

SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELLA ATEROSCLEROSI (SISA)

## XXII Congresso della Sezione Siculo-Calabra

Lamezia Terme, 4 Novembre 2021

*Nel corso del Congresso Regionale della Sezione Siculo-Calabra della Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi (S.I.S.A.), che si è svolto il 4 Novembre 2021 a Lamezia Terme (CZ), sono state affrontate diverse tematiche cardio-metaboliche, ponendo particolare attenzione al trattamento dei pazienti a rischio cardiovascolare elevato. Il primo "hot topic" affrontato è stato l'aggiornamento sull'approccio farmacologico nei pazienti ipertesi, in particolare il beneficio dell'approccio farmacologico combinato rispetto alla monoterapia. Il secondo tema discusso è il ruolo dei nuovi biomarcatori circolanti di danno aterosclerotico, quali nuovi possibili target terapeutici.*

*E' stato inoltre affrontato l'aggiornamento farmacologico in campo diabetologico e, tra gli argomenti trattati, è stata posta particolare attenzione sul ruolo del doppio agonismo GLP1 e GIP.*

*In risalto anche il tema dell'approccio nutrizionale nel paziente dismetabolico, e gli effetti della dieta mediterranea e degli alimenti funzionali per ridurre il rischio cardiovascolare. Tematica centrale del congresso è stata l'approccio farmacologico ipolipemizzante con particolare risalto alle difficoltà di raggiungimento dei target terapeutici, soprattutto nei pazienti intolleranti a terapia statinica o che vanno incontro a miopatia da statina, come anche il ruolo chiave della terapia ipolipemizzante intensiva nei pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare e l'importanza dell'utilizzo degli inibitori di PCSK9 nelle fasi precoci dell'evento cardiovascolare.*

*Il Congresso ha dato largo spazio ai giovani ricercatori della sezione Siculo-Calabra, che hanno rappresentato il "cuore pulsante" del congresso. In momenti distinti della giornata, i giovani ricercatori hanno presentato i risultati scientifici del loro lavoro più recente, facendo emergere, nel corso della discussione, spunti di riflessione e stimoli di approfondimento per nuovi filoni di ricerca.*

## COMUNICAZIONI ORALI

### GESTIONE DI UN PAZIENTE CON DIAGNOSI TARDIVA DI IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE OMOZIGOTE

A. Giammanco<sup>1</sup>, R. Scicali<sup>2</sup>, C. Scrimali<sup>1</sup>, A. Di Pino<sup>2</sup>, F. Brucato<sup>1</sup>, R. Spina<sup>1</sup>, S. Piro<sup>2</sup>, D. Noto<sup>1</sup>, A.B. Cefalù<sup>1</sup>, F. Purrello<sup>2</sup>, M.R. Averna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro" (PROMISE), Università degli Studi di Palermo; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania

**Background:** L'ipercolesterolemia familiare omozigote (HoFH) è una malattia genetica rara e pericolosa per la vita caratterizzata da livelli estremamente elevati di colesterolo LDL-C e malattia cardiovascolare aterosclerotica grave e accelerata (ASCVD). In questo studio descriviamo la gestione clinica e la caratterizzazione molecolare di un soggetto con grave ipercolesterolemia.

**Metodi:** Il probando è un uomo di 50 anni con una storia familiare di malattie cardiovascolari precoci e ipercolesterolemia (entrambi i genitori e i suoi due figli). L'ipercolesterolemia grave (LDL-C 450 mg/dL) è stata documentata per la prima volta all'età di 32 anni ed è stato iniziato il trattamento con statine. All'età di 47 anni, durante un esame cardiologico di routine, un'angiografia coronarica ha rivelato una malattia coronarica stenotica diffusa ed è stato sottoposto a procedura di Bypass aorto-coronarico. I livelli di LDL-C erano 230 mg/dl durante il trattamento con statine ad alta intensità alla dose massima tollerata in combinazione con ezetimibe. L'analisi genetica dei geni candidati FH è stata effettuata tramite Next Generation Sequencing (NGS). Ulteriori opzioni terapeutiche ipolipemizzanti sono state prese in considerazione per la gestione di questo paziente.

**Risultati:** L'analisi genetica ha rivelato che il paziente era eterozigote composto di due mutazioni patogene del gene LDLR già note e classificate come difettive (c.1118G>A - p.Gly373Asp - e c.1195G>A - p.Ala399Thr). È stato eseguito uno screening a cascata e quattro membri della famiglia sono risultati portatori in eterozigosi. Prima che i dati genetici fossero disponibili, il paziente è stato trattato con alirocumab 150 mg a settimane alterne in aggiunta alla terapia ipolipemizzante standard. Una volta effettuata la diagnosi genetica di HoFH, alirocumab è stato sostituito con evolocumab 420 mg una volta al mese. Nonostante un'efficace riduzione dei livelli di LDL-C, l'obiettivo lipidico non è stato raggiunto e quindi abbiamo deciso di potenziare il trattamento ipolipemizzante aggiungendo una bassa dose di lomitapide (10 mg/die) che è stata ben tollerata e molto efficace (LDL-C 42 mg/dL).

**Conclusioni:** In un paziente HoFH portatore di mutazioni difettive a carico del gene LDLR la combinazione di evolocumab con lomitapide a basso dosaggio è stata un'opzione terapeutica aggiuntiva efficace e ben tollerata.

### IDENTIFICAZIONE MEDIANTE NEXT GENERATION SEQUENCING DI UNA NUOVA MUTAZIONE NONSENSENTO NEL GENE CREB3L3 IN UN PAZIENTE CON IPERTRIGLICERIDEMIA SEVERA

F. Brucato<sup>1</sup>, R. Scicali<sup>2</sup>, C. Scrimali<sup>1</sup>, M. Gueli Alletti<sup>1</sup>, R. Spina<sup>1</sup>, V. Ingrassia<sup>1</sup>, G.I. Altieri<sup>1</sup>, D. Noto<sup>1</sup>, G. Misiano<sup>1</sup>, A. Giammanco<sup>1</sup>, C.M. Barbagallo<sup>1</sup>, A. Ganci<sup>1</sup>, A.B. Cefalù<sup>1</sup>, F. Purrello<sup>2</sup>, M.R. Averna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro" (PROMISE), Università degli Studi di Palermo; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania

**Introduzione:** L'ipertrigliceridemia (HTG) è una forma comune di dislipidemia associata ad un aumentato rischio di malattie cardiovascolari e pancreatite. Le forme severe sono caratterizzate da livelli plasmatici di trigliceridi (TG) molto elevati (> 1000 mg/dL -11,2 mmol/l). Nelle forme monogeniche autosomiche recessive i soggetti, omozigoti o eterozigoti composti, presentano mutazioni con perdita di funzione nei geni coinvolti nella lipolisi intravascolare delle lipoproteine ricche in trigliceridi. I principali geni coinvolti sono: LPL (lipoprotein lipase), APOC2 (apolipoprotein C2), APOA5 (apolipoprotein A5), GPIHBP1 (glycophosphatidylinositol (GPI)-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1), LMF1 (lipase maturation factor 1) e GPD1 (glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1). Le mutazioni in CREB3L3 (CRE-binding protein 3-like 3) e in GCKR (glucokinase regulator) sono coinvolte nell'ipertrigliceridemia autosomica dominante.

**Materiali e Metodi:** Abbiamo analizzato mediante Next Generation Sequencing (NGS) le regioni codificanti e le regioni di splicing introne/esone dei geni che influenzano le principali vie di sintesi e metabolismo dei trigliceridi in pazienti affetti da ipertrigliceridemia severa.

**Risultati e Conclusione:** Nella maggior parte dei soggetti non sono state identificate mutazioni patogenetiche nei geni LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1 e LMF1. Due pazienti sono risultati portatori di mutazioni nel gene CREB3L3. Una donna di 54 anni con livelli di TG molto elevati (fino a 1900 mg/dL) è risultata portatrice in eterozigosi di una nuova mutazione nonsenso (c.610C>T p.Arg204Ter) mentre una donna di 51 anni con livelli di TG fino a 1000 mg/dL è risultata eterozigote per una mutazione patogenetica già nota (c.718G>A p.Glu240Lys). La variante p.Arg204Ter determina la formazione di un codone di stop prematuro e la sintesi di una proteina troncata con possibile perdita di funzione. La metodica NGS è un potente strumento per la diagnosi genetica di HTG e le mutazioni del gene CREB3L3 possono essere associate a forme severe di ipertrigliceridemia.

