisiopatologico che per le prospettive terapeutiche che la modulazione della sua attività hanno suggerito.

Metabolismo ed omeostasi del ferro

Nella Figura 1 è riportato uno schema del bilancio delle entrate, dei depositi e delle perdite di ferro dell'organismo. I depositi di ferro in un adulto ammontano a circa 4-5 grammi, ridistribuiti nei diversi organi e tessuti. Più della metà del ferro corporeo è legata all'emoglobina contenuta nei globuli rossi, il 10% circa è legato alla mioglobina (sistema di immagazzinamento dell'ossigeno all'interno dei muscoli), agli enzimi responsabili della respirazione cellulare (citocromi mitocondriali) e ad altri enzimi coinvolti nelle reazioni di ossido-riduzione. Una minima quota di ferro circola a livello plasmatico trasportato dalla transferrina (0,3-0,4%). La restante quota è legata alla ferritina, proteina di riserva marziale all'interno della cellula, maggiormente espressa a livello epatocitario e del sistema reticolo-endoteliale epatico, midollare e splenico.

Il metabolismo del ferro è regolato da un sistema complesso ed estremamente efficiente volto a garantirne un contenuto stabile ed omogeneo nell'organismo. Ogni giorno viene perso in media circa 1 mg di ferro attraverso la desquamazione delle cellule senescenti che rivestono cute e mucosa intestinale. La quota di perdita marziale è maggiore nella donna in età fertile, dal momento che il flusso ematico mestruale

Bullet Points

- Il ferro è un importante catalizzatore di reazioni fondamentali per la normale funzionalità cellulare, nonché un agente in grado di produrre radicali liberi ed incrementare lo stress ossidativo.
- L'epcidina, un ormone chiave nel mantenimento dell'omeostasi del ferro, favorisce l'accumulo intracellulare di ferro.
- La quota di ferro intracellulare sembra intervenire sul processo di polarizzazione macrofagica promuovendo un fenotipo pro-infiammatorio e pro-aterogeno.
- L'epcidina, in quanto regolatrice dei livelli intracellulari di ferro, potrebbe rappresentare un ragionevole bersaglio per strategie terapeutiche volte a contrastare il processo aterosclerotico.

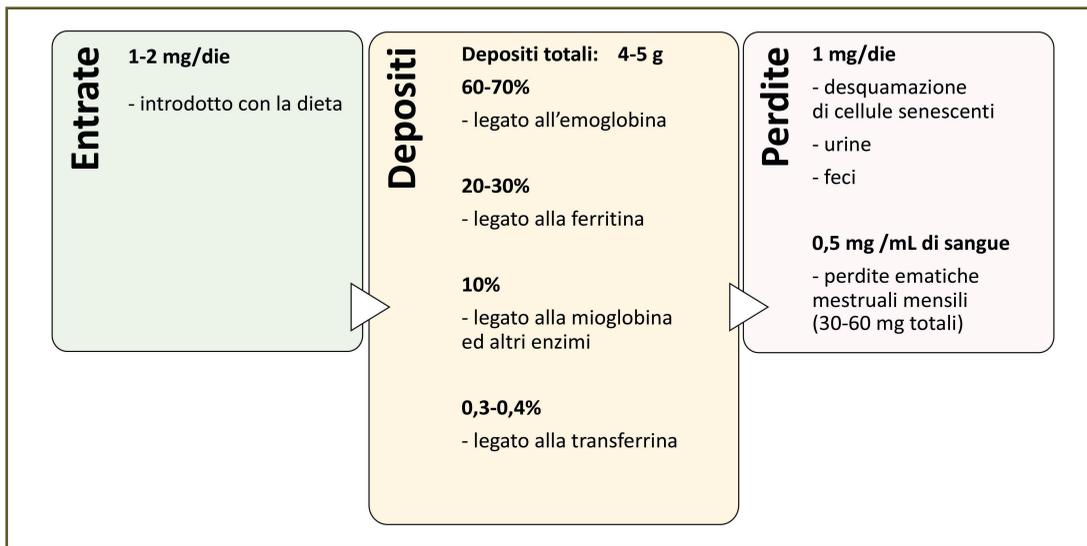


Figura I - Il bilancio del ferro.

causa mediamente una perdita aggiuntiva di circa 0,5 mg/die. I processi di perdita marziale non sono soggetti a controllo omeostatico, per cui la stretta regolazione dell'assorbimento intestinale del ferro rappresenta il meccanismo chiave per il mantenimento della quota marziale corporea.

Circa il 90% del fabbisogno corporeo di ferro origina dalla degradazione degli eritrociti senescenti e, in minor misura di altri tipi cellulari, attraverso un ricircolo mediato dal sistema reticolo-endoteliale; l'alimentazione garantisce l'introduzione di una quota inferiore di ferro, il cui assorbimento enterocitario è finemente regolato.

Assorbimento intestinale del ferro

Ogni giorno vengono assorbiti circa 2 mg di ferro a livello duodenale e dalla porzione prossimale del digiuno. Negli alimenti il ferro può trovarsi in forma di ferro eme e ferro non-eme. Quest'ultimo, per essere assorbito, deve essere prima ridotto in forma ferrosa attraverso il citocromo duodenale B (DCYTB o CYBRD1), una reductasi presente a livello della membrana apicale dell'orletto a spazzola enterocitario

(1). Il ferro in forma ridotta viene poi trasportato attraverso la membrana apicale da un trasportatore divalente (DMT1) all'interno dell'enterocita (1). La ferroportina, una proteina trans-membrana situata sul versante basolaterale dell'enterocita, garantisce il trasporto del ferro nella circolazione sistemica. Prima che ciò avvenga, il ferro viene convertito in forma ferrica per mezzo dell'efestina, ferrossidasi enterocitaria, in modo da consentirgli il legame con una proteina dedicata al suo trasporto ematico, la transferrina (1).

Uptake del ferro a livello tissutale

Il ferro circola a livello plasmatico principalmente in forma non libera, legato cioè alla transferrina.

I recettori tissutali della transferrina (TFR1) sono espressi in maniera ubiquitaria sulla superficie cellulare e garantiscono l'endocitosi del complesso ferro-transferrina (1). Il ferro viene successivamente scisso dalla transferrina attraverso il sistema di acidificazione lisosomiale mentre la transferrina ancora legata al TFR1 a livello delle vescicole viene trasportata verso la su-

perficie cellulare per essere nuovamente immessa in circolo (1). All'interno della cellula il ferro viene rilasciato nel citoplasma attraverso il DMT1 previa riduzione a ione ferroso da parte di una ferredossina transmembrana (STEAP3) (1). Il livello di espressione dei geni codificanti per le numerose proteine coinvolte nei meccanismi di trasporto e regolazione del metabolismo del ferro è controllato a livello post-trascrizionale attraverso il sistema IRE/IRP (elementi di risposta al ferro/proteine regolatrici del ferro) (1). In condizioni di ferro-carenza, le proteine regolatrici IRP 1 e 2 si legano alle sequenze IRE degli mRNA all'estremo 3' stabilizzando gli stessi, favorendo la traduzione di proteine essenziali (es. TFR1, DMT1, transferrina), col fine ultimo di promuovere l'uptake intracellulare del ferro ed il trasporto di ferro ai tessuti periferici (1). Il legame delle IRP alle sequenze IRE presenti all'estremo 5' degli mRNA codificanti ferritina e ferroportina ne impedisce la loro traduzione (1).

Ricircolo e regolazione del metabolismo del ferro

La maggior parte del ferro è contenuto all'interno degli eritrociti. Quando questi diventano senescenti vengono riconosciuti e fagocitati dai macrofagi del sistema reticolo-endoteliale (eritrofagocitosi) (1). Il ferro viene scisso dal gruppo eme e trasportato poi nel citosol attraverso il trasportatore NRAMP1 (proteina dei macrofagi associata alla resistenza naturale) presente a livello della membrana del fagolisoma (1). Il ferro può quindi legarsi alla ferritina per essere immagazzinato a livello intracellulare come riserva oppure essere riversato in circolo attraverso la ferroportina e trasportato verso altri organi e tessuti.

La regolazione omeostatica del ferro si realizza prevalentemente a livello epatico e necessita dell'azione coordinata di numero-

se proteine; tra queste, un ruolo fondamentale spetta all'epcidina ed alla ferroportina (1). Quest'ultima permette la fuoriuscita del ferro dalle cellule e la sua espressione è regolata a più livelli, trascrizione, traduzione e post-traduzione. L'mRNA codificante per la ferroportina contiene sequenze IRE all'estremità 5' e la sua trascrizione viene inibita in condizioni di carenza marziale al fine di ridurre la fuoriuscita cellulare a livello macrofagico (1). A livello enterocitario la carenza marziale agisce in maniera opposta che nei macrofagi, stabilizzando la proteina HIF-2 α che upregola la trascrizione di ferroportina a livello del dominio basolaterale (2, 3). La trascrizione della ferroportina a livello dei macrofagi è inibita da stimoli infiammatori al fine di sequestrare il ferro a livello intracellulare, meccanismo sviluppato come difesa immunitaria finalizzato a limitare la disponibilità di ferro ai microrganismi infettanti.

A livello sistemico, il meccanismo principale di regolazione dell'espressione della ferroportina coinvolge un ormone peptidico di origine epatica, l'epcidina (1).

Quest'ultima si lega alla ferroportina inducendone l'internalizzazione e la successiva ubiquitinazione. L'espressione dell'epcidina viene inibita dalla ferro-carenza, dall'ipossia e dall'eritropoiesi efficace mentre la sua sintesi è favorita da elevati livelli di ferro e dall'infiammazione, in particolar modo tramite l'azione dell'interleuchina-6 (1).

Ferro ed aterosclerosi: la cosiddetta "Iron hypothesis"

L'aterosclerosi è il risultato di una risposta infiammatoria cronica al danno endoteliale caratterizzata da una massiccia infiltrazione macrofagica secondaria all'accumulo lipidico sub-intimale (4, 5).

L'infiammazione promuove l'intrappolamento del ferro a livello intracellulare at-

traverso l'incremento della sintesi di proteine coinvolte nel trasporto transmembrana e nell'immagazzinamento dello stesso. D'altra parte, il ferro svolge un ruolo di promozione dello stato infiammatorio andando a modulare la risposta TLR-4-mediata ed attivando il fattore di trascrizione NF- κ B attraverso la produzione di radicali liberi (6). Il nesso di causalità tra ferro, aterosclerosi e malattie cardiovascolari è stato avanzato nel 1981 da Jerome Sullivan, a cui si attribuisce la cosiddetta "iron hypothesis". L'ipotesi nasce da una serie di semplici considerazioni:

- 1) l'incidenza di lesioni ateromasiche ed eventi cardiovascolari nelle donne in età fertile è minore rispetto a quella in epoca post-menopausale e rispetto a quella registrata nel sesso maschile;
- 2) l'accumulo marziale si accompagna a danno cardiaco;
- 3) la donna in età menopausale tende ad accumulare ferro (7).

Secondo lo stesso Autore, bassi livelli di ferro potrebbero essere protettivi nei confronti delle malattie cardiovascolari, per cui ha ipotizzato che la flebotomia regolare, provocando una lenta deplezione marziale, potesse essere una pratica terapeutica efficace nel ridurre il rischio cardiovascolare (7). A questa intrigante ipotesi hanno dato supporto alcuni studi nei quali si è dimostrato che maggiori depositi di ferro corporeo (intesi come livelli elevati di ferritina e più alta percentuale di saturazione della transferrina) si associavano ad un'incidenza maggiore di infarti acuti del miocardio (8, 9). Una serie di studi successivi, però, ha permesso di chiarire che la relazione tra ferro ed aterosclerosi appare più complessa di quanto inizialmente ipotizzato da Sullivan. Alcuni studi, infatti, hanno mostrato la non linearità della correlazione tra livelli di ferro corporeo ed aterosclerosi (10-13).

