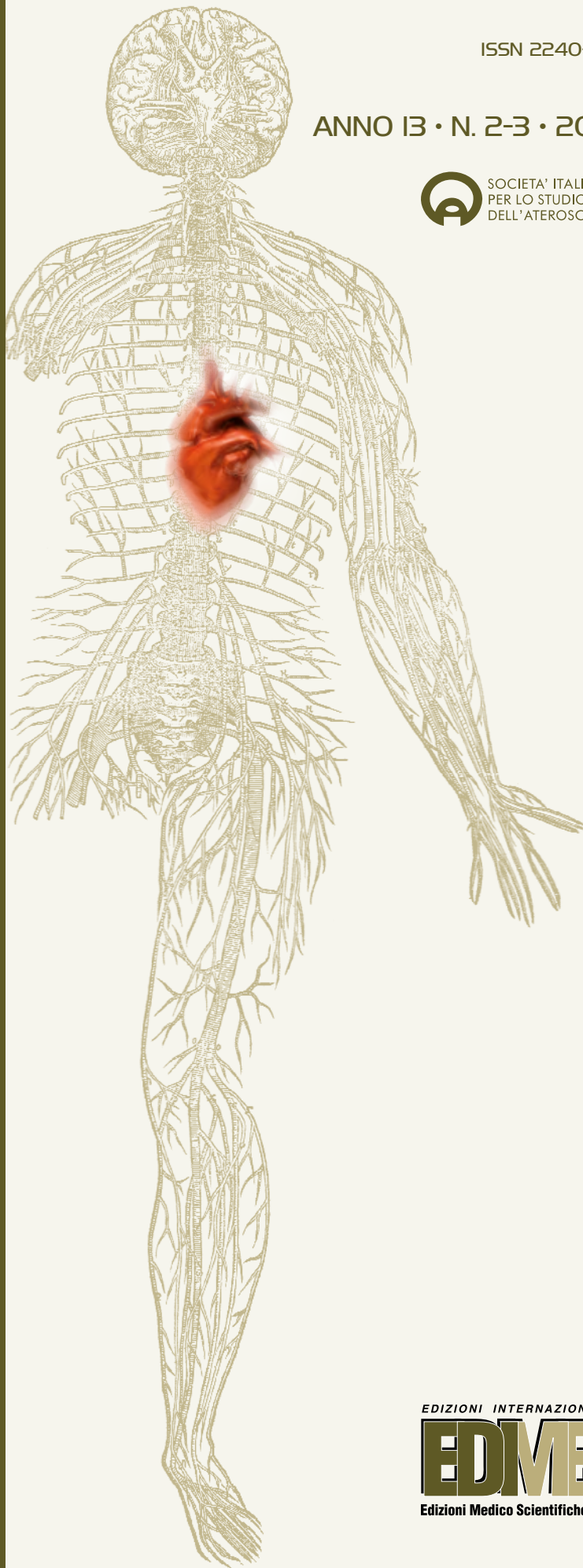


# GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI



ISSN 2240-4821

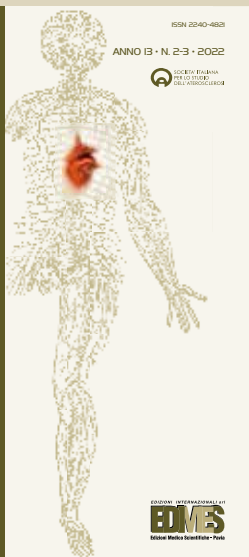
ANNO 13 • N. 2-3 • 2022

 SOCIETÀ ITALIANA  
PER LO STUDIO  
DELL'ARTERIOSCLEROSI

EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

**EDMES**

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia



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

**Direttori emeriti**

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

**Direttore scientifico**

M. Arca (Roma)

**Editore**

L. Cattin (Trieste)

**Vice Editore**

F. Angelico (Roma)

**Responsabili di area**

*Review e Linee Guida* – D. Sommariva (Milano)