## CARATTERIZZAZIONE GENETICO-MOLECOLARE MEDIANTE NEXT GENERATION SEQUENCING DI UN CASO INSOLITO DI MALATTIA DA ACCUMULO DEGLI ESTERI DEL COLESTEROLO (CESD)

C. Scrimali<sup>1</sup>, F. Brucato<sup>1</sup>, M. Caserta<sup>2</sup>, M. Gueli Alletti<sup>1</sup>, C. Castana<sup>2</sup>, R. Spina<sup>1</sup>, V. Ingrassia<sup>1</sup>, G.I. Altieri<sup>1</sup>, F. Fayer<sup>1</sup>, D. Noto<sup>1</sup>, G. Misiano<sup>1</sup>, A. Giammanco<sup>1</sup>, C.M. Barbagallo<sup>1</sup>, A. Ganci<sup>1</sup>, M. Piccione<sup>3</sup>, A.B. Cefalù<sup>1</sup>, M.R. Averna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro" (PROMISE), Università degli Studi di Palermo; <sup>2</sup>Clinica Pediatrica, ARNAS Civico Di Cristina Benfratelli, Palermo; <sup>3</sup>Centro di Riferimento Malattie genetiche rare, cromosomiche e della sindrome di Down, Università degli Studi di Palermo, Azienda Ospedaliera Ospedali Riuniti "Villa Sofia-Cervello", Palermo

**Introduzione:** Il gene LIPA, localizzato sul cromosoma 10, codifica per la lipasi acida lisosomiale (LAL), un enzima che idrolizza gli esteri del colesterolo (CE) e i trigliceridi (TG). La malattia da accumulo degli esteri del colesterolo (CESD) è una patologia rara, a trasmissione autosomica recessiva, causata da mutazioni nel gene LIPA che comportano un'attività residua dell'enzima LAL. Il deficit completo di LAL è associato a una forma più grave della malattia nota come malattia di Wolman. L'iperlipidemia e la steatosi epatica sono caratteristiche cliniche comuni della CESD.

**Materiali e metodi:** Il probando è un bambino di 2 anni caratterizzato da microcefalia, alti livelli di colesterolo totale (243 mg/dL) e di trigliceridi (272 mg/dL). Abbiamo eseguito un'analisi Next generation sequencing mediante Ion GeneStudio S5 Plus, utilizzando un pannello custom di 50 geni correlati al metabolismo di LDL, HDL e trigliceridi.

**Risultati e conclusioni:** Nessuna mutazione patogenetica è stata identificata nei principali geni candidati per l'ipercolesterolemia familiare e l'ipertrigliceridemia. Tuttavia, il probando è risultato portatore di due mutazioni nel gene LIPA (c.883C>T -p.His295Tyr- e c.929G>A -p.Trp310Ter). Successivamente è stata valutata l'attività dell'enzima LAL mediante DBS (Dried Blood Spot) che è risultata < 5%. La variante His295Tyr è una mutazione missenso già nota e associata a CESD, mentre la variante Trp310Ter è stata precedentemente identificata in omozigosi in due neonati di origine siciliana con malattia di Wolman. Lo screening familiare a cascata ha rilevato la presenza della mutazione His295Tyr nel padre e della mutazione Trp310Ter nella madre. Questa analisi ci ha permesso di identificare un soggetto eterozigote composto per due mutazioni nel gene LIPA con caratteristiche cliniche non comuni.

## METABOLISMO POSTPRANDIALE DELLE LIPOPROTEINE IN PAZIENTI CON CHILOMICRONEMIA FAMILIARE IN TRATTAMENTO CON LOMITAPIDE E TIPARVOVEC

M. Gueli Alletti<sup>1</sup>, P. Bigolin<sup>2</sup>, F. Brucato<sup>1</sup>, C. Scrimali<sup>1</sup>, R. Spina<sup>1</sup>, V. Ingrassia<sup>1</sup>, G.I. Altieri<sup>1</sup>, F. Fayer<sup>1</sup>, D. Noto<sup>1</sup>, G. Misiano<sup>1</sup>, A. Giammanco<sup>1</sup>, C.M. Barbagallo<sup>1</sup>, A. Ganci<sup>1</sup>, A.B. Cefalù<sup>1</sup>, A. Zambon<sup>2</sup>, M.R. Averna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro" PROMISE Università degli Studi di Palermo; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina – DIMED Università degli studi di Padova

**Introduzione:** La sindrome da chilomicronemia familiare (FCS) è una malattia monogenica rara a trasmissione recessiva caratterizzata da livelli di trigliceridi (TG)>10 mmol/L. Sebbene la FCS sia causalmente associata a mutazioni in uno dei principali geni candidati (LPL, LMF1, GPIHBP1, ApoAV e ApoCII), la maggior parte dei pazienti con FCS presenta mutazioni nel gene della lipoproteina lipasi (LPL). Difetti nell'enzima LPL comportano una riduzione della clearance dei chilomicroni (CM) dal plasma e lo sviluppo di pancreatite acuta.

Il trattamento dei pazienti con FCS è difficile: l'azione combinata di una dieta a ridotto contenuto di lipidi e carboidrati in aggiunta alle terapie ipolipemizzanti disponibili (fibrati, statine e acidi grassi omega-3) spesso non permette di raggiungere i livelli di TG desiderati.

Recentemente sono stati sviluppati diversi farmaci innovativi: tiparvovec (terapia genica), lomitapide (inibitore MTP), volanesorsen (oligonucleotide antisense che inibisce la formazione di apoC-III) e anticorpi monoclonali (anti-ApoCIII e anti-ANGPTL3).

**Materiali e Metodi:** Sono stati arruolati cinque pazienti portatori di mutazioni causali di FCS nei principali geni candidati. Ad ogni paziente è stato somministrato un carico orale di grasso modificato per evitare il rischio di pancreatite indotta dall'iperchilomicronemia postprandiale ma comunque sufficiente per valutare la cinetica e la composizione dei CM postprandiali. Il pasto è stato integrato con retinolo palmitato (RP) come biomarcatore dei CM.

Per valutare l'andamento dei livelli di TG post-prandiali sono stati eseguiti dieci prelievi di sangue venoso: nove sono stati effettuati serialmente ogni ora mentre un singolo prelievo è stato eseguito 24h dopo rispetto al primo.

Abbiamo confrontato i livelli di TG e RP dopo la somministrazione del carico orale di grasso prima e dopo il trattamento con lomitapide o con tiparvovec.

**Risultati e conclusioni:** Presentiamo i dati preliminari di quattro pazienti trattati con la lomitapide per ventisei settimane e l'unico paziente che ha ricevuto il tiparvovec in Italia. Le aree sotto la curva dei pazienti in terapia con la lomitapide hanno subito una riduzione approssimativamente dell'87% per i TG e del 27% per le non-HDL-C. Non è stato osservato alcun miglioramento nel paziente trattato con il tiparvovec. La lomitapide è stata efficace nel migliorare il metabolismo postprandiale delle lipoproteine nei soggetti con FCS mentre non è stato riscontrato alcun beneficio nel trattamento con tiparvovec.

## PREVALENZA DELL'IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE POLIGENICA TRA I PAZIENTI AD ALTO RISCHIO AFFERENTI AD UN AMBULATORIO DI TERZO LIVELLO

A. Messineo, A. Sangiorgio, M. Scuruchi, M. Cinquegrani, S. Verachtert, A. Toscano, G. Squadrito, G. Mandraffino  
Internal Medicine Unit; Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina

Le cause genetiche di ipercolesterolemia sono molto comuni, tanto che fino al 50% delle condizioni caratterizzate da alti livelli di LDL ematici (LDL-C >160 mg/dl) potrebbero essere geneticamente determinate. Le forme più studiate e geneticamente meglio caratterizzate sono rappresentate dalle ipercolesterolemie familiari monogeniche (FH), mentre cause meno comuni comprendono ARH (ipercolesterolemia familiare autosomica recessiva), la Sitosterolemia, la malattia da accumulo di esteri del colesterolo (LALD), la disbetalipoproteinemia familiare e il deficit della lipasi epatica.