Il ferro è in grado di generare stress ossidativo e, di conseguenza, promuovere uno stato pro-infiammatorio. Partecipa alle reazioni di ossido-riduzione grazie alla sua capacità di trasferire elettroni nel passaggio dallo stato ferroso (Fe^{2+}), in cui è in grado di donare elettroni, allo stato ferrico (Fe^{3+}), in cui è in grado di accettare elettroni (14). Questo tipo di reazione (reazione di Fenton), svolta in condizioni di metabolismo aerobio, catalizza la formazione di ROS come il radicale ossidrilico $\bullet OH$. I ROS sono molecole in grado di indurre modifiche strutturali a carico di lipidi, proteine ed acidi nucleici, andando ad alterarne la funzione, interferendo con la proliferazione ed il turnover cellulare, generando disfunzione endoteliale ed alterazioni della risposta immunitaria (14). L'ossidazione delle lipoproteine, in particolar modo delle LDL, è uno degli eventi cardine associato all'azione pro-ossidante del ferro oltre che costituire un importante fattore di danno aterosclerotico (15). Numerosi studi *in vitro* hanno infatti potuto confermare che tra i vari agenti pro-ossidanti testati, il ferro sia uno dei maggiori elementi attivi nell'ossidazione delle LDL (16).

Nella *Figura 2* sono schematizzati gli effetti del sovraccarico di ferro sui principali elementi coinvolti nel processo aterosclerotico. Partendo dalla considerazione che le reazioni ossido-riduttive sarebbero facilitate a livello intra-lisosomiale (17) e che le vescicole lisosomiali sono strutture fondamentali alla funzione di cellule come monociti e macrofagi (elementi cellulari determinanti nel processo ateromasico), si è pensato che il modello proposto da Sullivan (sovraccarico corporeo del ferro = danno cardiovascolare) fosse troppo semplicistico. Si è passati quindi ad un modello di correlazione tra ferro ed aterosclerosi più complesso, dove prende sempre più campo l'ipotesi secondo cui sono i livelli intra-

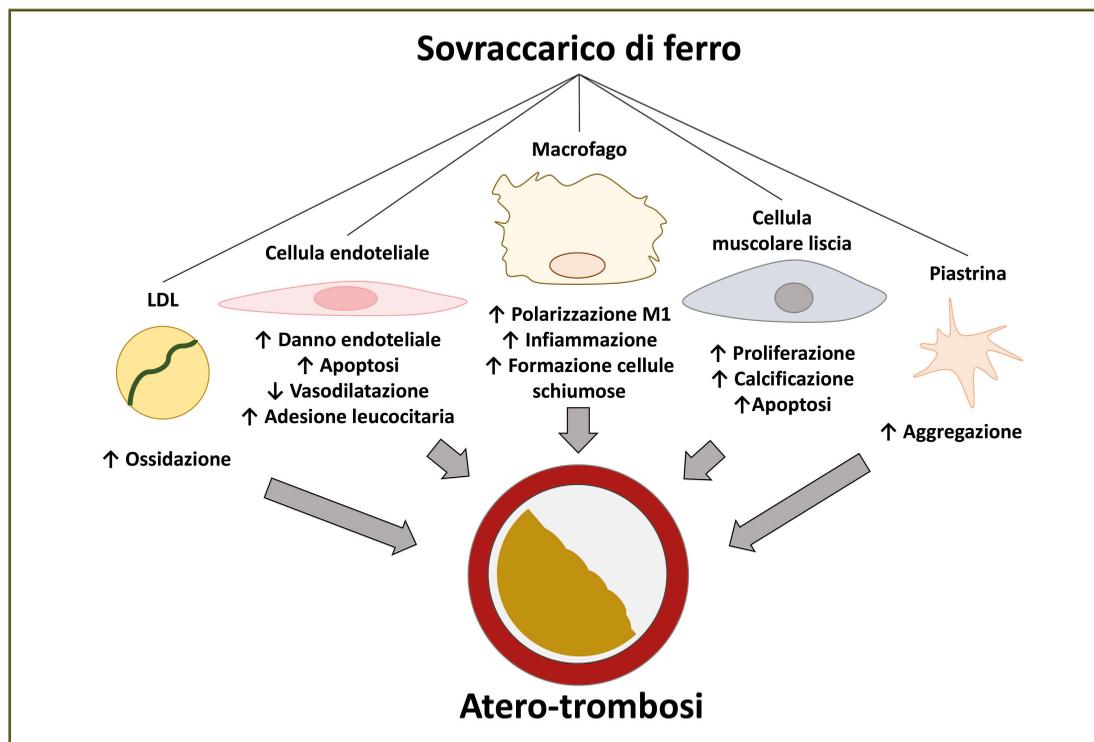


Figura 2 - Effetti del sovraccarico di ferro sui principali elementi coinvolti nel processo aterosclerotico.

cellulari di ferro e la modulazione differenziale del metabolismo del ferro in diversi tipi cellulari della parete arteriosa che potrebbero spiegare la diversa suscettibilità a sviluppare la malattia aterosclerotica.

Polarizzazione macrofagica e ferro intracellulare

L'aterosclerosi, in quanto patologia infiammatoria cronica fibroproliferativa, vede coinvolte nel suo processo sia l'immunità innata che quella adattativa (18). I macrofagi, derivanti dalla differenziazione dei monociti, sono le principali cellule effettrici della risposta immunitaria innata. La differenziazione macrofagica si accompagna ad un processo di trasformazione noto come "polarizzazione" macrofagica. Si riconoscono due fenotipi macrofagici principali caratterizzati da un diverso spettro di attività: M1

o macrofagi attivati classicamente, M2 o macrofagi attivati alternativamente. Entrambe le tipologie sono state riscontrate a livello della placca ateromasica (19). I macrofagi M1 anche detti "a fenotipo infiammatorio" sono attivati in presenza di $\text{IFN-}\gamma$ e da molecole di natura batterica come il lipopolisaccaride (LPS). Questi esprimono recettori scavenger a livello della loro superficie di membrana mediante i quali riconoscono le LDL ossidate e mediano la loro internalizzazione. L'accumulo intracellulare di LDL ossidate porta alla progressiva trasformazione del macrofago in cellula schiumosa (14). I macrofagi M1 attivati producono citochine infiammatorie e fattori di crescita in grado di promuovere il reclutamento di altri monociti dal torrente ematico e la proliferazione delle cellule muscolari lisce della tonaca media e la loro migrazione intimale (20). Il ruolo dei macrofagi M1 a livel-

lo della placca ateromasica non sembra limitarsi alla formazione e all'accrescimento della stessa, bensì questi sembrerebbero essere anche i principali responsabili dell'instabilità di placca attraverso la produzione di enzimi litici come le metalloproteasi di matrice (MMP-1, MMP-3, MMP-9) che, rilasciate a livello extracellulare, mediano l'idrolisi delle fibre di collagene del cappuccio fibroso della placca (20).

Il ruolo dei macrofagi M2 nel processo di aterogenesi è più controverso. La polarizzazione dei macrofagi verso il fenotipo M2 è stimolata da citochine prodotte da linfociti Th2 e mastociti, quali IL-1- β , IL-4, IL-10 e IL-13. Questi macrofagi promuovrebbero la fibrosi della placca attraverso il

reclutamento di fibroblasti tissutali al fine di garantire la stabilizzazione della stessa (21); inoltre, non possiedono recettori scavenger in grado di internalizzare le LDL ossidate. Si è dimostrato però che questo fenotipo macrofagico è in grado di produrre, come gli M1, metalloproteasi che intervengono nel rimodellamento della placca.

Per quanto riguarda la loro relazione con il ferro, il fenotipo macrofagico M1 è in grado di accumulare ferro intracellulare in relazione alla bassa espressione di ferroportina (*Figura 3*); in questa tipologia di macrofagi è comune osservare un basso turnover del ferro per la scarsa espressione dell'eme-ossigenasi 1 (HOX1) e gli elevati livelli di ferritina. Al contrario i macro-

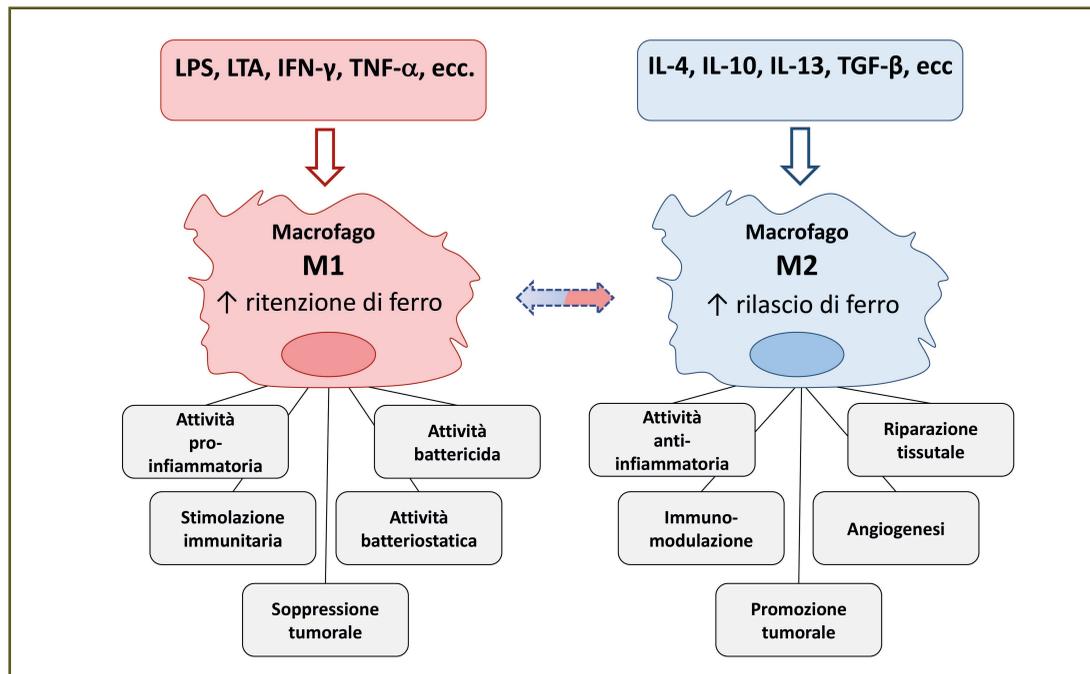


Figura 3 - Polarizzazione macrofagica e metabolismo del ferro. I macrofagi M1, anche detti “a fenotipo infiammatorio”, sono attivati in presenza di interferone- γ (IFN- γ) e da molecole di natura batterica come il lipopolisaccaride (LPS) e l'acido lipoteicoico (LTA). La polarizzazione dei macrofagi verso il fenotipo M2 è favorita da stimoli quali TGF- β , IL-4, IL-10 e IL-13. L'elevato contenuto di ferro a livello intracellulare nei macrofagi M1 sembrerebbe perpetuare l'attivazione macrofagica e la produzione di citochine infiammatorie. I macrofagi M2, distinguibili in diversi sottotipi, sono invece caratterizzati da più bassi livelli intracellulari di ferro, produzione di citochine anti-infiammatorie e immuno-modulanti e dalla capacità di produrre fattori coinvolti nella neoangiogenesi.

fagi M2 hanno un basso contenuto marziale intracellulare (22) (*Figura 3*).