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

*Studi Clinici* – M. Pirro (Perugia)

*Epidemiologia* – S. Panico (Napoli)

**Comitato di Redazione**

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

**Segreteria editoriale**

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

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

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

Anno 13 • N. 2-3 • 2022

# SOMMARIO

■ **UN RICORDO DEL PROF. STEFANO BERTOLINI**

**Addio Stefano** ..... 5  
*Sebastiano Calandra*

■ **ALIMENTAZIONE E ATEROSCLEROSI**

**Consumo di fruttosio aggiunto e rischio cardiometabolico** ..... 6  
**Added fructose intake and cardiometabolic risk**  
*Mattia Coronati, Francesco Angelico, Daniele Pastori,  
Maria Del Ben, Francesco Baratta*

■ **TERAPIA**

**Il ruolo di ANGPTL3 come target terapeutico  
nelle dislipidemie** ..... 18  
**The role of ANGPTL3 as a therapeutic target  
in dyslipidemias**  
*Laura D'Erasmo, Andrea Baragetti*

■ **METANALISI ORIGINALE**

**Sicurezza epatica delle statine nella steatosi epatica  
non alcolica. Una revisione sistematica e metanalisi** ..... 34  
**Hepatic safety of statins in nonalcoholic fatty liver disease.  
A systematic review and meta-analysis**  
*Mattia Coronati, Arianna Pani, Arianna Di Rocco, Danilo Menichelli,  
Gianluca Gazzaniga, Alessio Farcomeni, Laura D'Erasmo, Francesco Angelico,  
Maria Del Ben, Francesco Baratta, Daniele Pastori*

■ **NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI**

**American Heart Association 2021** ..... 49  
**American College of Cardiology 2022** ..... 54  
**European Atherosclerosis Society 2022** ..... 58  
*Manuela Casula*

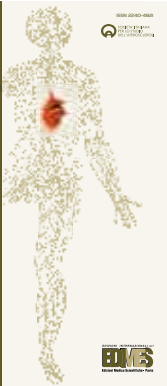
EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

**EDIMES**

Edizioni Medico Scientifiche - Pavia

Edizioni Internazionali srl

Divisione EDIMES  
EDIZIONI MEDICO SCIENTIFICHE - PAVIA  
Via Riviera 39 - 27100 Pavia  
Tel. 0382526253 r.a. - Fax 0382423120  
E-mail: edint.edimes@tin.it



## Consiglio Direttivo SISA

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

## Presidenti Sezioni Regionali SISA

Francesco Cipollone (Adriatica)  
Piero Portincasa (Appulo-Lucana)  
Gabriella Iannuzzo (Campania)  
Angelina Passaro (Emilia-Romagna)  
Maria Del Ben (Lazio)  
Alberico L. Catapano (Lombardia)  
Katia Bonomo (Piemonte-Liguria-  
Valle d'Aosta)  
Mauro Mantega (Sardegna)  
Angelo Baldassare Cefalù  
(Siculo-Calabria)  
Tiziana Sampietro (Toscana)  
Marcello Rattazzi (Triveneto)  
Massimo R. Mannarino (Umbria)



SOCIETÀ ITALIANA  
PER LO STUDIO  
DELL'ATEROSCLEROSI

## Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi

Viale Maresciallo Pilsudski, 118  
00197 Roma

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

Direttore Responsabile: P. E. Zoncada

## Norme editoriali

### Pubblicità/Abbonamenti

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

### Condizioni di abbonamento

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

### Periodicità

Trimestrale

### Scopi

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

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

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

## TIPOLOGIA E STRUTTURA DEGLI ARTICOLI

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

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

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

### Lavori originali

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

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

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

### Bibliografia

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

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

### Rassegne

Il frontespizio dovrà contenere:

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

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

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

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

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

**Glossario:** È uno strumento di comunicazione fortemente raccomandato.

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

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

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

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

### Casi clinici

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

### Forum su Medicina, Scienza e Società

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

## NOTE PER GLI AUTORI

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

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

# PRESENTAZIONE DEL NUMERO

## ■ RICORDO DELL'AMICO SCOMPARSO

Addio Stefano

## ■ ALIMENTAZIONE E ATEROSCLEROSI

### **Consumo di fruttosio aggiunto e rischio cardiometabolico**

La rassegna riassume le evidenze scientifiche che supportano la correlazione tra l'assunzione di fruttosio aggiunto e lo sviluppo di obesità e di altri fattori di rischio cardiometabolici, focalizzando l'attenzione sulla sindrome metabolica e la steatosi epatica.

#### ***Added fructose intake and cardiometabolic risk***

*The review summarizes the scientific evidence that supports the correlation between the intake of added fructose and the development of obesity and other cardiometabolic risk factors, focusing attention on the metabolic syndrome and hepatic steatosis.*

## ■ PROSPETTIVE DI TERAPIA

### **Il ruolo di ANGPTL3 come target terapeutico nelle dislipidemie**

Questa revisione della letteratura riassume le basi molecolari dell'attività di angipoiatina-3 (ANGPTL3) e i risultati in termini di efficacia e di sicurezza degli studi di fase I, II e III, della terapia delle dislipidemie gravi con un anticorpo monoclonale (evinacumab) diretto contro la forma circolante della proteina e con oligonucleotidi antisenso che inibiscono il trascritto genico (vupanorsen). Per la prima volta in ambito cardiovascolare si esplora l'opzione terapeutica di gene editing attraverso CRISPR-Cas9.

#### ***The role of ANGPTL3 as a therapeutic target in dyslipidemias***

*This review summarizes the molecular basis of angiotensin-3 (ANGPTL3) activity and the efficacy and safety results of phase I, II and III studies of severe dyslipidemia therapy of a directed monoclonal antibody (evinacumab) against the circulating form of the protein and antisense oligonucleotides that inhibit the gene transcript (vupanorsen). For the first time in the cardiovascular field, the therapeutic option of gene editing is explored through CRISPR-Cas9.*

## ■ METANALISI ORIGINALE

### **Sicurezza epatica delle statine nella steatosi epatica non alcolica.**

#### **Una revisione sistematica e metanalisi**

La metanalisi condotta dagli autori sui principali studi dopo revisione sistematica della letteratura suggeriscono che le statine possono essere somministrate in modo sicuro nei pazienti con steatosi epatica non alcolica (NAFLD), anche quando gli indici di citolisi epatica sono moderatamente aumentati.

#### ***Hepatic safety of statins in nonalcoholic fatty liver disease.***

#### ***A systematic review and meta-analysis***

*The authors' meta-analysis of key studies after systematic literature review suggests that statins can be safely administered to patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), even when hepatic cytotoxicity indices are moderately elevated.*

## ■ NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI

**American Heart Association 2021**

**American College of Cardiology 2022**

**European Atherosclerosis Society 2022**

**UN RICORDO DEL PROF. STEFANO BERTOLINI****ADDIO STEFANO...****SEBASTIANO CALANDRA***Professore Emerito di Patologia Generale, Università di Modena e Reggio Emilia*

La notizia dell'improvvisa scomparsa di Stefano Bertolini è stata per me un fulmine a ciel sereno. Mi aveva chiamato al telefono un paio di giorni prima per espormi alcune sue idee riguardo l'impiego di tecnologie informatiche per l'attribuzione di patogenicità a varianti genetiche trovate di recente. Nonostante egli fosse in pensione da una decina di anni il suo entusiasmo per la ricerca nel campo delle dislipidemie genetiche non si era esaurito e nel suo ruolo di "cultore della materia" manteneva rapporti molto stretti con l'Università di appartenenza e con vari centri e laboratori in Italia.