L'ipercolesterolemia Familiare (FH) è considerata una condizione strettamente associata ad un alto rischio di incorrere in eventi cardiovascolari correlati all'aterosclerosi. Più recentemente, alla FH causata da mutazioni di un singolo gene (monogenica) è stata affiancata una seconda forma di ipercolesterolemia a carattere familiare, attribuita al riassortimento di polimorfismi genetici e fattori ambientali, definita come ipercolesterolemia familiare poligenica. L'FH monogenica può essere identificata in eterozigosi od in omozigosi. La forma in eterozigosi è nettamente più comune e riguarda circa 1 caso su 250 nella popolazione generale, la forma in omozigosi invece coinvolge 1 caso su 160000-300000. Le mutazioni in questione riguardano: il gene che codifica per il recettore delle LDL (implicato nell'internalizzazione delle LDL in circolo), una loss of function del gene per l'Apo-B100 (condizione che determina un maggiore contenuto di colesterolo dentro la cellula e quindi una minore efficienza del LDLr) ed una gain of function del recettore di PCSK9 (enzima che facilita il turn over del recettore LDL).

Recentemente sono stati scoperti altri due geni considerati associati alla patologia: STAP1 e APOE. Per la diagnosi di FH le linee guida ESC prevedono l'utilizzo del Dutch Lipid Clinic Network score che fornisce un punteggio complessivo basandosi sia sulla storia familiare (patologie cardiovascolari precoci o segni di dislipidemia quali arco corneale, xantomi tendinei), sia sulla storia clinica del paziente (cardiopatie ischemiche o ischemie cardiovascolari in altre sedi, xantomi tendinei o arco corneale, valutazione biochimica dei valori di colesterolo LDL). L'età di insorgenza dei sintomi è strettamente correlata all'attività dell'LDLr. Di fatto nei soggetti aventi la mutazione in omozigosi la bassa attività recettoriale determina un esordio clinico di malattia già nella prima decade di vita. Nella forma in eterozigosi data una maggiore funzionalità di LDLr l'esordio clinico e la diagnosi avvengono in età adulta a meno che i pazienti non vengano sottoposti ad esami di screening in età giovanile.

A differenza della FH monogenica, la forma poligenica dovuta alla presenza di polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) può essere ipotizzata in base ad uno score che ne predica la probabilità (LDLC score), che associa valori elevati di LDL con alcune mutazioni SNPs. La diagnosi viene posta in caso di valori di score superiori a 0.73 in assenza di mutazioni monogeniche. Nel nostro studio abbiamo valutato la frequenza dell'ipercolesterolemia Familiare Poligenica in un campione di soggetti Siciliani con diagnosi clinica di FH. I dati presentati derivano dal progetto LIPIGEN, finalizzato alla creazione di un registro Nazionale delle Dislipidemie Familiari.

**Risultati:** Da dicembre 2020, abbiamo revisionato tutti i record dell'Ambulatorio per la Diagnosi e la Cura delle Dislipidemie della AOU G. Martino di Messina, individuando 134 soggetti sottoposti a sequenziamento per i geni ritenuti causali per ipercolesterolemia familiare [LDLR gene, PCSK9 gene (12 exons), LDLRAP1 gene (9 exons), APOB gene (exon 26 and 29), APOE gene (region of exon 4), STAP1 gene (9 exons)].

Lo score medio DLCN è stato 6.1±3.4; i valori medi di LDL-C sono stati 203.1±79.2 mg/dl. Come atteso, abbiamo trovato una correlazione significativa tra DLCN score e livelli di LDL-C ( $r = 0.536$ ,  $p < 0.001$ ).

Di 83 pazienti abbiamo ricevuto il report definitivo (41 Progenika, 42 LipidInCode), che identifica 59 mutazioni da 41 pazienti (49.4% del campione), mentre 43 pazienti NON presentano mutazioni nelle sequenze prese in esame per forma monogenica;

Dei pazienti portatori di mutazione, 37/41 presentano almeno una mutazione per LDLR. I rimanenti 4 pazienti sono risultati positivi rispettivamente:

- 1 paziente è risultato portatore di una mutazione su PCSK9
- 1 paziente è risultato portatore di una mutazione su LDLRAP1
- 1 paziente è risultato portatore di una mutazione su ApoE
- 1 paziente è risultato portatore di una mutazione su STAP1
- 1 paziente è risultata portatrice di **quattro mutazioni**: una mutazione sul gene che codifica per LDLR in omozigosi, portatrice di due diverse mutazioni su LDLRAP1 (in doppia eterozigosi).
- 3 pazienti sono risultati portatori di tre diverse mutazioni: doppia eterozigosi per una mutazione sul gene che codifica per LDLR associata ad una mutazione a carico di ApoB;
- 1 paziente è risultato portatore di tre diverse mutazioni: doppia eterozigosi per una mutazione sul gene che codifica per PCSK9 associata ad una mutazione a carico di LDLR;
- 4 pazienti sono risultati doppi eterozigoti per una mutazione sul gene che codifica per LDLR;
- 3 pazienti sono risultati doppi eterozigoti compound per mutazioni sul gene che codifica per LDLR e per ApoB;
- 2 pazienti sono risultati doppi eterozigoti compound per mutazioni sul gene che codifica per LDLR e per PCSK9;

I restanti 51 campioni sono attualmente in attesa di sequenziamento/conferma.

In relazione alle mutazioni identificate:

Sul gene che codifica per LDL-R sono state individuate complessivamente 16 diverse mutazioni, ripetute per un totale di 43 volte:

LDL-receptor gene			
		Frequency	Percent
Valid	c.1474G>A p.Asp492Asn	6	14,0
	c.1109A>C p.Asn370Thr	5	11,6
	c.761A>C p.Gln254Pro	5	11,6
	c.1246C>T p.Arg416Trp	4	9,3
	c.185C>T p.Thr62Met	3	7,0
	<i>INCONCLUSIVE</i>		
	c.1860G>A p.Trp620*	3	7,0
	c.418G>T p.Glu140*	3	7,0
	c.58G>A p.Gly20Arg	3	7,0
	c.1301C>G p.Thr434Arg	2	4,7
	c.2140+1G>T	2	4,7
	c.2282C>T p.Thr761Met	2	4,7
	<i>INCONCLUSIVE</i>		
	c.*198C>A	1	2,3
	c.1207_1209del p.Phe403del	1	2,3
	c.1691A>G Asn564Ser	1	2,3
c.2389G>A p.Val797Met	1	2,3	
c.940+16G>A <i>INCONCLUSIVE</i>	1	2,3	
Total		43	100,0

Abbiamo individuato 4 diverse mutazioni sul gene che codifica per APOB, ripetute complessivamente 6 volte

APOB	
	Frequency
c.2728G>T p.Gly910Cys	2
c.7285T>A p.Ser2429Thr	2
c.-318G>A	1
c.4299G>A p.Ser1433=	1
Total	6

Abbiamo individuato 4 diverse mutazioni sul gene che codifica per PCSK9, ripetute complessivamente 5 volte (delle quali 2 nello stesso paziente).

PCSK9	
	Frequency
c.*887C>T	2
c.157G>C p.ALa53Pro	1
c.213G>A p.Pro71=	1
c.60_65dupGCTGCT p.Leu22_Leu23dup	1
Total	5

Abbiamo individuato 3 diverse mutazioni sul gene che codifica per LDLRAP1, ripetute ciascuna 1 sola volta (delle quali 2 nello stesso paziente).

LDLRAP1	
	Frequency
c.569G>C	1
c.*297G>A	1
c.850G>A	1
Total	3

Sul gene che codifica per APOE è stata individuata una mutazione (c.500\_502delTCC p.Leu149del), una sola volta in un solo paziente. Sul gene che codifica STAP1 è stata individuata una mutazione (c.788A>C p. Asn263thr (*INCONCLUSIVE*)), una sola volta in un solo paziente.

In entrambi questi ultimi due casi le mutazioni individuate non erano associate ad altre mutazioni sui geni sequenziati.

Di 25 probandi inoltre è stato stimato lo SCORE LDL-C per la forma poligenica di ipercolesterolemia familiare; lo score medio è stato di 0.95 (range 0.65-1.28). A parte un caso (nel quale l'indice di probabilità -0.65- non conferma l'ipotesi di ipercolesterolemia familiare poligenica), nei restanti 24 casi (negativi per mutazioni associate ad ipercolesterolemia monogenica) lo score LDL-C ottenuto dall'analisi genotipica delle varianti individuate (valori superiori a 0.73 indicano alta probabilità che l'ipercolesterolemia abbia causa poligenica) ha confermato la diagnosi di ipercolesterolemia familiare poligenica.