Il ferro a livello macrofagico eserciterebbe un doppio ruolo: la sua capacità di produrre radicali liberi promuoverebbe uno stato pro-infiammatorio che polarizza la differenziazione macrofagica verso un fenotipo M1; a sua volta, l'elevato contenuto di ferro a livello intracellulare sembrerebbe perpetuare l'attivazione macrofagica e la produzione di citochine infiammatorie, andando così ad alimentare il processo infiammatorio a livello di placca. A livello intracellulare il ferro si trova principalmente in forma di deposito legato alla ferritina. Esiste una frazione di ferro libera a livello del citosol, la cosiddetta riserva di ferro labile (labile iron pool o LIP), in grado di catalizzare reazioni ossido-riduttive intracellulari e stimolare l'attivazione della cascata infiammatoria (23).

Esiste un ulteriore fenotipo macrofagico, M(Hb), che sembra essere coinvolto nel processo aterogenico. I macrofagi M(Hb) sono stati associati alla progressione ed all'instabilità di placca. Il loro nome deriva dal fatto che sono coinvolti nella clearance dell'emoglobina rilasciata durante la lisi eritrocitaria, fenomeno che può realizzarsi anche all'interno della lesione ateromasica a seguito di emorragie intra-placca (24). Il loro fenotipo si avvicina molto a quello dei macrofagi M2 e si caratterizza infatti da più bassi livelli intracellulari di ferro e, soprattutto, valori molto bassi di LIP. I macrofagi M(Hb) sono associati all'espressione di alti livelli di HIF-1 α and VEGF-A, fattori coinvolti nella neoangiogenesi (25). Il legame tra ferro, macrofagi M(Hb) e progressione di placca sembra risiedere nella interazione tra ferro stesso e l'enzima prolidrossilasi (PHD o HIF prolidrossilasi). In condizioni di normossemia o iperossemia si ha l'idrossilazione di HIF-1 α da parte delle prolidrossilasi; la

forma di HIF-1 α idrossilata viene riconosciuta dalla proteina di Von Hippel-Lindau (VHL), proteina con funzione di oncosoppressore, che ne media l'ubiquitinizzazione impedendo così i processi di neoangiogenesi. Il ferro è un cofattore essenziale all'attività delle prolidrossilasi. I più bassi livelli intracellulari di ferro nei macrofagi M(Hb), fenotipo macrofagico maggiormente rappresentato in corso emorragia intra-placca, ridurrebbero l'attività delle prolidrossilasi portando a una maggiore espressione di HIF-1 α ; a ciò conseguirebbe una maggiore trascrizione di fattori che promuovono l'angiogenesi, quest'ultima caratteristica delle fasi più avanzate dell'aterosclerosi (25). Ciò comporta anche una maggiore espressione della proteina HIF-2 α che upregola non solo la trascrizione di ferroportina, ma anche di eritropoietina che, come noto, ha anche un'azione pro-angiogenetica (3).

Alterazioni congenite del metabolismo del ferro

Gli studi condotti nell'ambito delle alterazioni congenite del metabolismo del ferro sono stati di fondamentale importanza per meglio comprendere il legame tra ferro ed aterosclerosi. Le ricerche condotte su pazienti affetti da emocromatosi ereditaria sono state le prime a mettere in discussione la relazione tra sovraccarico di ferro e l'aterosclerosi. In questa patologia multiorganica, le mutazioni del gene *hfe* (high Fe²⁺ gene) provocano un sovraccarico corporeo di ferro per via dell'eccessivo assorbimento intestinale dello stesso (26). L'accumulo marziale si realizza in vari tessuti, in particolare modo fegato, pancreas, cuore, ipofisi e gonadi. Varianti geniche di emocromatosi sono state associate ad una ridotta trascrizione del gene *hamp* (hepcidin antimicrobial protein) codificante per l'epcidina; a ciò consegue una maggiore espressione di

ferroportina a livello delle membrane degli enterociti ed un aumento dell'assorbimento del ferro in transito nel lume intestinale. Il paradosso che viene a generarsi nei soggetti affetti da emocromatosi ereditaria è che, nonostante l'accumulo marziale corporeo sostenuto dall'eccessivo assorbimento intestinale di ferro ed il conseguente aumento dello stress ossidativo sistemico, questi pazienti non risulterebbero a più alto rischio di sviluppo di placche aterosclerotiche rispetto alla popolazione generale. Addirittura, sembra che questi pazienti siano protetti dal rischio aterosclerotico e cardiovascolare (27). In effetti, i bassi livelli di epcidina nei pazienti con emocromatosi ereditaria oltre che all'incremento dell'assorbimento intestinale del ferro si associano anche ad un ridotto contenuto di ferro intracellulare macrofagico. I monociti ed i macrofagi tissutali isolati da questa categoria di pazienti hanno una ridotta capacità di sintesi di citochine infiammatorie e chemochine (ridotti livelli di espressione di IL-6 e MCP-1) (28). Risultati simili sono stati riscontrati anche in pazienti eterozigoti per le mutazioni del gene *hfe* (14).

Studi di randomizzazione mendeliana hanno confermato il ruolo esercitato dalla programmazione genica nella regolazione del rapporto tra metabolismo del ferro e rischio aterosclerotico. In questi studi in cui è stata esaminata la relazione tra polimorfismi di singoli nucleotidi a carico dei geni coinvolti nel metabolismo del ferro e la prevalenza della malattia coronarica si è visto che esiste una associazione non lineare tra il contenuto marziale corporeo e lo sviluppo di malattie cardiovascolari (29, 30).

Ruolo dell'epcidina e possibili implicazioni terapeutiche

L'epcidina, un ormone di natura peptidica prodotto a livello epatico, svolge un ruolo

cardine della regolazione dell'omeostasi sistemica del ferro. Questo peptide di 25 aminoacidi è stato identificato per la prima volta negli anni 2000 a livello plasmatico e nelle urine. Inizialmente si è ritenuto che l'epcidina fosse coinvolta nella difesa immunitaria e svolgesse attività antimicrobica, da ciò il nome (ep - perché prodotta a livello epatico, - cidina per l'attività battericida) (31, 32). Nel 2004 si è visto che l'epcidina era in grado di regolare i livelli sistemici del ferro andando a modularne l'assorbimento intestinale ed i livelli intracellulari; tali azioni sono state attribuite alla sua capacità di legare la ferroportina e favorirne l'internalizzazione e la sua successiva degradazione (33).

L'espressione del gene codificante per l'epcidina (gene *hamp*) è indotta da stimoli infiammatori, in particolar modo dalle citochine infiammatorie IL-6 e IL-1 β attraverso la via delle chinasi intracellulari JAK/STAT3, dall'aumentata richiesta eritropoietica e dagli alti livelli di ferro attraverso la via di segnalazione mediata dalle BMP/SMAD (proteine morfogenetiche dell'osso/ small mother against decapentaplegic) (34, 35).

Alterazioni dei sofisticati sistemi di regolazione dell'espressione dell'epcidina sono associati a diversi disordini sistemici, da quelli associati all'eccesso di ferro come l'emocromatosi ereditaria a patologie come l'anemia e altri disturbi di natura infiammatoria accomunati da uno squilibrio generale dell'omeostasi marziale (36).

Il ruolo che l'epcidina potrebbe svolgere nell'ambito della promozione del processo aterosclerotico e della sua progressione si estrinseca proprio nella stretta correlazione tra questa proteina e il processo infiammatorio (tanto che lo stesso rappresenta uno stimolo della sua sintesi) e nella capacità dell'epcidina di incrementare i livelli intracellulari di ferro, soprattutto a livello macrofagico (37) (*Figura 4*).

Elevati livelli di questo ormone sono stati riscontrati in diverse patologie accomunate tutte da un incrementato livello di rischio cardiovascolare. Tra queste l'artrite reumatoide, la steatoepatite non alcolica, lo scompenso cardiaco, l'insufficienza renale cronica, il diabete mellito (38-41). È stato dimostrato che livelli elevati di epcidina si associano alla presenza di lesioni aterosclerotiche nei vasi distretti vascolari, in particolare con l'ateromasia carotidea, le calcificazioni coronariche e la stiffness arteriosa; è stata documentata una associazione positiva tra epcidina e la maggiore incidenza di eventi cardiovascolari (42).

In studi condotti su topi knock-out per il gene *hamp*, bassi livelli di epcidina e di conseguenza minori livelli intracellulari di ferro, si sono dimostrati correlare con una più bassa prevalenza di aterosclerosi, una attenuazione dello stato infiammatorio sistemico ed una ridotta attivazione macrofagica (43).

La possibilità di poter modulare l'azione dell'epcidina, andando così a modulare i livelli di ferro intracellulare nelle cellule effettrici del processo infiammatorio aterosclerotico, potrebbe rappresentare una delle prospettive future nell'ambito della terapia dell'aterosclerosi (37).

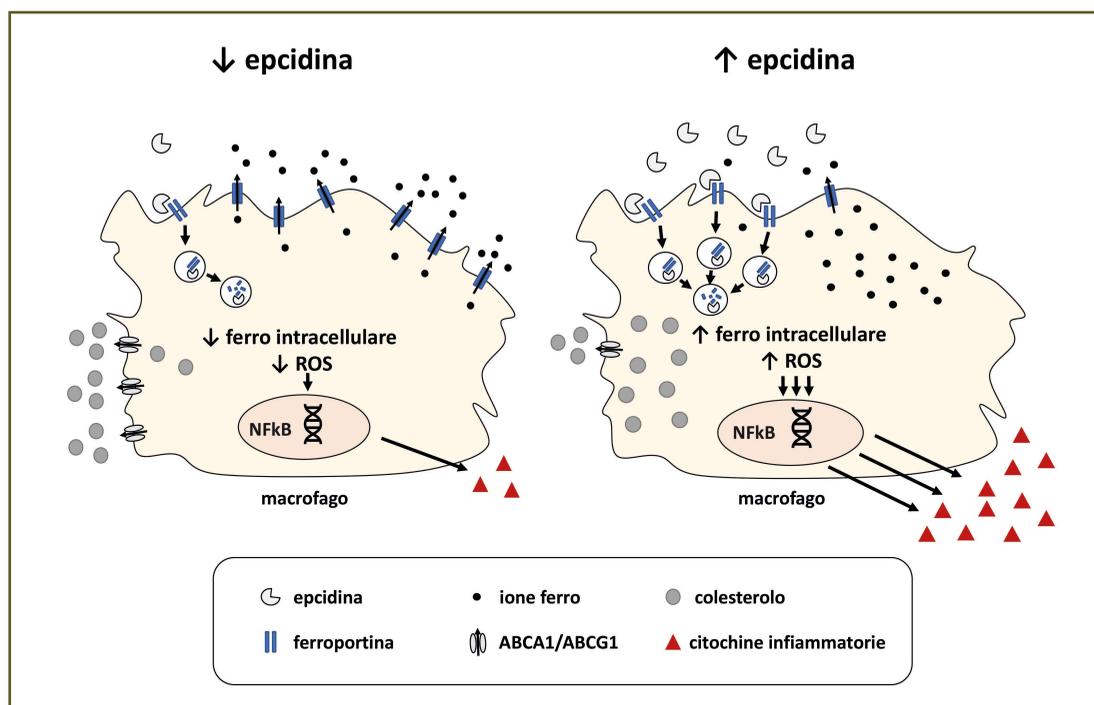


Figura 4 - Effetto dell'epcidina sul fenotipo dei macrofagi nell'aterosclerosi. L'epcidina induce la degradazione della ferroportina, inducendo l'accumulo di ferro all'interno dei macrofagi. L'eccesso di ferro intracellulare comporta un accumulo di LDL ossidate attraverso recettori *scavenger*, ad una riduzione dell'efflusso di colesterolo, ad un accumulo intracellulare di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e ad un aumento del *signaling* pro-infiammatorio, favorendo la trasformazione del macrofago in cellula schiumosa e la progressione della placca aterosclerotica. Quando i livelli di epcidina sono bassi, il ferro è efficacemente trasportato fuori dal macrofago dalla ferroportina. La riduzione della concentrazione intracellulare di ferro sopprime l'*uptake* del colesterolo, favorisce l'efflusso di colesterolo attraverso i trasportatori ABCA1 e ABCG1, riducendo il *signaling* infiammatorio e la produzione di ROS

La via di segnalazione delle BMP è il più importante meccanismo di induzione dell'espressione del gene dell'epcidina ed è direttamente influenzato dal contenuto di ferro corporeo. In studi condotti in topi knock-out per il gene dell'Apolipoproteina E, l'inibizione farmacologica del recettore per le BMP di tipo I (BMPRI) attraverso la dorsomorfina o un suo derivato di sintesi LDN-193189 ha portato ad una diminuzione del ferro intracellulare macrofagico; a ciò è conseguito un calo della produzione di ROS e citochine infiammatorie oltre che un rallentamento della progressione della malattia aterosclerotica (44). Negli stessi studi è stata osservata una netta riduzione della calcificazione della tonaca vascolare media e del contenuto in colesterolo delle cellule schiumose e dei macrofagi per effetto di un aumentato efflusso di colesterolo (47, 48).