Avevo incontrato Stefano alla fine degli anni '80 in una sessione poster di un congresso internazionale. La vicinanza dei nostri due poster che riguardavano la descrizione fenotipica di famiglie con dislipidemie primitive, ha promosso un proficuo scambio di idee riguardo il futuro impiego delle tecnologie del DNA ricombinante per stabilirne le basi molecolari. Poco dopo quell'incontro Stefano si è gettato a capofitto nel progetto ed in pochi mesi ha allestito un laboratorio ad hoc che in breve tempo ha prodotto importanti risultati non solo nel definire le basi molecolari dell'ipercolesterolemia familiare ma anche nell'aprire la strada per uno studio molecolare sistematico di tutte le dislipidemie genetiche identificate in famiglie italiane.

Stefano aveva una solida preparazione clinica associata ad una profonda conoscenza delle basi fisiopatologiche del metabolismo dei lipidi. Aveva una capacità straordinaria di raccogliere informazioni sulle famiglie, di

stabilire con i pazienti un sincero rapporto di empatia che gli consentiva di raccogliere informazioni riguardo la caratterizzazione fenotipica degli stessi pazienti e dei loro familiari. Nel corso degli anni questa attitudine si è tradotta nella costruzione di un archivio di dati clinici e molecolari che ha rappresentato la base per analoghi studi estesi a tutto il territorio nazionale. Stefano era un lavoratore instancabile, aperto alla innovazione, rigoroso nell'impostazione del lavoro, critico nei confronti dei risultati ottenuti, aperto a suggerimenti e collaborazioni con altri ricercatori italiani e stranieri.

Ha continuato a lavorare con entusiasmo e puntiglio, anche dopo il pensionamento come testimoniato da importanti recenti pubblicazioni di cui è stato tra i principali autori. Il giorno precedente la sua scomparsa aveva presentato, in una riunione scientifica in Genova (Congresso Regionale SISA Piemonte-Liguria-Val d'Aosta), una relazione sui dati aggiornati riguardanti la ipercolesterolemia omozigote in Italia, che era stata molto apprezzata. La scomparsa di Stefano è una grave perdita per la comunità scientifica dei lipidologi, per la Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi, e per tutti coloro che partecipano a vario titolo al consorzio LIPIGEN la cui costituzione è anche derivata dal lavoro di Stefano.

Per me la scomparsa di Stefano è una perdita immensa, che conclude con mio profondo dispiacere, una collaborazione scientifica di più di 35 anni, sostenuta da una sincera e calorosa amicizia. Per me Stefano era come un fratello....



**ALIMENTAZIONE E ATEROSCLEROSI**

# CONSUMO DI FRUTTOSIO AGGIUNTO E RISCHIO CARDIOMETABOLICO

## Added fructose intake and cardiometabolic risk

**MATTIA CORONATI<sup>1</sup>, FRANCESCO ANGELICO<sup>2</sup>, DANIELE PASTORI<sup>1</sup>,  
MARIA DEL BEN<sup>1</sup>, FRANCESCO BARATTA<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Cliniche Internistiche, Anestesiologiche e Cardiovascolari, Sapienza Università di Roma;

<sup>2</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sapienza Università di Roma

### SUMMARY

Starting from the second half of the 1900s, the growing consumption of added sugars took on the characteristics of a real epidemic that developed in parallel with that of obesity and the progressive increase in the incidence of cardiometabolic diseases. A crucial moment in this process of changing eating habits is represented by the introduction into industrial processes of nutrients with a high content of added sugars. Above all, the introduction of high fructose corn syrup (HFCS) has increased the average daily consumption of added sugars and, specifically, of fructose. Although the molecule is the same in natural and industrial foods, the effects produced on health seem to be different as the food matrix in which fructose is inserted modifies the effect produced on the human body.