## VALUTAZIONE DEI LIVELLI DI ENDOCANO NEI PAZIENTI AFFETTI DA COVID-19

D. Sinicropi<sup>1</sup>, F. Spadaro<sup>1</sup>, M. Scuruchi<sup>1</sup>, M. Marino<sup>1</sup>, G. Calì<sup>1</sup>, M. Cinquegrani<sup>1</sup>, E. Venanzi-Rullo<sup>2</sup>, M.S. Franzè<sup>1</sup>, C. Morace<sup>1</sup>, G. Nunnari<sup>2</sup>, A. David<sup>3</sup>, G. Squadrito<sup>1</sup>, G. Mandraffino<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Internal Medicine Unit; <sup>2</sup>Infectious Disease Unit; <sup>3</sup>Intensive Care Unit; <sup>1,2</sup>Department of Clinical and Experimental Medicine; <sup>3</sup>Department of Human Pathology, University of Messina

La pandemia di COVID-19 dovuta al nuovo coronavirus SARS-CoV2 ha causato, e sta ancora causando, un numero elevato di decessi in tutto il mondo. Il decorso clinico del COVID è molto eterogeneo e imprevedibile, spaziando da una malattia lieve e autolimitante, fino alle forme più gravi caratterizzate da sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS), embolia polmonare, insufficienza multiorgano e morte. Il decorso più grave della malattia sembra essere supportato da una risposta infiammatoria inappropriata, derivante da un effetto patogeno sia diretto che indiretto che SARS-CoV2 esercita sulle cellule endoteliali, con conseguente attivazione disfunzionale in senso protrombotico.

In quest'ottica, individuare un profilo biochimico associato al maggior rischio di evoluzione verso le forme più gravi potrebbe essere di aiuto per riconoscere precocemente i pazienti che necessitano di cure di maggiore intensità.

Endocano è una molecola recentemente riconosciuta come potenziale marker immuno-infiammatorio associato ad eventi cardiovascolari. Livelli più elevati di endocano sono stati riportati in alcune malattie infiammatorie con coinvolgimento endoteliale, suggerendo un suo possibile ruolo come marker di disfunzione endoteliale. In questo lavoro abbiamo valutato i livelli sierici di endocano in due piccoli gruppi di pazienti con COVID-19, ricoverati in un reparto ad intensità di cure medio-alto o in terapia intensiva, cercando eventuali differenze e potenziali correlazioni tra i livelli di endocano ed altre variabili (tra cui terapia medica, test di laboratorio e la necessità di ossigenoterapia).

Abbiamo riscontrato valori del mediatore incrementati in media di 2.45 volte rispetto ai controlli sani; suddividendo i pazienti in base al reparto di degenza (ordinaria o terapia intensiva), i pazienti ricoverati in terapia intensiva presentavano valori significativamente più elevati (3.01 volte di incremento) rispetto ai pazienti ricoverati in reparto ordinario (2.1 volte di incremento; p<0.01).

Come atteso, anche i valori di FiO2 assicurati ai pazienti erano differenti (42% vs 34%).

Altre variabili potenzialmente associate all'incremento di sintesi di endocano verranno valutate.

I risultati preliminari sembrano confermare una correlazione significativa tra i livelli sierici di endocano e la necessità di cure più intensive nei pazienti ricoverati per COVID-19.

## STIMA DELLA PREVALENZA DELLE SINDROMI CHILOMICRONEMICHE IN UNA POPOLAZIONE DI PAZIENTI AFFERENTI A UN AMBULATORIO DI TERZO LIVELLO

A. Toscano, S. Verachtert, M.A. Aragona, A. Messineo,  
G. Squadrito, G. Russo, G. Mandraffino

*Internal Medicine Unit; Department of Clinical and Experimental  
Medicine; University of Messina*

L'ipertrigliceridemia è una condizione comune nella popolazione generale, della quale, ad oggi, non è stata ancora individuata una chiara base genetica. Livelli di trigliceridi moderatamente elevati (200-750 mg/dL) sembrano essere associati a mutazioni/polimorfismi su vari geni coinvolti nella produzione e nel catabolismo delle lipoproteine a densità molto bassa (VLDL). Altri studi hanno invece identificato una correlazione tra mutazioni in omozigosi o eterozigosi di cinque geni (Lipoprotein Lipasi - *LPL*, Apolipoproteina C-II - *Apo-CII*, Apolipoproteina A-V - *Apo-AV*, Glicosilfosfatidilinositolo ancorato alla proteina ad alta densità legante le lipoproteine 1 - *GPI-HBPI* e Fattore di maturazione delle lipasi - *LMFI*) e livelli fortemente elevati di chilomicroni e trigliceridi plasmatici (>886 mg/dL).

Tali mutazioni costituiscono la base genetica della Sindrome Chilomicronemica Familiare (FCS), rara malattia monogenica a trasmissione autosomica recessiva con una prevalenza di circa 1-2 casi su 1.000.000. Simili livelli di trigliceridemia possono essere individuati in soggetti affetti da sindrome chilomicronemica multifattoriale (MCS), la quale si sviluppa a seguito di interazioni tra mutazioni poligeniche e altri fattori, tra i quali DMT2 ed eccessivo introito di alcol.

FCS/MCS possono presentarsi con dolore addominale ricorrente, epatosplenomegalia e/o, nei casi più gravi, pancreatite acuta o ricorrente o, in pazienti asintomatici, con alterazioni ematochimiche del profilo lipidico. La Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi ha recentemente sviluppato uno score per una più accurata identificazione di soggetti affetti da FCS/MCS. Tale score (FCS/MCS score) si basa su parametri ematochimici quali i livelli di trigliceridi sia in età adulta che infantile, su dati clinici quali la presenza di manifestazioni eruttive cutanee, lipemia retinalis, dolore addominale ricorrente, pancreatite ed epatosplenomegalia, e sulla risposta dell'ipertrigliceridemia al trattamento con fibrati ed omega-3.

L'attribuzione di un punteggio ad ognuno di questi parametri consente di classificare gli individui con: a) improbabile diagnosi di FCS/MCS (FCS/MCS score <6), b) probabile diagnosi di FCS/MCS (6 ≤ FCS/MCS score <8) e c) diagnosi definitiva di FCS/MCS (FCS/MCS score ≥8). La diagnosi di FCS è difficile a causa della sua rarità e della mancanza di segni/sintomi specifici che la possano distinguere dalla forma poligenica, anche se quest'ultima si manifesta con un corteo sintomatologico meno eclatante. Al contrario, nei pazienti affetti da FCS, l'ipertrigliceridemia spesso compare già in età pre-adolescenziale e gli episodi di pancreatite acuta si manifestano nei giovani adulti senza altre cause apparenti. Lo screening tramite utilizzo di FCS/MCS score permette di individuare pazienti da sottoporre ad ulteriori indagini genetiche che permettano di confermare la diagnosi e di candidarli a nuove prospettive terapeutiche.

Lo scopo del nostro studio è di valutare la prevalenza di FCS/MCS in pazienti inviati dai MMG presso i nostri ambulatori di III livello - Ambulatorio per la Diagnosi e la Cura delle Dislipidemie e Ambulatorio di Diabetologia - della U.O.C. di Medicina Interna della A.O.U. G. Martino di Messina.

Sono stati valutati 213 pazienti nei primi 60 giorni (31 inviati all'Ambulatorio Dislipidemie, 182 all'Ambulatorio di Diabetologia).

I pazienti con score ≥6 sono stati 4 su 213 (1.88%), dei quali 2 con score tra 6 e 8 (0.94% - diagnosi probabile) e 2 con score >8 (0.94% - diagnosi definitiva).

Ai quattro pazienti identificati sulla base dello score clinico è stato offerto il test genetico per la ricerca delle mutazioni causative; nelle settimane precedenti sono stati già identificati altri 4 pazienti con score significativo, dei quali abbiamo appreso l'esito del sequenziamento (1 paziente è risultato portatore di mutazione causativa in eterozigosi, 1 campione dovrà essere sottoposto a nuovo sequenziamento, e i rimanenti 2 sono risultati non portatori di mutazioni causative).