Un ulteriore studio volto a caratterizzare gli effetti del deficit di epcidina sul processo aterosclerotico è stato condotto in modelli di topo knock-out per *LDLR* e *hamp* (*Ldlr*^{-/-}, *hamp*^{-/-}). In questi topi, l'elevata espressione della ferroportina a livello della superficie macrofagica si è associata a ridotto sviluppo di aterosclerosi, ancora una volta dimostrando come la riduzione del ferro intracellulare nei macrofagi possa rappresentare un valido meccanismo anti-aterosclerotico (45).

I risultati di alcuni studi condotti in topi knock-out per il gene dell'apolipoproteina E, portatori in eterozigosi di una mutazione del gene della ferroportina (*ApoE*^{-/-}, *FPN* WT/C326S), che ne impedisce il legame con l'epcidina e la successiva degradazione sono invece controversi. In questo modello, la maggior espressione della ferroportina e quindi la minor quota di ferro intra-macrofagico non ha protetto l'animale da esperimento dallo sviluppo e dalla progressione dell'aterosclerosi, contraddi-

ciendo i risultati ottenuti negli studi sul blocco farmacologico dell'epcidina. Una spiegazione di questa osservazione può risiedere nel fatto che nei topi con mutazione in eterozigosi della ferroportina è ri-

Glossario

- ApoE:** apolipoproteina E
- BMP/SMAD:** complesso di proteine/enzimi coinvolti nel signaling intracellulare
- BMP:** proteina morfogenica dell'osso
- DCYTB:** citocromo duodenale B
- DMT1:** trasportatore dei metalli bivalenti 1
- E-selectina:** proteina di adesione espressa sulle cellule endoteliali
- FPN:** ferroportina
- hamp*:** hepcidin antimicrobial peptide, gene codificante per l'epcidina
- hfe*:** high Fe²⁺ gene, gene codificante una proteina coinvolta nella regolazione dell'epcidina
- HIF-1:** fattore indotto dall'ipossia
- HMOX1:** eme ossigenasi 1
- ICAM-1:** molecola di adesione intercellulare 1
- JAK/STAT:** Janus Kinase/ Signal Transducer and Activator of Transcription protein, chinasi responsabili di signaling intracellulare
- LDL:** lipoproteine a bassa densità
- LDL-R:** recettore delle lipoproteine a bassa densità
- LIP:** pool labile del ferro intracellulare
- Mhaem:** macrofagi associati all'emorragia
- MMP-1-3-9:** metalloproteinasi
- NF-κB:** fattore di trascrizione nucleare
- NRAMP1:** proteina dei macrofagi associata alla resistenza naturale
- OxLDL:** lipoproteine ad alta densità ossidate
- PHD:** HIF prolil idrossilasi
- ROS:** specie reattive dell'ossigeno
- STEAP3:** metalloreduttasi
- TFR1:** recettore della transferrina tipo 1
- TIBC:** capacità totale di ferro legato con la transferrina
- TLR-4:** Toll like receptor 4
- VCAM-1:** Vascular Cell Adhesion Molecule 1, molecola di adesione vascolare
- VEGF:** fattore di crescita dell'endotelio vascolare
- VHL:** fattore di Von Hippel Lindau

scontrabile comunque una piccola quota di ferro intracellulare nei macrofagi; inoltre, rispetto ai topi LDLR knock-out, nei topi con deficit dell'Apolipoproteina E il rischio di sviluppo di ateromasia risulta più spiccato, sovrastando pertanto gli effetti della mutazione in eterozigosi del gene della ferroportina (46, 47).

Dai risultati degli studi presentati consegue che un possibile approccio terapeutico anti-aterosclerotico potrebbe prevedere l'inibizione delle funzioni dell'epcidina, al fine di promuovere la riduzione del ferro intracellulare dei macrofagi e la loro polarizzazione verso un fenotipo anti-infiammatorio ed anti-aterosclerotico. Tuttavia, anche questa modalità di intervento potrebbe presentare alcuni limiti:

- 1) bloccare l'espressione del gene dell'epcidina mediante la via delle BMP potrebbe generare alterazioni in altri sistemi e tessuti in cui queste stesse proteine sono espresse (es. tessuto osseo);
- 2) l'epcidina sembrerebbe svolgere ruoli diversi nelle diverse tappe del processo aterosclerotico, pertanto gli effetti della sua inibizione potrebbero variare in funzione del fatto che il blocco della stessa sia esercitato in una fase precoce piuttosto che avanzata della malattia.

L'inibizione dell'epcidina potrebbe risultare di maggiore utilità nelle fasi iniziali del processo aterogenetico, andando a limitare l'attivazione della cascata infiammatoria mediata da radicali liberi dell'ossigeno e dall'ossidazione delle LDL, nonché la polarizzazione macrofagica verso un fenotipo pro-infiammatorio.

Nelle fasi più avanzate invece, la deplezione del ferro intracellulare a livello dei macrofagi, in particolar modo di quelli con fenotipo M(Hb), potrebbe favorire l'attivazione del fattore HIF-1 α con aumento della produzione di fattori pro-angiogenetici (29-37).

Conclusioni

Esiste una chiara relazione tra metabolismo del ferro e sviluppo del processo aterosclerotico. La conoscenza più approfondita dei meccanismi che regolano l'omeostasi marziale ha messo in discussione la visione classica, secondo la quale il ferro favorisce l'accelerata progressione dell'aterosclerosi attraverso la perossidazione lipidica. Studi condotti su pazienti affetti da malattie da accumulo di ferro, come l'emocromatosi ereditaria, nei quali il sovraccarico di ferro si associa ad una limitata progressione dell'aterosclerosi, hanno infatti evidenziato uno scenario più complesso. I macrofagi svolgono un ruolo fondamentale nella relazione tra metabolismo del ferro e sviluppo dell'aterosclerosi. Le modificazioni del metabolismo del ferro all'interno dei macrofagi possono alterare la loro risposta infiammatoria, favorendo l'accumulo lipidico e promuovendo la progressione delle lesioni aterosclerotiche. L'epcidina, ormone chiave della regolazione dell'omeostasi del ferro, è in grado di favorire l'accumulo di ferro all'interno dei macrofagi e la loro polarizzazione in senso pro-infiammatorio all'interno della placca. L'inibizione dell'azione dell'epcidina potrebbe fornire uno strumento terapeutico al fine di modulare la risposta infiammatoria caratteristica della progressione dell'aterosclerosi. Tuttavia, non è ancora chiaro quale sia il ruolo dell'epcidina nelle fasi più avanzate dell'aterosclerosi, durante le quali potrebbe avere un effetto protettivo, legato all'inibizione della neoangiogenesi a livello della placca, favorendo la polarizzazione dei macrofagi verso la forma M(Hb), deputata alla clearance dell'eme. Una più approfondita conoscenza del ruolo dei macrofagi M(Hb) sarà necessaria per comprendere a pieno i processi di destabilizzazione e calcificazione della placca aterosclerotica.

Saranno necessarie ulteriori indagini per definire meglio il potenziale terapeutico e i possibili effetti su altri tessuti ed apparati della modulazione dell'azione

dell'epcidina, al fine di considerarne un possibile impiego nella prevenzione delle patologie cardiovascolari aterosclerotiche.

RIASSUNTO

Le prime ipotesi riguardanti la correlazione tra il metabolismo del ferro e lo sviluppo dell'aterosclerosi sono state avanzate oltre 25 anni fa nella cosiddetta "iron hypothesis". Gli Autori hanno ipotizzato che un'elevata quota di ferro corporeo potesse aumentare il rischio cardiovascolare favorendo il processo aterosclerotico. A conferma di tale ipotesi, è stato osservato che uno stato di deplezione o di lieve deficienza di ferro esercitava effetti anti-aterosclerotici. Il ferro elementare rappresenta un potente catalizzatore dello stress ossidativo *in vivo* in grado di promuovere e perpetuare lo stato infiammatorio. Poiché l'aterosclerosi è notoriamente caratterizzata da una iperattivazione dei processi ossidativi ed infiammatori, si è ritenuto che l'accumulo marziale potesse, almeno in parte, contribuire a tali fenomeni, promuovendo di conseguenza la progressione della malattia aterosclerotica. Tuttavia, studi condotti in pazienti affetti da emocromatosi, disordine caratterizzato da un sovraccarico sistemico di ferro, hanno prodotto risultati contrastanti con quanto finora suggerito; infatti, questi pazienti sembrerebbero essere protetti dallo sviluppo di placche aterosclerotiche. Il paradosso che si è venuto a generare sembra essere spiegato in certa misura dalla variabile distribuzione del ferro intracellulare all'interno dei macrofagi, una delle cellule protagoniste del processo aterogenetico. In particolare, si ritiene che la variabile espressione di epcidina, ormone principe della regolazione dell'omeostasi del ferro, giochi un ruolo determinante nella distribuzione del ferro nei diversi tipi cellulari e nella predisposizione al danno aterosclerotico. Alla luce di queste ed altre evidenze, sembra che la modulazione dell'espressione di epcidina possa rappresentare una nuova strategia terapeutica finalizzata a regolare il metabolismo del ferro in senso anti-aterosclerotico.