Consumption of fructose is closely associated with the development of the metabolic syndrome and its components. This link would be mediated both by a direct effect of induction of insulin resistance and by the increased production of uric acid. The development of hyperuricemia is mainly responsible for the close correlation between fructose consumption and increased blood pressure values. Finally, a high consumption of fructose is related to the development of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), the extent of its severity as well as the development of characteristic metabolic alterations, such as atherogenic dyslipidemia.

In conclusion, the numerous evidence on the association between the intake of added fructose and the development of obesity and other cardiometabolic risk factors supports the need for the implementation of government initiatives aimed at enhancing awareness of the problem and developing deterrence tools aimed at obtaining a reduction in the consumption of foods rich in added sugars.

**Keywords:** Fructose, added sugars, cardiovascular risk, NAFLD, metabolic syndrome.

### Introduzione

Il consumo di zuccheri aggiunti è in continuo aumento e già negli anni 90 del secolo scorso, la produzione mondiale di zucchero aveva superato i 110 milioni di

*Indirizzo per la corrispondenza*

Francesco Baratta

E-mail: francesco.baratta@uniroma1.it

tonnellate annue (1). Negli anni 70, l'introduzione dello sciroppo di mais ad alto contenuto di fruttosio (HFCS) nei processi industriali, ha cambiato in maniera sostanziale l'utilizzo degli zuccheri aggiunti in tali processi andando ad affiancare ed in parte sostituire l'utilizzo del saccarosio (1). I due tipi di HFCS utilizzati sul mercato contengono rispettivamente il 42% e il 55% di fruttosio e sono utilizzati per bibite e altre bevande zuccherate, caramelle, prodotti da forno lavorati e condimenti (2).

Sebbene la molecola di fruttosio sia la stessa negli alimenti naturali ed in quelli industriali, gli effetti prodotti sulla salute sembrano essere diversi in quanto la matrice alimentare in cui è inserito il fruttosio ne modifica l'effetto prodotto sul corpo umano (3-5). Nel prodotto trasformato la fonte di energia è maggiormente concentrata ed è maggiormente assorbita dall'organismo. Inoltre, negli alimenti trasformati non sono presenti nutrienti importanti come fibre, vitamine, sali minerali o antiossidanti che contrastano l'assorbimento del fruttosio e gli effetti prodotti dai processi metabolici che lo coinvolgono (6).

Dalla metà del XIX secolo in poi, il progressivo aumento del consumo di zuccheri aggiunti, che negli Stati Uniti ha raggiunto livelli pari all'assunzione di 500 kcal/die tra zucchero da tavola e zuccheri aggiunti a preparati industriali (7), si è accompagnato al parallelo aumento dell'incidenza di obesità e malattie cardiometaboliche (1).

Gli zuccheri liberi svolgono un ruolo fondamentale nello sviluppo dell'obesità, del diabete mellito di tipo 2 (DMT2), della carie dentale, della sindrome metabolica (MetS), delle malattie cardiovascolari e della NAFLD. Per tali ragioni, l'Organizzazione Mondiale della Sanità suggerisce un apporto di zuccheri liberi inferiore al 10% rispetto all'apporto energetico totale giornaliero (8). Per garantire ciò, molti paesi

hanno applicato diverse strategie, inclusa l'applicazione di una "sugar tax" su alimenti ricchi di zuccheri e sulle bevande analcoliche arricchite in zuccheri (9, 10).