## IMPATTO DELL'EPIDEMIA DA SARS-COV2 IN PAZIENTI AFFETTI DA IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE

V. Ferrara<sup>1</sup>, R. Scicali<sup>2</sup>, A. Di Pino<sup>1</sup>, M.G. Farina<sup>1</sup>, S. Conti<sup>1</sup>, S. Piro<sup>1</sup>, F. Purrello<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unità Operativa Complessa di Medicina Interna, ARNAS Garibaldi – PO Nesima, Catania; <sup>2</sup>Unità Operativa Complessa di Geriatria, ARNAS Garibaldi – PO Centro, Catania

**Razionale:** L'infezione da SARS-COV2 provoca un'accentuata cascata infiammatoria incrementando così il rischio di eventi cardiovascolari; inoltre, l'epidemia da SARS-COV2 ha avuto un impatto negativo sulla gestione delle malattie cardiovascolari, portando a ritardi diagnostici e terapeutici delle stesse. Pertanto, l'impatto dell'epidemia da SARS-COV2 potrebbe essere deleterio nei pazienti ad elevato rischio cardiovascolare come i soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare (FH).

**Obiettivo dello studio:** Valutare gli effetti diretti ed indiretti dell'epidemia da SARS-COV2 in una coorte di soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare.

**Metodi:** In questo studio osservazionale retrospettivo, abbiamo arruolato tutti i soggetti di età maggiore o uguale a 18 anni e affetti da ipercolesterolemia familiare geneticamente confermata seguiti presso gli ambulatori per la gestione e la cura delle dislipidemie della UOC di Geriatria e la UOC di Medicina dell'ARNAS Garibaldi di Catania. Tutti i pazienti sono stati sottoposti a questionario telefonico per sapere se avessero eseguito follow-up clinico e diagnostico nei 12 mesi prima del lockdown di Marzo 2020 e per valutare l'effetto diretto ed indiretto dell'epidemia da SARS-COV2 da Marzo 2020 a Maggio 2021. L'effetto diretto è stato definito come positività ad infezione da SARS-COV2. L'effetto indiretto è stato definito come mancata aderenza a: terapia medica e/o follow-up di visita ambulatoriale e/o follow-up cardiologico e/o follow-up vascolare.

**Risultati:** 260 soggetti FH parteciparono allo studio; il 49.6% dei soggetti studiati era di sesso maschile; inoltre, il 30.8% aveva già avuto un evento cardiovascolare. Inoltre, la variante patogenica più frequentemente riscontrata era la mutazione genetica a carico di LDLR ed il 98% dei soggetti FH erano eterozigoti. Per quanto riguarda la presenza di ulteriori fattori di rischio, 6 (2.3%) pazienti erano diabetici, 72 (27.7%) erano ipertesi e 59 (22.7%) fumatori; inoltre, il 13.1% dei soggetti FH presentava almeno 2 fattori di rischio. Per quanto riguarda la terapia ipolipemizzante, quasi tutti i pazienti erano in terapia statinica, di cui il 69.2% praticava statina ad alta intensità ed il 28.9% statina a moderata intensità; solo 5 pazienti (1.9%) non assumevano statina per intolleranza farmacologica. Inoltre, l'86.5% dei pazienti assumeva ezetimibe ed il 23.8% dei pazienti era in terapia con inibitori di PCSK9; infine la percentuale di soggetti in terapia con statina + ezetimibe + PCSK9i era pari al 21.9%. Per quanto riguarda l'assetto lipidico, in seguito al lockdown la percentuale di soggetti FH che ha eseguito l'analisi ematochimica dell'assetto lipidico era inferiore rispetto al periodo antecedente (56.5% vs 100.0%,  $p < 0.01$ ); inoltre, valutando l'assetto lipidico dei soggetti FH che hanno eseguito l'analisi ematochimica dopo lockdown, è stata evidenziata una riduzione significativa dei valori di colesterolo HDL ( $47.78 \pm 10.12$  vs  $53.2 \pm 10.38$  mg/dL,  $p < 0.05$ ) ed un significativo aumento dei livelli di colesterolo Non HDL ( $117.24 \pm 18.83$  vs  $133.09 \pm 19.01$  mg/dL,  $p < 0.05$ ) e la percentuale di soggetti FH che raggiungevano il target di colesterolo LDL era inferiore dopo lockdown (31.2% vs 40.4%,  $p = 0.09$ ). Inoltre, la percentuale di soggetti FH che ha effettuato follow-up lipidologico e/o cardiologico e/o di imaging vascolare era inferiore dopo lockdown rispetto al periodo precedente (per il follow-up lipidologico 33.5% vs 100.0%,  $p < 0.001$ ; per il follow-up cardiologico 22.3% vs 60.8%,  $p < 0.01$ ; per il follow-up di imaging vascolare 19.6% vs 100.0%,  $p <$

0.001). Andando ad indagare le possibili cause dell'effetto indiretto del SARS-CoV2 abbiamo notato come la maggior parte dei soggetti (73.8%) ha ridotto l'aderenza diagnostica e terapeutica per la paura di contagio. Infine, la percentuale di soggetti FH che ha contratto l'infezione da SARS-CoV2 è stata 7.3%. Considerando le caratteristiche dei 19 FH soggetti FH positivi ad infezione da SARS-CoV2, l'età media era  $58.7 \pm 5.18$ , il 52.6% dei soggetti era di sesso maschile e la percentuale di soggetti con storia di eventi cardiovascolari era del 78.9%. Nonostante la completa aderenza dei soggetti alla terapia ipolipemizzante, soltanto il 42.1% aveva raggiunto l'adeguato target di colesterolo LDL; inoltre, il 52.6% dei soggetti aveva più di due fattori di rischio. Per quanto riguarda la terapia ipolipemizzante, La maggior parte dei soggetti era in terapia con statina ad alta intensità, tutti i soggetti praticavano ezetimibe e la percentuale di soggetti che assumeva statina più ezetimibe più inibitore di PCSK9 era del 63.2%.

**Conclusioni:** In conclusione, il nostro studio ha mostrato come la pandemia da Sars-CoV2 ha portato effetti deleteri per quanto riguarda lo screening sanitario nei soggetti ad alto rischio cardiovascolare come i soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare. Inoltre, tra i soggetti FH affetti da Sars-CoV2, i valori di colesterolo HDL erano notevolmente ridotti, avevano un'età più alta e un BMI più elevato rispetto la coorte di studio; infine, la maggior parte dei soggetti FH affetti da Sars-CoV2 avevano un colesterolo LDL fuori dal target e presentavano almeno due fattori di rischio cardiovascolare. Ulteriori studi su coorti più ampie di soggetti FH sono necessari per confermare i nostri dati preliminari.

## HIGH TG TO HDL RATIO PLAYS A SIGNIFICANT ROLE ON ATHEROSCLEROSIS EXTENSION IN PREDIABETES AND NEWLY DIAGNOSED TYPE 2 DIABETES SUBJECTS

R. Scicali<sup>1</sup>, P. Giral<sup>2,3</sup>, L. D'Erasmus<sup>2,4</sup>, P. Cluzelet<sup>5,6</sup>, A. Redheuil<sup>5,6</sup>, A. Di Pino<sup>1</sup>, A.M. Rabuazzo<sup>1</sup>, S. Piro<sup>1</sup>, M. Arca<sup>4</sup>, S. Béliard<sup>7</sup>, F. Purrello<sup>1</sup>, E. Bruckert<sup>2,3</sup>, A. Gallo<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Catania; <sup>2</sup>Cardiovascular Prevention Unit, Department of Endocrinology and Metabolism, Paris Hospital Public Assistance, Pitié-Salpêtrière Hospital Group – Sorbonne University, Paris; <sup>3</sup>Dyslipoproteinemia and Atherosclerosis Research Unit, UMRS 939, National Institute for Health and Medical Research (INSERM) and Pierre et Marie Curie University (UPMC – Paris VI), Paris; <sup>4</sup>Department of Translational and Precision Medicine, Sapienza Università di Roma; <sup>5</sup>Laboratoire d'imagerie Biomédicale, INSERM 1146, - CNRS 7371, Sorbonne University, Paris; <sup>6</sup>Département d'imagerie cardiovasculaire et de radiologie interventionnelle, Pôle Imagerie-Groupes Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris; <sup>7</sup>Aix Marseille Univ, INSERM, INRAE, C2VN, Marseille

**Aims:** We investigated the role of TG to HDL ratio (TG/HDL) on atherosclerosis extension, defined as presence of coronary artery calcium (CAC), carotid and femoral plaque, in prediabetes or newly diagnosed type 2 diabetes (T2D).

**Methods:** We performed a retrospective, cross-sectional, single center study involving 440 prediabetes or newly diagnosed controlled T2D subjects. Participants underwent CAC analysis by computed tomography and carotid and femoral plaque evaluation by ultrasonography and were stratified in high TG/HDL (H-TG/HDL) or low TG/HDL (L-TG/HDL) group according to TG/HDL median value. We estimated atherosclerosis extension according to the number of involved vascular districts.