Parole chiave: *Ferro, Aterosclerosi, Epcidina, LDL ossidate, Macrofagi.*

Bibliografia

- Wallace DF. The Regulation of Iron Absorption and Homeostasis. *Clin Biochem Rev.* 2016; 37: 51-62.
- Shah YM, Matsubara T, Ito S, et al. Intestinal hypoxia-inducible transcription factors are essential for iron absorption following iron deficiency. *Cell Metab.* 2009; 9: 152-164.
- Taylor M, Qu A, Anderson ER, et al. Hypoxia-inducible factor-2alpha mediates the adaptive increase of intestinal ferroportin during iron deficiency in mice. *Gastroenterology.* 2011; 140: 2044-2055.
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32: 2045-2051.
- Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340: 115-126.
- Wang L, Harrington L, Trebicka E, et al. Selective modulation of TLR4-activated inflammatory responses by altered iron homeostasis in mice. *J Clin Invest.* 2009; 119: 3322-3328.
- Sullivan JL. Iron and the sex difference in heart disease risk. *Lancet.* 1981; 1: 1293-1294.
- Bagheri B, Shokrzadeh M, Mokhberi V, et al. Association between serum iron and the severity of coronary artery disease. *Int Cardiovasc Res J.* 2013; 7: 95-98.
- Salonen JT, Nyyssonen K, Korpela H, et al. High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern Finnish men. *Circulation.* 1992; 86: 803-811.
- Gill D, Del Greco MF, Walker AP, et al. The effect of Iron status on risk of coronary artery disease: a mendelian randomization study brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Bio.* 2017; 1 37: 1788-1792.
- Zacharski LR, Chow BK, Howes PS, et al. Reduction of iron stores and cardiovascular outcomes in patients with peripheral arterial disease: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2007; 297: 603-610.
- Munoz-Bravo C, Gutierrez-Bedmar M, Gomez-Aracena J, et al. Iron: protector or risk factor for

- cardiovascular disease? Still controversial. *Nutrients*. 2013; 5: 2384-2404.
13. Kim KS, Son HG, Hong NS, et al. Associations of serum ferritin and transferrin % saturation with all-cause, cancer, and cardiovascular disease mortality: Third National Health and Nutrition Examination Survey follow-up study. *J Prev Med Publ Health*. 2012; 45: 196-203.
 14. Kraml P. The Role of Iron in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Physiol Res*. 2017; 66 (Suppl. 1): S55-S67.
 15. Ehara S, Ueda M, Naruko T, et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation*. 2001; 103: 1930-1932.
 16. Fuhrman B, Oiknine J, Aviram M. Iron induces lipid peroxidation in cultured macrophages, increases their ability to oxidatively modify LDL, and affects their secretory properties. *Atherosclerosis*. 1994; 111: 65-78.
 17. Satchell L, Leake DS. Oxidation of low-density lipoprotein by iron at lysosomal pH: implications for atherosclerosis. *Biochemistry*. 2012; 51: 3767-3775.
 18. Mallat Z, Taleb S, Ait-Oufella H, et al. The role of adaptive T cell immunity in atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2009; 50 (Suppl.): S364-S369.
 19. Butcher MJ, Galkina EV. Phenotypic and functional heterogeneity of macrophages and dendritic cell subsets in the healthy and atherosclerosis-prone aorta. *Front Physiol*. 2012; 3: 44.
 20. Ley K, Miller YI, Hedrick CC. Monocyte and macrophage dynamics during atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31: 1506-1516.
 21. Medbury HJ, James V, Ngo J, et al. Differing association of macrophage subsets with atherosclerotic plaque stability. *Int Angiol*. 2013; 32: 74-84.
 22. Recalcati S, Locati M, Marini A, et al. Differential regulation of iron homeostasis during human macrophage polarized activation. *Eur J Immunol*. 2010; 40: 824-835.
 23. Yuan X, Cong Y, Hao J, et al. Regulation of LIP level and ROS formation through interaction of H-ferritin with G-CSF receptor. *J Mol Biol*. 2004; 339: 131-144.
 24. Yuan XM, Anders WL, Olsson AG, et al. Iron in human atheroma and LDL oxidation by macrophages following erythrophagocytosis. *Atherosclerosis*. 1996; 124: 61-73.
 25. Guo L, Akahori H, Harari E, et al. CD163+ macrophages promote angiogenesis and vascular permeability accompanied by inflammation in atherosclerosis. *J Clin Invest*. 2018; 128: 1106-1124.
 26. Klingler KR, Zech D, Wielckens K. Haemochromatosis: automated detection of the two point mutations in the HFE gene: Cys282Tyr and His63Asp. *Clin Chem Lab Med*. 2000; 38: 1225-1230.
 27. Sullivan JL. Do hemochromatosis mutations protect against iron-mediated atherogenesis? *Circ Cardiovasc Genet*. 2009; 2: 652-657.
 28. Valenti L, Dongiovanni P, Motta BM, et al. Serum hepcidin and macrophage iron correlate with MCP-1 release and vascular damage in patients with metabolic syndrome alterations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31: 683-690.
 29. Cornelissen A, Guo, Sakamoto A, et al. New insights into the role of iron in inflammation and atherosclerosis. *EBioMedicine*. 2019; 47: 598-606.
 30. Gill D, Del Greco MF, Walker AP, et al. The effect of Iron status on risk of coronary artery disease: a Mendelian randomization study-brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017; 37: 1788-1792.
 31. Krause A, Neitz S, Magert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett*. 2000; 480: 147-150.
 32. Park CH, Valore EV, Waring AJ, et al. Hepcidin, A urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*. 2001; 276: 7806-7810.
 33. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*. 2004; 306: 2090-2093.
 34. Wang CY, Babitt JL. Hepcidin regulation in the anemia of inflammation. *Curr Opin Hematol*. 2016; 23: 189-197.
 35. Muckenthaler MU, Rivella S, Hentze MW, et al. A red carpet for iron metabolism. *Cell*. 2017; 168: 344-361.
 36. Fleming RE, Sly WS. Hepcidin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98: 8160-8162.
 37. Wunderer F, Traeger L, Sigurslid HH, et al. The role of hepcidin and iron homeostasis in atherosclerosis. *Pharmacol Res*. 2020; 153: 104664.
 38. Lewis GD, Malhotra R, Hernandez AF, et al. Effect of oral Iron repletion on exercise capacity in patients with heart failure with reduced ejection fraction and Iron deficiency: the IRONOUT HF randomized clinical trial. *JAMA*. 2017; 317: 1958-1966.
 39. Santos-Silva A, Ribeiro S, Reis F, et al. Hepcidin in chronic kidney disease anemia. *Vitam Horm*. 2019; 110: 243-264.
 40. Zimmermann A, Zimmermann T, Schattenberg J, et al. Alterations in lipid, carbohydrate and

- iron metabolism in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and metabolic syndrome. *Eur J Intern Med.* 2011; 22: 305-310.
41. Senates E, Yilmaz Y, Colak Y, et al. Serum levels of hepcidin in patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease. *Metab Syndr Relat Disord.* 2011; 9: 287-290.
 42. Abdel-Khalek MA, El-Barbary AM, Essa SA, et al. Serum hepcidin: a direct link between anemia of inflammation and coronary artery atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2011; 38: 2153-2159.
 43. Malhotra R, Wunderer F, Barnes HJ, et al. Hepcidin deficiency protects against atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019; 39: 178-187.
 44. Saeed O, Otsuka F, Polavarapu R, et al. Pharmacological suppression of hepcidin increases macrophage cholesterol efflux and reduces foam cell formation and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32: 299-307.
 45. Yao Y, Bennett BJ, Wang X, et al. Inhibition of bone morphogenetic proteins protects against atherosclerosis and vascular calcification. *Circ Res.* 2010; 107: 485-494.
 46. Getz GS, Reardon CA. Do the Apoe^{-/-} and Ldlr^{-/-} Mice Yield the Same Insight on Atherogenesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016; 36: 1734-1741.
 47. Baitsch D, Bock HH, Engel T, et al. Apolipoprotein E induces antiinflammatory phenotype in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31: 1160-1168.

MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ**ALIMENTI, SALUTE ED AMBIENTE:
CHI DEVE FARE COSA?****Food, health and environment:
who should do what?****ANDREA POLI***NFI - Nutrition Foundation of Italy, Milano*

L'opportunità di attivare provvedimenti di natura normativa o fiscale per modificare i consumi alimentari, in un'ottica di salute pubblica ha suscitato lo scorso anno, nel nostro Paese, un confronto aspro. Dopo un dibattito piuttosto intenso, il Governo ha deciso l'introduzione della cosiddetta "sugar tax" (ora sospesa nell'ambito degli interventi di sostegno all'economia nell'era del Covid-19, ma da riattivarsi con l'anno nuovo) specificamente finalizzata (si è detto) a perseguire obiettivi di questa natura. Una scelta condivisibile?

Il tema è in realtà complesso. Stabilire entro quali limiti sia accettabile che le istituzioni intervengano direttamente per orientare i consumi alimentari del pubblico, con l'obiettivo di migliorarne lo stato di salute e di benessere futuro, o per motivi di altra natura (come la tutela dell'ambiente), e quali strumenti possano essere legittimamente impiegati a tale scopo, suscita domande cui non è facile dare una risposta conclusiva.

Indirizzo per la corrispondenza

Andrea Poli

E-mail: poli@nutrition-foundation.it

Possiamo cercare di fissare qualche concetto base.

Intervenire mediante una tassazione selettiva di specifici consumi alimentari, come le bevande zuccherate, ipotizzando che questo si tradurrà nel tempo in una minore probabilità di malattia per la popolazione implica, secondo logica, la verifica di almeno due condizioni essenziali:

- la certezza dell'esistenza di una relazione di natura *causale* tra i consumi considerati e qualche specifica patologia a larga diffusione e gravità (sanitaria e/o sociale);
- una stima favorevole degli effetti ottenibili dall'intervento ipotizzato, in termini di eventi clinici evitabili.

Questa combinazione di condizioni, favorevole all'intervento, non sembra essere attualmente verificata, ad un tentativo di valutazione "evidence based", per nessun alimento o gruppo di alimenti (incluse le bevande zuccherate), soprattutto nel nostro Paese.

Le correlazioni tra i consumi di queste bevande e gli eventi clinici (l'infarto miocardico, alcuni tumori, la mortalità totale) sono infatti di natura incerta; numerose osservazioni suggeriscono infatti che tali

consumi, se eccessivi, siano in realtà solamente o prevalentemente degli *indicatori* (o *markers*) di stili di vita e di alimentazione inappropriati, più che causa diretta di malattia (1). Lo conferma anche, indirettamente, la progressiva riduzione dei rischi relativi associati al loro consumo, passando dai dati “crudi” ad analisi multivariate che tengano conto di un numero crescente di fattori di confondimento (specie di natura culturale e sociale, come il livello di reddito e la scolarità) (2, 3). Ed è evidente che, se la situazione è effettivamente questa, la riduzione del consumo di queste bevande non sortirà *di per sé* alcun risultato favorevole sulla frequenza degli eventi clinici che si intende invece ridurre.

Considerazioni, queste, rafforzate dall'esperienza di alcuni Paesi (come Messico, Cile, Perù) nei quali la tassazione è stata seguita come prevedibile da una contrazione dei consumi, ma senza per ora poter documentare alcun effetto favorevole sull'incidenza delle patologie o dei loro fattori di rischio metabolici, come il sovrappeso (nonostante, in Messico, la tassa sia operativa dal 2014, e quindi ormai da 6 anni). Una valutazione negativa degli interventi di tassazione degli alimenti contenenti zuccheri (non delle bevande, a proposito delle quali non esistono di fatto dati analizzabili) emerge anche da una recentissima revisione Cochrane (4).

Nel nostro Paese, tra l'altro, i livelli medi di consumo di queste bevande, e più in generale degli alimenti contenenti zucchero, sono bassi, e inferiori rispetto alle medie internazionali (5): e ciò lascia supporre che ci si trovi in un tratto sostanzialmente orizzontale, o poco inclinato, della eventuale correlazione consumi-patologie; la riduzione dei consumi stessi, anche se ottenuta, non avrebbe quindi modo di influenzare in modo significativo la salute pubblica.