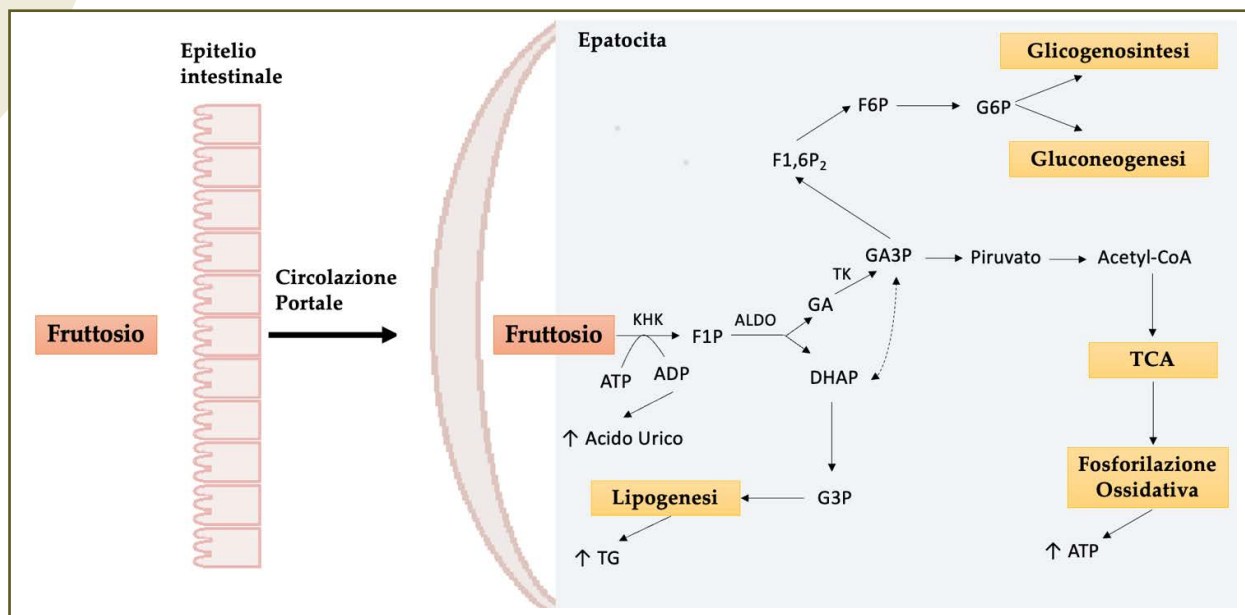
In questa rassegna cercheremo di riassumere le evidenze scientifiche sulla correlazione tra consumo di fruttosio aggiunto e lo sviluppo di fattori di rischio cardiometabolici, focalizzando l'attenzione sulla sindrome metabolica e la steatosi epatica non alcolica (NAFLD).

### Metabolismo del fruttosio

Il fruttosio viene assorbito passivamente negli enterociti grazie al trasportatore del glucosio 5 (GLUT5) e, in misura minore, dal trasportatore del glucosio 2 (GLUT2) che ricopre un ruolo più significativo nel fegato. La maggior parte del fruttosio, attraverso la circolazione portale, raggiunge il fegato e va incontro a fruttolisi (10, 11). Gli enzimi fruttochinasi (KHK) e aldolasi B (ALDO) inducono la formazione di gliceraldeide (GA), che entrerà nella via glicolitica o gluconeogenica, e di diidrossiacetone fosfato (DHAP), che sarà utilizzato per formare glicerolo, elemento essenziale nei processi di lipogenesi (*Figura 1*) (12). Oltre a l'KHK e l'ALDO, la trioso chinasi (TK) svolge un ruolo cruciale nel metabolismo del fruttosio promuovendo l'accumulo di grasso epatico e prevenendo il coinvolgimento dei substrati derivati dal fruttosio nei processi ossidativi attraverso altri enzimi (es. aldeide deidrogenasi) (13).