**Results:** CAC was higher in the H-TG/HDL group than L-TG/HDL group (29.15 [0.0-95.68] vs 0.0 [0.0-53.97] AU,  $p < 0.01$ ) and CAC  $> 0$  was more prevalent in the H-TG/HDL group than L-TG/HDL group (64.5% vs 45%,  $p < 0.001$ ). Femoral atherosclerosis was higher in the H-TG/HDL group than L-TG/HDL group (57.3% vs 43.6%,  $p < 0.01$ ). H-TG/HDL group exhibited a lower prevalence of subjects with 0-TWP compared to L-TG/HDL group (21.8% vs 38.6%,  $p < 0.01$ ) and higher percentages of subjects with 2-TWP or 3-TWP than L-TG/HDL group (for 2-TWP 29.5% vs 21.5%,  $p < 0.05$ ; for 3-TWP 32.7% vs 20.9%,  $p < 0.01$ ). Multiple logistic regression analysis showed that a H-TG/HDL was inversely associated to 0-TWP ( $p < 0.05$ ) and positively associated with 2-TWP ( $p < 0.05$ ) and 3-TWP ( $p < 0.01$ ).

**Conclusions:** Our data suggest that TG/HDL is a marker of increased atherosclerotic extension in prediabetes and newly diagnosed T2D and may be useful to identify subjects with a higher cardiovascular risk profile.

## LA FRAZIONE POLIFENOLICA DEL BERGAMOTTO CON L'ESTRATTO DELLE FOGLIE DEL CARCIOFO RIDUCE L'ACIDO URICO SIERICO NEGLI UOMINI CON STEATOSI EPATICA NON ALCOLICA

M. Frosina, e Y. Ferro, G. Marafioti, M. Prastaro, L. Lascalea, R. Pujja, E. Mazza, G. Boragina, M. Gliozzi, S. Nucera, V. Musolino, A. Mirarchi, V. Mollace, A. Pujja, T. Montalcini Università degli Studi "Magna Graecia", Catanzaro

**Background:** Numerosi studi osservazionali hanno documentato la forte associazione tra elevati livelli di acido urico sierico e un maggior rischio di malattie cardiovascolari, comprese le sue manifestazioni cliniche e subcliniche. È stato recentemente dimostrato che un acido urico sierico  $> 5.6$  mg/dL è associato ad un aumento del rischio di mortalità per malattie cardiovascolari. Inoltre, è un fattore indipendente di rischio per lo sviluppo di steatosi epatica non alcolica e per la progressione in steatoepatite non alcolica. Gli uomini hanno più alti livelli di acido urico sierico rispetto alle donne, così come i soggetti con steatosi epatica rispetto ai soggetti sani. È stato dimostrato che un nutraceutico contenente la frazione polifenolica del bergamotto (BPF) e l'estratto di carciofo (CyC) riduce il grasso intraepatico in adulti con steatosi. Inoltre, alcuni studi, per la maggior parte condotti su modelli murini, suggeriscono che i polifenoli contenuti negli agrumi e nel carciofo potrebbero anche avere effetti ipouricemizzanti. Perciò, lo scopo dello studio è stato quello di valutare gli effetti di nutraceutico contenente BPF e CyC sull'uricemia in adulti con steatosi epatica non alcolica.

**Metodi:** È stata effettuata un'analisi secondaria di un trial clinico randomizzato (ID ISRCTN12833814). Sono stati analizzati i dati, separati per genere, di adulti non diabetici con steatosi, che hanno assunto 1 cps/die contenente BPF e CyC o 1 cps/die di placebo (maltodestrine) per 6 settimane.

**Risultati:** Nel genere maschile l'età media era di  $50 \pm 11$  anni, e al basale non vi erano differenze nella prevalenza di soggetti che avevano livelli di acido urico  $> 5.6$  mg/dL (50% vs 39%,  $p=0.59$ ) o dell'uso di agenti ipouricemizzanti tra i soggetti che hanno assunto BPF e CyC rispetto al placebo (7% vs 0%,  $p=0.49$ ; rispettivamente). Dopo 6 settimane l'assunzione del nutraceutico ha determinato una riduzione del 3.8% dell'uricemia rispetto al placebo (+6.9%,  $p=0.02$ ). Una maggiore riduzione si ha nei soggetti con valori di acido urico  $> 5.6$  mg/dL ( $-9.7 \pm 3\%$  vs  $+3.6 \pm 4\%$ ,  $p=0.03$ ). Il nutraceutico determina inoltre una maggiore riduzione del peso corporeo ( $-4.0 \pm 3\%$  vs  $-2.7 \pm 2\%$ ,  $p=0.04$ ) e della circonferenza vita ( $-4.8 \pm 4$  cm vs  $-2.3 \pm 3$  cm,  $p=0.01$ ) rispetto al placebo. Nelle donne, il nutraceutico non determina una differenza statisticamente significativa nella variazione dei livelli ematici di acido urico rispetto al placebo dopo 6 settimane di trattamento ( $0.15 \pm 0.6$  mg/dL vs  $0.19 \pm 0.7$  mg/dL,  $p=0.84$ ; rispettivamente), né degli altri parametri antropometrici ed ematochimici analizzati.

**Conclusioni:** Un nutraceutico contenente la frazione polifenolica del bergamotto con l'estratto delle foglie del carciofo riduce i livelli ematici di acido urico negli maschi con steatosi epatica, ma non nelle donne, dopo 6 settimane di trattamento. Sono necessari studi ad hoc per valutare l'efficacia di questo nutraceutico nelle donne, in soggetti con iperuricemia e nella prevenzione del rischio cardiovascolare.

## LIVELLI CIRCOLANTI DI PCSK9 E DANNO VASCOLARE IN PAZIENTI DIABETICI DI TIPO 2

G. Armentaro, V. Cassano, E. Clausi, G. Mannino,  
T.V. Fiorentino, M. Perticone, E. Succurro, F. Andreozzi,  
F. Carbone, F. Montecucco, G. Sesti, A. Sciacqua  
*Università degli Studi "Magna Graecia", Catanzaro*

**Background:** La proprotein convertasi Subtilisina/Kexina 9 (PCSK9), molecola espressa principalmente nel fegato e rilevata nel plasma umano, è implicata nella degradazione del recettore delle lipoproteine a bassa densità (LDLR) e nella regolazione della concentrazione plasmatica del colesterolo. Una sovraespressione del gene codificante PCSK9, è correlata all'aumento della concentrazione plasmatica di colesterolo LDL ed al rischio cardiovascolare (CV). Inoltre, è stato dimostrato che esiste una correlazione tra i livelli di PCSK9, lo spessore intima media (IMT) e la velocità dell'onda del polso (PWV), gold standard per la valutazione della rigidità arteriosa. I livelli plasmatici di PCSK9 sono risultati essere più elevati nei pazienti con diabete mellito di tipo 2 (DM2) rispetto ai soggetti non diabetici. Il DM2 è un fattore di rischio indipendente di danno vascolare precoce, rilevabile attraverso la rigidità arteriosa, che è associata ad un aumentato rischio di eventi CV e mortalità per tutte le cause nei pazienti diabetici. Lo scopo del nostro studio è stato quello di analizzare la correlazione esistente tra i livelli sierici circolanti di PCSK9 e la rigidità arteriosa, in un'ampia coorte di pazienti affetti da DM2, senza precedenti eventi CV.

**Materiali e metodi:** Abbiamo arruolato 401 pazienti Caucasi, diabetici ed ipertesi (241 uomini e 160 donne, età media 60±11 anni). I principali criteri di esclusione erano l'evidenza di angina, infarto miocardico, cardiopatia valvolare, ipercolesterolemia, vasculopatia periferica, coagulopatie. Tutti i pazienti presentavano normale funzione renale (FG >60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>). PCSK9 è stato misurato con il test colorimetrico ELISA. La rigidità arteriosa è stata stimata con un sistema convalidato, che utilizza la tonometria ad applanazione ad alta fedeltà. La PWV aortica è stata determinata dalle onde di pressione carotidea e femorali. Il test Anova è stato eseguito per variabili continue, inoltre è stata eseguita un'analisi di correlazione lineare per testare la correlazione tra PWV e diverse covariate.