Recenti valutazioni di un autorevole ed

indipendente gruppo di ricerca, il Global Burden of Disease Expert Group (6, 7), suggeriscono inoltre che i favorevoli effetti di salute ottenibili mediante una riduzione dei consumi di specifici nutrienti e alimenti (con l'unica eccezione del sale) sarebbero di ampiezza limitata o limitatissima: e tra l'altro largamente soverchiati da quelli ottenibili, invece, incrementando il consumo di alimenti o nutrienti con effetti protettivi.

Il quadro generale di riferimento non sembra quindi fornire un solido supporto scientifico alla tassazione di specifici alimenti con obiettivi di salute.

La scelta della tassazione lascia inoltre immaginare che si sia abbandonata la speranza (e quindi la possibilità) di ottenere lo stesso risultato mediante interventi, invece doverosi, di educazione e di formazione del pubblico. Interventi che, tra l'altro, combinati con il controllo di altri fattori di rischio (fumo e pressione arteriosa, soprattutto), sia pure in tempi diversi dagli attuali ed in altri contesti, hanno invece ridotto sensibilmente l'incidenza di eventi cardio-cerebro-vascolari in Finlandia, negli anni '60 (progetto Nord-Karelia), o il passaggio dalla sindrome metabolica al diabete, e quindi alle sue complicanze vascolari, prevenendo la comparsa dell'obesità (8-10).

Personalmente ritengo, su un piano di principio, che l'equilibrio tra la percezione del rischio e le scelte individuali sia comunque personale, e rappresenti un ambito nel quale - con i limiti che preciserò nei prossimi paragrafi - non è lecito intervenire in modo diretto, almeno in una società che si definisca ad impronta liberale.

Il rischio di camminare in alta montagna, o di attraversare a piedi una zona desertica, e di incorrere quindi in incidenti più o meno gravi, viene evidentemente considerato accettabile da chi si cimenta in queste attività, per esempio perché ama grandemente le sensazioni che queste e-

sperienze possono dare: ma certamente induce valutazioni diverse in altre persone. Probabilmente, fintanto che il rischio che si assume con scelte personali riguarda soltanto l'interessato (e non attiva processi di dipendenza, che precludono di fatto la possibilità di riconsiderare consapevolmente le scelte stesse nel futuro, come nel caso del fumo, dell'eccesso di alcool, dell'uso di droghe) è legittimo immaginare che sia suo diritto decidere se affrontare tale rischio o meno (fatto salvo naturalmente il diritto dello Stato di addebitare al singolo il costo di eventuali operazioni di salvataggio).

Una scelta opposta (e cioè di intervento diretto delle istituzioni su questi temi) è tra l'altro carica di conseguenze teoriche forse non ben esplorate nel dibattito in corso. Secondo lo stesso principio (lo stato ti assoggetta ad una tassa per evitare che tu peggiori la tua salute) si potrebbe decidere che le persone con livelli elevati di specifici fattori di rischio (la colesterolemia, la pressione arteriosa, eccetera) potrebbero essere soggette ad interventi punitivi di carattere finanziario qualora non accettassero o non seguissero un trattamento adeguato del fattore di rischio stesso secondo le linee guida (tipo: non vuoi - o non prendi regolarmente - la statina? Paghi una tassa). Uno scenario che almeno alcuni troveranno, comprensibilmente, "da brivido".

Differente va probabilmente considerata la situazione nel caso che il comportamento individuale esponga invece altre persone (o l'ambiente, o l'ecosistema) a un rischio o a un danno potenziale.

È per esempio ragionevole ipotizzare che il consumo di carne rossa possa rappresentare l'oggetto di possibili interventi, anche di natura fiscale, qualora ne venisse accertata in modo chiaro la lesività ambientale (per esempio in termini di contributo alla deriva climatica). I rischi del depauperamento del patrimonio arboreo (e

specificamente della foresta pluviale) dovuto alla creazione di pascoli, o alla coltivazione di cereali e leguminose per l'alimentazione animale, oltre all'emissione diretta di gas serra dagli allevamenti stessi, iniziano infatti ad essere definiti e quantificati in modo accurato e affidabile dalla comunità scientifica internazionale.

In questo contesto, la mia succulenta fiorentina quindicinale al sangue, più che per il suo contributo al mio personale rischio di malattia, andrebbe probabilmente disincentivata per il possibile impatto ambientale globale che comporta, e che con le mie scelte di consumo trasferisco all'intera comunità umana (ed a tutto l'ecosistema).

Naturalmente nella piena coscienza del fatto che qualunque disincentivazione di carattere economico avrà effetti differenti nei gruppi sociali a differente reddito e potere d'acquisto, e influenzerà efficacemente i consumi solo negli strati sociali meno favoriti: introducendo così un'evidente (e forse non accettabile) sperequazione tra le persone. E che la stessa disincentivazione, se otterrà il risultato desiderato di riorientare i consumi a livello globale, inciderà sui mercati, e quindi sui prezzi, e quindi sulla vita concreta e sul benessere economico delle persone: con una penalizzazione della filiera della coltivazione e dell'allevamento, nel caso specifico della carne rossa, che andrà adeguatamente compensata per non generare un eccessivo disagio sociale.

In sintesi, si può forse concludere che i comportamenti e le scelte che influenzano rischi individuali andrebbero gestiti prevedendo soprattutto di informare il pubblico delle possibili conseguenze, nel modo più equilibrato possibile e basandosi sulle evidenze scientifiche più solide, lasciando poi all'individuo le decisioni e le scelte personali sul tema. È invece opportuno intervenire, se necessario drasticamente (lo ripeto per chiarezza), per prevenire i compor-

tamenti che inducono dipendenza e che precludono quindi di fatto, una volta attivati, qualunque ulteriore scelta consapevole e “libera” dell’individuo al proposito.

Nel caso di comportamenti che influenzano invece problemi di carattere e rilevanza generale (per esempio ambientale), l’intervento delle istituzioni appare opportuno, e forse essenziale. Ricordando che l’intervento stesso dovrebbe essere basato su una lettura equilibrata e non ideologica delle evidenze scientifiche disponibili, e prevedere per logica il reinvestimento delle eventuali entrate ottenute (per esempio dalla tassazione) con l’obiettivo di mitigare i riflessi sociali delle scelte effettuate.

Non è facile immaginare che nel nostro Paese (e forse nel mondo) il processo decisionale delle istituzioni possa realmente seguire questo iter. Non è quasi mai successo. Ma essere ottimisti sul fatto che ciò possa accadere in futuro è probabilmente doveroso.

Bibliografia

1. Sievenpiper JL, de Souza RJ. Are sugar-sweetened beverages the whole story? *Am J Clin Nutr*. 2013; 98: 261-263.
2. Collin LJ, Judd S, Safford M, Vaccarino V, Welsh JA. Association of Sugary Beverage Consumption With Mortality Risk in US Adults: A Secondary Analysis of Data From the REGARDS Study. *JAMA Netw Open*. 2019; 2 (5): e193121.
3. Malik VS, Li Y, Pan A, De Koning L, Schernhammer E, Willett WC, Hu FB. Long-Term Consumption of Sugar-Sweetened and Artificially Sweetened Beverages and Risk of Mortality in US Adults. *Circulation*. 2019; 139: 2113-2125.
4. Pfander M, Heise TL, Hilton Boon M, Pega F, Fenton C, Griebler U, et al. Taxation of unprocessed sugar or sugar-added foods for reducing their consumption and preventing obesity or other adverse health outcomes. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2020; Issue 4. Art. No.: CD012333.
5. Marangoni F, Brignoli O, Cricelli C, Poli A. Lifestyle and specific dietary habits in the Italian population: focus on sugar intake and association with anthropometric parameters - the LIZ (Liquidi e Zuccheri nella popolazione Italiana) study. *Eur J Nutr*. 2017; 56: 1685-1691.
6. GBD 2017 Diet Collaborators. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2019; 393: 1958-1972.
7. Meier T, Gräfe K, Senn F, Sur P, Stangl GI, Dawczynski C, et al. Cardiovascular mortality attributable to dietary risk factors in 51 countries in the WHO European Region from 1990 to 2016: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study. *Eur J Epidemiol* 2019; 34: 37-55.
8. Vartiainen E. The North Karelia Project: Cardiovascular disease prevention in Finland. *Glob Cardiol Sci Pract* 2018; 2018:13.
9. Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, et al. Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*. 2001; 344: 1343-1350.
10. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med*. 2002; 346: 393-403.

NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI**ACC 2020****MANUELA CASULA**

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

Nello scorso mese di marzo si è tenuto, in modalità completamente a distanza, il meeting annuale dell'American College of Cardiology (ACC). Tra gli argomenti discussi durante il congresso ricordiamo le più recenti evidenze relative alla gestione dei pazienti con scompenso cardiaco, alla prevenzione cardiovascolare dopo intervento coronarico e al controllo lipidico di soggetti ad alto rischio.

Verso una forma di prevenzione cardiovascolare "primordiale", più precoce della primaria?

Una forte predisposizione genetica alle malattie cardiovascolari (CV) può essere controbilanciata dalla bassa esposizione *lifetime* al colesterolo LDL (C-LDL) e alla pressione arteriosa sistolica (SBP). Questa nuova scoperta, emersa in uno studio naturalistico condotto su quasi mezzo milione di persone, apre potenzialmente la porta alla "prevenzione cardiovascolare primordiale", la prima forma di prevenzione pri-

maria in cui i fattori di rischio cardiovascolare vengono controllati prima che possano stabilirsi.

Va sottolineato che le traiettorie del rischio *lifetime* per le malattie CV previste da un score di rischio poligenico (PRS) non sono fisse. A parità di PRS, i partecipanti con un'esposizione *lifetime* inferiore a C-LDL e pressione avevano una traiettoria di rischio più bassa. Ciò implica che quanto previsto dal PRS può essere minimizzato abbassando LDL e pressione.

Queste osservazioni derivano da un'analisi di oltre 445.000 soggetti partecipanti alla UK Biobank. A qualsiasi livello di rischio di eventi CV maggiori (MCE) per tutta la vita, come definito dal PRS, il tasso di eventi effettivo variava di 10 volte a seconda dell'esposizione *lifetime* al C-LDL e alla SBP. Ad esempio, gli uomini nel quintile superiore di PRS con alta esposizione a

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

SBP e C-LDL avevano un rischio MCE del 93%, ma quel rischio MCE precipitava all'8% in soggetti nel quintile superiore ma con bassa esposizione a C-LDL e SBP. Ciò implica che LDL e pressione, che sono modificabili, possono essere determinanti più potenti del rischio CV *lifetime* rispetto alla predisposizione genetica.

Studio SPARCL: atorvastatina nel ridurre gli eventi vascolari totali dopo un ictus

Una nuova analisi dello studio SPARCL (*Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels*) ha dimostrato che nei pazienti con ictus o attacco ischemico transitorio (TIA) recente, il numero totale di eventi vascolari prevenuti con atorvastatina era più del doppio del numero di primi eventi prevenuti.

Lo studio ha confrontato atorvastatina con placebo in 4731 pazienti. I risultati primari dello studio, pubblicati nel 2006, avevano mostrato che atorvastatina riduceva la prima occorrenza di ictus e la prima occorrenza di un *end point* composto di eventi vascolari.

L'attuale analisi ha valutato tutti gli eventi vascolari (primi e successivi) e l'effetto di atorvastatina in base all'area vascolare (cerebrovascolare, coronarica o periferica). I risultati hanno mostrato che il gruppo placebo aveva circa 41,2 primi eventi e 62,7 eventi vascolari totali per 100 partecipanti nell'arco di 6 anni. Nel gruppo atorvastatina si sono registrati rispettivamente 164 e 390 eventi in meno (*hazard ratio* per gli eventi totali [HR] 0,68; intervallo di confidenza al 95% 0,60-0,77). La riduzione totale degli eventi includeva 177 eventi cerebrovascolari in meno, 170 eventi coronarici in meno e 43 eventi periferici in meno. Nell'arco di 6 anni, sono stati evitati 20 eventi vascolari per 100

partecipanti con il trattamento con atorvastatina.