**Risultati:** I pazienti sono stati suddivisi in tre terzili in base all'aumento del livello di PCSK9 circolante. Dal I al III terzile, c'è stato un aumento statisticamente significativo della proteina C-reattiva ad alta sensibilità (hs-CRP) (p=0.032), del fibrinogeno (p<0.0001) e dei globuli bianchi (WBC) (p=0.004) ed una riduzione della velocità di filtrazione glomerulare (eGFR) (p=0.034). Inoltre, i soggetti con livelli più elevati di PCSK9 presentavano un aumento della pressione arteriosa sistolica (PAS) (p<0.0001), della pressione arteriosa diastolica (PAD) (p<0.0001), della pressione del polso (PP) (p=0.004), della PP centrale (p=0.04), augmentation index (AI) (p=0.003) e PWV (p<0.0001). Nell'intera popolazione dello studio, l'analisi di regressione lineare ha mostrato che la PWV era significativamente e direttamente correlata con fibrinogeno (r=0.131; p<0.0001), leucociti (r=0.666; p<0.0001), età (r=0.122; p=0.024), PCSK9 (r=0.408; p=0.003), sesso (r=-0.023; p=0.009) ed indirettamente con l'indice di massa corporea (IMC) (r=0.18; p=0.001) e terapia diuretica (r=-0.007; p=0.001). Dall'analisi di regressione multipla stepwise, PCSK9 è risultato essere il principale predittore di PWV, giustificando il 16.9% della sua variazione, seguito dall'età che ha aggiunto un altro 2.9%, iRAS che ha giustificato l'1.9%, PPc e HDL che ha aggiunto un altro 0.8%.

**Conclusioni:** Il nostro studio ha dimostrato una stretta associazione tra i livelli circolanti di PCSK9 e PWV, corroborando l'importante correlazione tra PCSK9 e rigidità arteriosa nell'identificazione precoce dei soggetti ad alto rischio CV ed i dati ottenuti confermano questa correlazione nei soggetti diabetici senza precedenti eventi CV.

## STRESS OSSIDATIVO E PERFORMANCE VENTRICOLARE SINISTRA IN PAZIENTI IPERTESI CON DIFFERENTE PROFILO GLICOMETABOLICO

V. Cassano, S. Miceli, G. Armentaro, K. Barbara, D. Crescibene, V. Condoleo, G. Severini, V. Monaco, M. Perticone, F. Andreozzi, G. Sesti, A. Sciacqua  
*Università degli Studi "Magna Graecia", Catanzaro*

**Background:** Studi recenti hanno dimostrato che in soggetti normotolleranti al glucosio (NGT), un valore glicemico plasmatico ad 1 ora post carico  $\geq 155$  mg/dl (NGT  $\geq 155$ ), durante il test di tolleranza al glucosio orale (OGTT), identifica i pazienti con un peggiore profilo cardio-metabolico e con un aumentato rischio di sviluppare Diabete Mellito di Tipo 2 (DM2). È noto che pazienti affetti da DM2 presentano un aumento dello stress ossidativo, il quale svolge un ruolo centrale nello sviluppo delle complicanze CV. Il global longitudinal strain (GLS) è in grado di identificare alterazioni precoci delle fibre longitudinali subendocardiche, evidenziando una disfunzione sistolica ventricolare sinistra molto prima che si verifichino variazioni della frazione di eiezione (FE). Lo scopo del presente studio è stato quello di analizzare lo stress ossidativo e la possibile correlazione esistente tra quest'ultimo ed il danno miocardico subclinico valutato con ecocardiografia speckle tracking.

**Materiali e metodi:** Sono stati arruolati 100 pazienti Caucasici (61 uomini e 39 donne, età media  $61.4 \pm 10.7$ ) afferenti allo studio CATAMERI. Sono state escluse le cause di ipertensione secondaria, evidenza clinica di complicanze CV, storia di malattie respiratorie maligne o croniche, patologie endocrinologiche, abuso di alcol, droghe o fumo. Tutti i soggetti sono stati sottoposti a valutazione antropometrica, OGTT e valutazione clinica. Il glucosio plasmatico è stato misurato con il metodo di ossidazione del glucosio e la concentrazione plasmatica insulinica mediante chemiluminescenza. La sensibilità insulinica è stata valutata con l'indice HOMA. I valori sierici dei marker di stress ossidativo (8-isoprostano e NOX-2) sono stati analizzati con metodo ELISA. La valutazione ecocardiografica è stata eseguita utilizzando un sistema ecografico E-95 Pro con trasduttore da 2,5 MHz. Il test ANOVA è stato eseguito per analizzare le differenze tra i gruppi ed è stata eseguita un'analisi di correlazione lineare per associare i valori di GLS e gradiente endo/epi a differenti covariate. Le variabili che hanno raggiunto la significatività statistica sono state inserite in un modello di regressione lineare multipla stepwise.

**Risultati:** In base ai valori di glicemia ottenuti durante OGTT, i pazienti sono stati divisi in 4 gruppi: NGT < 155 (n=30), NGT  $\geq 155$  (n=24), IGT (n=28), pazienti con DM2 (n=18). Non ci sono state differenze significative tra i gruppi per quanto riguarda età, pressione sanguigna sistolica (PAS), colesterolo totale, HDL e LDL. Tra i 4 gruppi, sono state riscontrate differenze significative per valori di glicemia basale ( $p < 0.0001$ ), ad 1 ora (PG60) ( $p < 0.0001$ ) ed a 2 ore ( $p < 0.0001$ ), insulinemia a digiuno ( $p < 0.0001$ ), ad 1 ora ( $p = 0.029$ ) e 2 ore ( $p < 0.0001$ ) durante OGTT. I soggetti NGT  $\geq 155$  hanno mostrato valori più elevati di glucosio plasmatico ad 1 ora ( $p < 0.0001$ ), aumentati valori di proteina C reattiva ad alta sensibilità (hs-CRP) ( $p = 0,006$ ), quando confrontati con i soggetti NGT < 155. Al contrario, non sono state osservate differenze statisticamente significative nel confronto tra NGT  $\geq 155$  e IGT. Dal primo al quarto gruppo è stato osservato un aumento significativo dei livelli di 8-isoprostano ( $p < 0.0001$ ) e NOX-2 ( $p < 0.0001$ ), indicando un aumento dello stress ossidativo con il peggioramento dello stato metabolico. I livelli sierici di 8-isoprostano e NOX-2 erano significativamente aumentati nel gruppo NGT  $\geq 155$  rispetto al gruppo NGT < 155, ma simili al gruppo IGT. La funzione sistolica globale sinistra, valutata come deformazione miocardica e GLS, è apparsa progressivamente infe-

riore procedendo dal gruppo NGT < 155 al gruppo DM2 ( $p < 0.0001$ ). Inoltre, per valori simili di FE, i soggetti NGT  $\geq 155$  presentavano ridotto GLS rispetto agli NGT < 155 ( $p = 0.001$ ), ma simile ai pazienti IGT. Con il peggioramento dello stato metabolico, è stata osservata una progressiva riduzione del gradiente GLS endo ( $p < 0.0001$ ) e GLS endo/epi ( $p < 0.0001$ ). L'analisi di correlazione lineare ha mostrato che il gradiente endo/epi era significativamente e inversamente correlato con la glicemia ad 1 ora ( $r = -0.632$ ,  $p < 0.0001$ ), NOX-2 ( $r = -0.638$ ,  $p < 0.0001$ ), 8-isoprostano ( $r = -0.508$ ,  $p < 0.0001$ ), mentre il GLS era correlato inversamente con glicemia ad 1 ora ( $r = -0.734$ ,  $p < 0.0001$ ) e direttamente con 8-isoprostano ( $r = 0.564$ ,  $p < 0.0001$ ), NOX-2 ( $r = 0.625$ ,  $p < 0.0001$ ). Dal modello di regressione lineare multivariata stepwise, NOX-2 è risultato il principale predittore del GLS endo/epi, giustificando il 40.7% della sua variazione. La glicemia ad 1 ora invece è risultata essere il secondo predittore giustificando un altro 9.2% della variazione del gradiente endo/epi. Analogamente la glicemia ad 1 ora risultava essere il più forte predittore del GLS, spiegando rispettivamente il 53.9% della sua variazione, e NOX-2 aggiungeva un altro 4.7%.