La riduzione relativa degli eventi cerebrovascolari è stata del 24%, rispetto al 46% per gli eventi coronarici e al 44% per gli eventi periferici. I risultati mostrano un beneficio maggiore per gli eventi coronarici/periferici rispetto agli eventi cerebrovascolari, anche se i pazienti avevano sperimentato un evento cerebrovascolare e non un evento coronarico per entrare nello studio. Ciò dimostra che i pazienti che hanno avuto un ictus o TIA sono ad alto rischio di eventi coronarici e la riduzione del C-LDL è utile per la prevenzione degli eventi coronarici e periferici, nonché per la futura prevenzione degli eventi cerebrovascolari.

Evinacumab riduce C-LDL nei pazienti con ipercolesterolemia familiare omozigote

Evinacumab, il primo agente di una nuova classe di farmaci ipolipemizzanti, ha mostrato una riduzione senza precedenti del colesterolo LDL in pazienti con ipercolesterolemia familiare omozigote.

Evinacumab è un anticorpo monoclonale umano inibitore angiopoietina-like 3, una proteina del fegato che aumenta i livelli di colesterolo LDL e trigliceridi (TG). Le infusioni endovenose mensili di questo composto hanno ridotto i livelli di C-LDL in media di 135 mg/dL dal basale (riduzione media del 47%) dopo 24 settimane di trattamento in 43 pazienti con ipercolesterolemia familiare omozigote (HoFH).

Altro dato di rilievo, il nuovo agente si è dimostrato ugualmente efficace anche in circa un terzo dei pazienti con un livello residuo minimo di attività del recettore LDL, condizione nota come mutazione "null/null". Oltre alla riduzione del cole-

sterolo LDL, un altro notevole effetto di evinacumab è stato il dimezzamento dei livelli basali di TG, coerentemente con i dati precedentemente raccolti, anche se i livelli medi di TG nei pazienti arruolati rientravano nell'intervallo normale prima del trattamento. Il farmaco è stato generalmente molto ben tollerato e non ha causato eventi avversi gravi durante il breve periodo di trattamento di 24 settimane.

**Studio ODYSSEY HoFH:
efficacia di alirocumab nei pazienti
con ipercolesterolemia familiare
omozigote**

Alirocumab ha portato a una riduzione media di 63 mg/dL di colesterolo LDL nello studio ODYSSEY HoFH, il più grande studio randomizzato controllato sull'abbassamento dei lipidi negli adulti con HoFH. Ciò si è tradotto in una riduzione del 35,6% del C-LDL rispetto al placebo. Lo studio di 12 settimane, in doppio cieco, ha incluso 69 adulti con HoFH randomizzati 2:1 all'inibitore PCSK9 dosato a 150 mg ogni 2 settimane o placebo, in concomitanza a una terapia ipolipemizzante intensiva. I pazienti avevano un C-LDL basale così alto (in media, vicino a 300 mg/dL) che il livello residuo dopo l'aggiunta dell'inibitore PCSK9 li confermava ben al di sopra degli obiettivi terapeutici. Tuttavia, la riduzione di 63 mg/dL di C-LDL è clinicamente significativa in pazienti con questa condizione grave e molto difficile da trattare. Dei pazienti trattati con alirocumab, il 57% ha avuto almeno una riduzione del 30% di C-LDL a 12 settimane e il 27% ha avuto una riduzione del 50% o più.

Alirocumab ha mostrato effetti benefici anche su altri fattori aterogeni: una riduzione del 20% circa rispetto al basale della lipoproteina(a), una riduzione del 23% del-

l'apolipoproteina B e una riduzione del 25% del colesterolo non HDL.

**Studio ISCHEMIA:
sola terapia medica ottimale
o approccio invasivo?**

Nel trial ISCHEMIA, una strategia iniziale di gestione invasiva nei pazienti con cardiopatia ischemica da moderata a grave non ha prodotto esiti clinici migliori rispetto alle cure conservative con farmaci su una mediana di circa 3 anni, a patto che vi sia una stretta aderenza alla terapia medica basata sulle linee guida.

I pazienti con cardiopatia ischemica stabile come quelli arruolati in ISCHEMIA e che non hanno angina grave possono essere trattati con una strategia conservativa iniziale. Tuttavia, la strategia invasiva, che allevia in modo più efficace i sintomi dell'angina (specialmente nei pazienti con episodi frequenti), è un approccio ragionevole in qualsiasi momento per il controllo dei sintomi. I pazienti con cardiopatia ischemica stabile e malattia renale cronica avanzata (CKD) hanno un rischio di evento clinico più che triplo rispetto a pazienti senza CKD, ma una strategia invasiva iniziale non sembra ridurre i tassi di evento o alleviare i sintomi di angina.

Tale valutazione è supportata da un'analisi aggregata dei pazienti ISCHEMIA e ISCHEMIA-CKD in base allo stadio della funzione renale al basale. Né la strategia invasiva iniziale né l'approccio di cura conservativa erano significativamente più efficaci in qualsiasi sottogruppo di funzione renale. Tuttavia, la probabilità che i pazienti non sviluppassero angina era maggiore con l'approccio invasivo. Ciò dipendeva fortemente dalla frequenza basale dell'angina, poiché il beneficio era maggiore in quelli con angina giornaliera o settimanale e trascurabile in quelli senza angina. Inol-

tre, la probabilità di essere liberi dall'angina con la strategia invasiva era ridotta nei soggetti con peggiore funzione renale.

Riduzione del rischio di tromboembolia venosa con gli inibitori di PCSK9

Analisi post hoc degli eventi di tromboembolia venosa (TEV) nello studio FOURIER con evolocumab, con oltre 27.500 pazienti randomizzati, e nello studio ODYSSEY OUTCOMES con alirocumab, con quasi 19.000 pazienti randomizzati, hanno mostrato che l'incidenza di eventi TEV è diminuita rispettivamente del 29% e del 33%, anche se quest'ultima differenza non raggiungeva la significatività statistica; l'analisi combinata ha stimato una riduzione significativa del 31%.

L'effetto sulla TEV ha impiegato circa un anno per manifestarsi. Durante i primi 12 mesi di FOURIER, il tasso di eventi TEV nei due bracci di trattamento era praticamente identico. A partire dai mesi 13-18, le curve degli eventi nei due bracci hanno iniziato a divergere: dal mese 13 al termine dello studio il trattamento con evolocumab si è associato a una riduzione statisticamente significativa del 46% di eventi TEV rispetto ai pazienti che hanno ricevuto placebo.

L'ipotesi che questa associazione possa essere collegata all'impatto degli inibitori del PCSK9 su Lp(a) è venuta da un'ulteriore analisi, che ha esaminato la relazione tra l'assunzione di evolocumab e la variazione dei tassi di eventi TEV rispetto al placebo, a seconda dei livelli basali delle lipoproteine.

Il trattamento con evolocumab era associato a una riduzione simile, modesta e statisticamente non significativa degli eventi TEV rispetto al placebo, indipendente dai livelli basali di C-LDL al di sotto o al di sopra della mediana.

Al contrario, quando l'analisi divideva i

pazienti in base ai livelli basali di Lp(a), inferiori o superiori alla mediana, i risultati non mostravano effetti riconoscibili sugli eventi TEV nel primo gruppo, mentre nei soggetti con livelli di Lp(a) superiori alla mediana il trattamento con evolocumab si associava a una riduzione significativa del 48% degli eventi TEV rispetto al placebo.

Studio REDUCE-IT: benefici cardiovascolari guidati dai livelli sierici dell'acido eicosapentaenoico

Una nuova analisi mostra che la riduzione degli eventi CV osservati nello studio REDUCE-IT con acido eicosapentaenoico (EPA) altamente purificato, stabile e concentrato nella forma dell'estere etilico, erano direttamente correlati ai livelli sierici di EPA durante il trattamento e non a una diminuzione dei livelli di trigliceridi, come era stato inizialmente previsto.

Lo studio REDUCE-IT su 8.179 pazienti con elevato rischio cardiovascolare, già in trattamento con statine, aveva mostrato che una dose elevata di icosapent etile (4 g al giorno) riduceva il tasso di eventi cardiovascolari del 25% su una media di 4,9 anni di follow-up. Il trattamento, approvato per pazienti con TG superiori a 500 mg/dL, si prevedeva che avrebbe portato benefici ad un'ampia popolazione a rischio principalmente abbassando i TG. Tuttavia, l'attuale analisi ha evidenziato che il principale determinante del beneficio cardiovascolare del farmaco è dovuto ai livelli di EPA raggiunti e non alla riduzione dei TG, che contribuisce per soli 2 punti percentuali.

Studio TAILOR-PCI: genotipizzazione per guidare la terapia antiplastrinica con clopidogrel

Il più grande studio condotto finora sull'utilità clinica dei test genetici per rile-

vare il genotipo di *poor metabolizer* di clopidogrel al fine di guidare la terapia antiplastrinica in pazienti sottoposti a intervento coronarico percutaneo (PCI) non ha raggiunto il suo *end point* primario di una riduzione del 50% degli eventi cardiovascolari a 1 anno. Tuttavia, lo studio TAILOR-PCI ha mostrato una riduzione del 34% di tali eventi a 1 anno, nonché una riduzione statisticamente significativa del 40% del numero totale di eventi nei pazienti in trattamento geneticamente guidato rispetto a quelli in trattamento standard. Inoltre, un'analisi post hoc ha riscontrato una significativa riduzione del 79% di eventi avversi nei primi 3 mesi di trattamento tra i pazienti che hanno ricevuto una terapia geneticamente guidata; tuttavia, non essendo un'analisi pianificata, non è possibile trarne conclusioni certe, e sono necessari ulteriori studi.

Insieme a studi precedenti che hanno mostrato che il trattamento con clopidogrel guidato dal genotipo non era inferiore al trattamento con ticagrelor/prasugrel nei pazienti STEMI (infarto miocardico con elevazione del segmento ST), questi dati supportano l'appropriatezza biologica delle terapie basate sulla valutazione genetica.

Studio VICTORIA: risultati convincenti di vericiguat nel trattamento dei pazienti con scompenso cardiaco cronico ad alto rischio

Un nuovo agente farmacologico, con un meccanismo diverso da quello di qualsiasi altro farmaco approvato per l'insufficienza cardiaca, ha dato risultati positivi in un ampio studio randomizzato, controllato con placebo. Vericiguat agisce stimolando la via ossido nitrico (NO)-guanilato ciclastasi solubile (sGC)-guanosina monofosfato ciclico (cGMP), che è alterata nello scompenso

cardiaco. Il farmaco è stato testato in una popolazione ad alto rischio, con insufficienza cardiaca e ridotta frazione di eiezione (HFrEF); tutti coloro che hanno partecipato al trial VICTORIA avevano avuto una precedente esacerbazione dell'insufficienza cardiaca, solitamente recente. L'aggiunta di vericiguat alla terapia standard (con farmaci e dispositivi) ha portato a un rischio relativo moderatamente ma significativamente inferiore per l'*end point* clinico primario a 11 mesi circa: riduzione del 10% del rischio aggiustato ($p=0,019$) per morte cardiovascolare o primo ricovero per insufficienza cardiaca rispetto a placebo. Va ricordato che si tratta di pazienti con elevato grado di morbilità e mortalità: il tasso di eventi dell'*end point* primario del gruppo di controllo era 37,8 per 100 anni-paziente, 4,2 punti in più rispetto al tasso registrato in coloro che hanno ricevuto vericiguat, con un NNT di 24 per prevenire un evento.