**Conclusioni:** I risultati del presente studio confermano l'importante ruolo del cut-off di 155 mg/dl a 1 ora durante OGTT per identificare, precocemente, i soggetti a maggior rischio metabolico e CV. Il nostro studio, inoltre, ha aggiunto nuovi dati che dimostrano come i soggetti NGT  $\geq 155$  presentano, molto precocemente, alterazioni funzionali delle fibre contrattili miocardiche, ancor prima della variazione della FE, e come queste alterazioni siano correlate con i livelli di stress ossidativo, risultati già alterati in questi pazienti. Questi dati potrebbero ricoprire un ruolo centrale nella continua ricerca sull'associazione esistente tra iperglicemia ad 1 ora post carico e rischio CV.

## PROGRESSI NEL DIABETE DI TIPO 2: EFFETTO DEL C-PEPTIDE SULLA MASSA MUSCOLARE

S. Maurotti, S. Nucera, V. Musolino, R. Mare, M. Frosina,  
N. Geirola, M. D. Floccari, P. Riillo, A. Pujia, T. Montalcini  
*Università degli Studi "Magna Graecia", Catanzaro*

**Introduzione:** Nel diabete mellito vi sono ridotti livelli di C-peptide e di insulina, fenomeno che è stato osservato anche nell'invecchiamento, indipendentemente dalla presenza del diabete. Evidenze scientifiche suggeriscono che il C-peptide ha un ruolo indipendente dall'insulina, e che ridotti livelli si associano allo sviluppo di complicanze. Il paziente diabetico, così come il soggetto anziano, può sviluppare sarcopenia, una patologia caratterizzata da una riduzione quali-quantitativa della massa muscolare che predispone che ad un aumento del rischio di malattie cronico-degenerative. È stato tuttavia dimostrato che la terapia sostitutiva con C-peptide è in grado di ridurre le complicanze del diabete, e potrebbe avere effetti benefici su quelle alterazioni o disfunzioni tipiche dell'anziano, come la sarcopenia. Tuttavia, ad oggi nessuno ha mai investigato gli effetti del C-peptide sul muscolo. Perciò lo scopo dello studio è stato quello di valutare gli effetti della terapia sostitutiva con il C-peptide sui parametri glico-metabolici e muscolari in un modello animale di diabete.

**Metodi:** In questo studio sono stati impiegati n.20 ratti wistar maschi suddivisi in 3 gruppi: un gruppo di n.6 animali è stato utilizzato come controllo senza diabete (CTR), mentre ai restanti n.17 animali è stato indotto il diabete mediante somministrazione intraperitoneale di streptozotocina alla dose di 60 mg/Kg. Dopo l'induzione del diabete, ad un gruppo n.8 di animali è stato somministrato C-peptide alla dose di 72 nM/Kg/24h per 42 giorni mediante l'inserimento di un'osmopompa sottocutanea (C-PEP), mentre i restanti n.6 animali hanno subito una sham operation (D-CTR). È stato eseguito il prelievo ematico a inizio e fine trattamento con C-peptide per le valutazioni del quadro metabolico ed il prelievo a fine studio dei muscoli dell'arto inferiore, per le analisi di espressione di geni e proteine associate alla via proteolitica ubiquitina-proteasoma.

**Risultati:** È stato osservato che l'infusione con C-peptide ha protetto significativamente il gruppo C-PEP dall'iperglicemia ( $p=0.02$ , C-PEP vs D-CTR) e dall'ipertrigliceridemia ( $p=0.02$ , C-PEP vs D-CTR) osservata nel gruppo D-CTR. È stato riscontrato che nel gruppo C-PEP i livelli ematici di proteine totali erano nella norma come il gruppo CTR ed i livelli di ubiquitina sierica nel gruppo trattato con C-peptide erano significativamente inferiori rispetto al gruppo con diabete ( $p=0.03$ , C-PEP vs D-CTR). Inoltre, nel gruppo trattato con C-peptide viene preservato il peso corporeo e la massa muscolare. In particolare, il gruppo C-PEP ha una perdita di peso statisticamente minore rispetto al gruppo D-CTR ( $p=0.02$ ), condizione riscontrata anche nel peso dei muscoli dell'arto inferiore rispetto al gruppo D-CTR ( $p=0.02$ ). In un sottogruppo di animali (n.3 CTR; n. 2 D-CTR e n.3 C-PEP) sono stati analizzati i livelli proteici di ubiquitina nel muscolo. I livelli di ubiquitina nel soleo degli animali del gruppo trattato con C-PEP era statisticamente inferiore rispetto al gruppo D-CTR ( $p=0.03$ , C-PEP vs D-CTR). Infine, l'espressione genica dell'E3 ubiquitina ligasi muscolo-specifica, Atrogin-1, risulta essere statisticamente ridotta nel gruppo con C-peptide rispetto al gruppo con solo diabete ( $p=0.01$ , C-PEP vs D-CTR).

**Conclusione:** Lo studio mostra un'azione del C-peptide sul profilo glico-metabolico e sulle complicanze muscolari del diabete. Con elevata probabilità, ridotti livelli di C-peptide determinano una riduzione della massa muscolare, con aumento della sua degradazione, fattore che a sua volta aggrava il diabete, o addirittura

ne è la prima causa. I risultati di questo studio avvalorano l'ipotesi di un possibile uso del C-peptide come terapia sostitutiva nel diabete al fine di ridurre l'insorgenza delle complicanze ad esso correlate. Questi sono meccanismi affascinanti che però meritano ulteriori approfondimenti.

## EFFETTI DEL LICOPENE ESTRATTO DA DIFFERENTI SALSE DI POMODORO SU CELLULE DI OSTEOLASTI UMANI

R. Mare, Y. Ferro, S. Maurotti, N. Geirola, M. Frosina, F. Micale, R. Isabella, G. Puteri, L. Perri, M.D. Floccari, T. Montalcini, A. Pujia  
*Università degli Studi "Magna Græcia", Catanzaro*

**Background:** I nutraceutici svolgono un ruolo chiave nella prevenzione e mitigazione di varie malattie croniche grazie alle molecole bioattive che contengono. Tuttavia, i processi di lavorazione e stoccaggio industriale possono ridurre il contenuto di molecole benefiche come il licopene, carotenoide antiossidante in grado di esercitare diversi effetti benefici sulla salute umana.

Questo studio si prefigge il duplice scopo di trovare un metodo economico e veloce per estrarre e quantificare il licopene da matrice semisolida, nonché di comparare gli effetti *in vitro* degli estratti ottenuti da diverse salse di pomodoro disponibili sul mercato locale con quelli esercitati da Osteocol<sup>®</sup>, una salsa di pomodoro del sud Italia recentemente brevettata perché naturalmente ricca di carotenoidi.

**Metodi:** Abbiamo eseguito l'estrazione del licopene con diversi solventi e miscele. I campioni ottenuti sono stati analizzati mediante spettrofotometria Uv-visibile e HPLC. Il licopene estratto è stato incapsulato in micelle di Tween80<sup>®</sup> e infine testato *in vitro* su cellule Saos-2. Gli effetti esercitati dal licopene sui pathway Wnt/ $\beta$ -catenina e sull'espressione proteica della fosfatasi alcalina (ALP) sono stati studiati tramite Western-blotting.

**Risultati:** L'esano è stato il miglior solvente per l'estrazione del licopene dopo incubazione di 2 ore. Lo spettrofotometro UV-Vis e l'analisi HPLC hanno mostrato andamenti simili. Analizzando 100 g di passata, Osteocol<sup>®</sup> conteneva  $\sim 39 \pm 4$  mg di licopene, mentre il miglior prodotto commerciale ne conteneva  $\sim 19 \pm 1$  mg, entrambi costituiti da  $\sim 16\%$  p/p dell'isoforma all-trans del carotenoide. L'estratto di licopene Osteocol<sup>®</sup> ha aumentato l'espressione delle proteine ALP e  $\beta$ -catenina in modo dose-dipendente, mostrando anche risultati statisticamente significativi ( $p < 0.05$  rispettivamente).

**Conclusioni:** La qualità delle materie prime e le metodiche di lavorazione possono influenzare in maniera rilevante la concentrazione di bioattivi negli alimenti. Anche comparata alla migliore passata in commercio nel Sud Italia, Osteocol<sup>®</sup> ha dimostrato di avere il contenuto più alto di licopene. La veicolazione micellare di licopene su cellule ossee influenza positivamente la differenziazione degli osteoblasti e aumenta l'espressione delle proteine ALP e  $\beta$ -catenina. Pertanto, Osteocol<sup>®</sup> può essere considerato un nutraceutico utile nella prevenzione dell'osteoporosi.