Studio COMPASS: beneficio assoluto maggiore per rivaroxaban nel diabete

Nello studio COMPASS su pazienti con malattia coronarica o arteriosa periferica (PAD) stabile, la combinazione di aspirina più rivaroxaban a bassa dose ha fornito un beneficio assoluto maggiore sugli *end point* cardiovascolari - inclusa la riduzione di mortalità per tutte le cause - nei pazienti con diabete rispetto alla popolazione complessiva.

I primi risultati dello studio COMPASS nel 2017 avevano mostrato che una dose bassa di rivaroxaban (2,5 mg due volte al giorno) più aspirina, 100 mg una volta al giorno, era associata a una riduzione degli eventi ischemici e della mortalità con beneficio clinico netto superiore alla sola aspirina, bilanciando il rischio di sanguinamento grave, nella prevenzione secondaria

nei pazienti con malattia vascolare aterosclerotica stabile. Tuttavia, i medici hanno mostrato una certa inerzia nell'introdurre rivaroxaban in questa ampia popolazione.

Lo studio ha randomizzato in totale 18.278 pazienti, di cui 6.922 diabetici. I risultati dell'analisi corrente mostrano una riduzione del rischio relativo coerente e simile in pazienti con e senza diabete dell'*end point* primario di efficacia (composto di morte cardiovascolare, infarto del miocardio (IM) e ictus) con un HR di 0,74 nei pazienti con diabete e 0,77 in quelli senza diabete. A causa del rischio basale più elevato nel sottogruppo del diabete, questi pazienti presentavano una riduzione del rischio assoluto numericamente maggiore per l'*end point* primario di efficacia a 3 anni (2,3% vs 1,4%) e per la mortalità per tutte le cause (1,9% vs 0,6%). Questi risultati si traducono in un *number needed to treat* (NNT) con rivaroxaban a 3 anni di 44 nei diabetici in confronto a 73 nei non diabetici; l'NNT per prevenire una morte per qualsiasi causa era di 54 nel gruppo diabete rispetto a 167 nei non diabetici. Poiché il rischio di sanguinamento era simile nei 2 gruppi, il beneficio clinico netto assoluto per rivaroxaban è risultato "particolarmente favorevole" nel gruppo con diabete.

**Studio VOYAGER PAD:
rivascolarizzazione per arteriopatia
periferica, prevenzione migliore
di eventi ischemici se all'aspirina
si associa rivaroxaban**

Un regime antitrombotico combinato di rivaroxaban più aspirina si è dimostrato sicuro ed efficace per ridurre gli eventi ischemici in pazienti con arteriopatia periferica sintomatica che avevano appena subito una rivascolarizzazione dell'arteria periferica nel trial VOYAGER PAD, uno studio multicentrico randomizzato con circa 6.600

pazienti. Tra i pazienti trattati, in coloro che hanno ricevuto una combinazione di 2,5 mg di rivaroxaban due volte al giorno più 100 mg di aspirina al giorno, gli eventi emorragici sono stati più comuni rispetto ai pazienti di controllo che hanno ricevuto solo aspirina. Ma i pazienti che hanno ricevuto entrambi i farmaci non hanno mostrato eccesso di sanguinamenti fatali o emorragie intracraniche e il tasso di eventi ischemici prevenuti da rivaroxaban più aspirina ha superato il tasso di eccesso di sanguinamenti da tre a sei volte, a seconda della definizione di sanguinamento.

Il trattamento ha dimostrato un beneficio in un'ampia gamma di gravità dei sintomi, dalla *claudicatio* all'ischemia critica degli arti, e i risultati estendono la tipologia di pazienti che hanno dimostrato beneficio dalla combinazione rivaroxaban più aspirina rispetto ai pazienti con arteriopatia periferica (PAD) arruolati nel trial COMPASS. L'*end point* primario dello studio - un composto di ischemia acuta degli arti, amputazione maggiore per cause vascolari, infarto del miocardio, ictus ischemico o morte per cause CV - è stato ridotto in un follow-up mediano di 28 mesi dal 19,9% con aspirina da sola a 17,3% col regime combinato, una differenza assoluta del 2,6% e una riduzione relativa del 15%, statisticamente significativa; l'*end point* era principalmente guidato dalla riduzione dell'ischemia acuta degli arti.

**Studio TWILIGHT-COMPLEX:
meno eventi clinici avversi
post-intervento coronarico
percutaneo con solo ticagrelor
vs trattamento standard**

I pazienti sottoposti a PCI complesso per sindrome coronarica acuta seguito da doppia terapia antiplastrinica (DAPT) con ticagrelor più aspirina hanno ottenuto ri-

sultati significativamente migliori interrompendo a 3 mesi l'aspirina e proseguendo la monoterapia a lungo termine con ticagrelor rispetto alla continuazione del doppio regime antiplastrinico. Il tasso di sanguinamento clinicamente rilevante era significativamente più basso a 12 mesi di follow-up nel gruppo in monoterapia con ticagrelor rispetto a quello nei pazienti randomizzati a DAPT. Inoltre, questo importante vantaggio non ha avuto costi in termini di eventi ischemici, che erano in realtà numericamente meno frequenti nel gruppo in ticagrelor più placebo. Lo studio TWILIGHT-COMPLEX è un'analisi post hoc secondaria degli *outcome* in 2.342 partecipanti allo studio randomizzato TWILIGHT. Questo trial ha incluso 7119 pazienti, in 11 paesi, sottoposti a PCI per sindrome coronarica acuta, che hanno completato con successo 3 mesi di DAPT con ticagrelor più aspirina senza eventi, e sono stati quindi randomizzati in doppio cieco a 12 mesi di ticagrelor più placebo o altri 12 mesi di ticagrelor e aspirina. Nello studio TWILIGHT, il solo ticagrelor ha comportato un tasso di sanguinamento clinicamente rilevante significativamente inferiore rispetto a ticagrelor a lungo termine più aspirina, senza aumento del rischio di morte, infarto miocardico o ictus. Tuttavia, i risultati hanno lasciato in dubbio molti cardiologi interventisti

circa la possibilità che una strategia di monoterapia con ticagrelor fosse davvero applicabile ai pazienti sottoposti a PCI complesso, dato che il rischio di eventi ischemici aumenta con la complessità dell'intervento.

Per essere idonei a TWILIGHT-COMPLEX, i pazienti dovevano soddisfare uno o più criteri angiografici o procedurali prespecificati per PCI complesso, come una lunghezza totale dello *stent* superiore a 60 mm, tre o più lesioni trattate, l'uso di un dispositivo aterectomico oppure PCI di una lesione principale sinistra, per un'occlusione totale cronica o per una lesione della biforcazione con due *stent*. Questi pazienti rappresentavano un terzo della popolazione totale dello studio in TWILIGHT. Nei 12 mesi successivi alla randomizzazione, i pazienti che hanno ricevuto ticagrelor più placebo hanno avuto un'incidenza del 4,2% di sanguinamento clinicamente rilevante, significativamente inferiore alla percentuale del 7,7% nel gruppo con DAPT a lungo termine, con una riduzione del rischio relativo del 46%. L'*end point* composito comprendente morte cardiovascolare, infarto miocardico o ictus ischemico si è verificato nel 3,6% del gruppo in monoterapia con ticagrelor e nel 4,8% dei pazienti con DAPT a lungo termine, una differenza che non ha raggiunto la significatività statistica.

**ATEROSCLEROSI - PIANO DELL'OPERA
PUBBLICAZIONE PREVISTA MARZO 2021**

ATEROSCLEROSI

**VOLUME MONOGRAFICO DELLA SOCIETÀ ITALIANA
PER LO STUDIO DELL'ATEROSCLEROSI - SISA**

*Editori: Luigi Cattin, Renato Fellin, Enzo Manzato, Marcello Arca,
Alberico Catapano, Maurizio Averna*

PRESENTAZIONE DELL'OPERA

Marcello Arca Presidente SISA

CENNI STORICI, SVILUPPO DELLE CONOSCENZE, PROSPETTIVE FUTURE

Luigi Cattin, Renato Fellin, Enzo Manzato, Marcello Arca, Alberico Catapano, Maurizio Averna

**EPIDEMIOLOGIA DELL'ATEROSCLEROSI IN ITALIA
E NEL MONDO OCCIDENTALE NELL'ULTIMO SECOLO**

Paolo Emilio Puddu, Alessandro Menotti

**ASPETTI ANATOMO-PATOLOGICI,
CELLULARI E ULTRASTRUTTURALI DELL'ATEROSCLEROSI**

Eugenio Gaudio

INVECCHIAMENTO, LONGEVITÀ E ATEROSCLEROSI

Stefania Maggi - Marco Bertolotti

FATTORI E INDICATORI DI RISCHIO

Iperensione arteriosa - *Anna Belfiore*

Obesità - *Angelina Passaro*

Diabete - *Luigi Gentile*

Dislipidemia e Sindrome metabolica - *Alberto Zambon*

Steatosi epatica (NAFLD) - *Francesco Angelico*

Fumo e inquinamento ambientale - *Piermannuccio Mannucci*

PREVENZIONE DELL'ATEROSCLEROSI

Cenni storici e Linee Guida - *Sergio D'Addato, Luigi Cattin*

Ruolo dell'alimentazione - *Andrea Poli*

Ruolo dell'attività fisica - *Andrea Ermolao*

FATTORI GENETICI NELLO SVILUPPO DELL'ATEROSCLEROSI

Sebastiano Calandra, Stefano Bertolini

SUSCETTIBILITÀ GENETICA ALLE MALATTIE CARDIOVASCOLARI

Marcello Arca, Laura D'Erasmus

FISIOPATOLOGIA DELL'ATEROSCLEROSI

Ruolo dei lipidi - *Maurizio Averna*

Ruolo del sistema HDL - *Franco Bernini, Laura Calabresi*

Ruolo dell'immuno-flogosi - *Danilo Norata, Alberico L. Catapano*

Piastrine e aterotrombosi - *Francesco Violi*

Ruolo del microbiota intestinale - *Antonio Moschetta*

QUADRI CLINICI

Cardiopatía ischemica - *Filippo Crea*

Aterosclerosi carotidea e cerebrale - *Francesco Cipollone*

Aterosclerosi dell'aorta e delle arterie periferiche - *Matteo Pirro*

Differenze di genere nella cardiopatía ischemica - *Maria Grazia Modena*

TECNICHE DIAGNOSTICHE

Ultrasonografia doppler - *Damiano Baldassarre*

Imaging

Angiografia coronarica - *Paolo Calabrò*

Biomarkers - *Davide Noto*

Il laboratorio di biologia molecolare - *Giuliana Fortunato*

TERAPIA FARMACOLOGICA

Farmaci ipolipemizzanti - *Alberto Corsini, Alberico L. Catapano*

Farmaci antiipertensivi - *Claudio Borghi*

Farmaci antidiabetici - *Giorgio Sesti*

Farmaci antiinfiammatori - *Danilo Norata*

Farmaci anticoagulanti e antiaggreganti piastrinici

TERAPIA NON FARMACOLOGICA

Ruolo della rivascolarizzazione - *Paolo Calabrò*

Ruolo della aferesi - *Maria Grazia Zenti, Giustina De Silvestro*

**L'AMBULATORIO DELLA MEDICINA DI BASE NELLA PREVENZIONE,
DIAGNOSI E TERAPIA DELL'ATEROSCLEROSI**

Doriano Battigelli