A differenza del glucosio, il cui metabolismo è finemente regolato dalla fosfofruttochinasi, il fruttosio non subisce questa regolazione e la fruttolisi risulta potenzialmente illimitata. La conseguenza è una grande quantità di substrato che viene utilizzato in diverse vie metaboliche (glicolisi, glicogenesi, gluconeogenesi, lipogenesi, fosforilazione ossidativa) a secon-





**Figura 1** - Metabolismo epatico del fruttosio. Nel fegato, il fruttosio viene fosforilato dalla KHK per ottenere F1P. Il F1P ottenuto viene metabolizzato in DHAP e GA da ALDO. DHAP viene convertito in G3P che entra nei meccanismi della lipogenesi. Dall'altro lato, GA viene convertito in GA3P da TK. GA3P può promuovere la lipogenesi dopo essere stato convertito in DHAP ma può anche generare piruvato, coinvolto a sua volta nel ciclo del TCA e nella fosforilazione ossidativa, per ottenere l'ATP. GA3P è anche un precursore di G6P utilizzato per la gluconeogenesi o glicogenosintesi. KHK: chetoesochinasi; ALDO: aldolasi; TK: trioso chinasi; ATP: adenosina trifosfato; ADP: adenosina difosfato; F1P: fruttosio-1-fosfato; DHAP: diidrossiacetone fosfato; G3P: glicerolo 3-fosfato; GA: gliceraldeide; GA3P: gliceraldeide-3-fosfato; F1,6P2: fruttosio-1,6-bisfosfato; F6P: fruttosio-6-fosfato; G6P: glucosio-6-fosfato; TG: trigliceridi; TCA: ciclo dell'acido tricarbossilico.

da delle esigenze cellulari. Come vedremo più avanti, questa mancanza di regolazione può favorire l'insorgenza di alterazioni metaboliche (14).

### Fruttosio e sindrome metabolica

L'associazione tra l'assunzione di zuccheri aggiunti e lo sviluppo di fattori di rischio cardiometabolici è stata inizialmente desunta da alcune evidenze epidemiologiche. Se dapprima l'associazione tra dieta occidentale ed aumentato rischio cardiometabolico, a differenza di quanto osservato nelle popolazioni aderenti al modello della dieta mediterranea, fu imputata all'alto consumo di grassi (15, 16), evidenze più recenti hanno dimostrato che diete ricche in

grassi e povere in carboidrati e zuccheri, in realtà, non si assocerebbero ad un rischio cardiovascolare aumentato (1, 17). Piuttosto, la dieta dei paesi occidentali, oltre ad essere ricca in grassi, è anche ricca di zuccheri complessi e zuccheri aggiunti (18).

Non a caso lo sviluppo di obesità e l'aumento dell'incidenza dei fattori di rischio cardiometabolici si è osservato dapprima nei paesi industrializzati e, in questi paesi, nelle fasce sociali che avevano maggior accesso allo zucchero da tavola ed ai prodotti arricchiti in zucchero (1). Più recentemente, la stessa tendenza è stata invece osservata nei paesi in via di sviluppo nei quali si sta osservando lo stesso trend osservato in Nord America ed Europa nel XX secolo (1).

La sindrome metabolica riunisce in un'unica definizione un gruppo di disordini metabolici: la compresenza di almeno 3 tra obesità centrale, iperglicemia, ipertensione arteriosa, ipertrigliceridemia e bassi livelli di colesterolo HDL, colpisce circa un quarto della popolazione mondiale (19).

Il consumo di fruttosio si associa strettamente allo sviluppo di sindrome metabolica. Uno studio trasversale ha evidenziato il legame tra il consumo alimentare di fruttosio e la presenza delle componenti della sindrome metabolica, soprattutto l'iperglicemia, l'obesità centrale e l'ipertrigliceridemia (20). A conferma, Perez-Pozo e colleghi hanno dimostrato che l'assunzione giornaliera di fruttosio, in aggiunta alla dieta abituale, in uomini adulti sani in sovrappeso, favoriva l'insorgenza delle componenti della sindrome metabolica (21).

Dal punto di vista fisiopatologico, l'insulino-resistenza e le alterazioni della glicemia sono state messe in correlazione col consumo di bibite contenenti fruttosio. Kimber e colleghi hanno dimostrato che l'assunzione prolungata di bevande zuccherate contenenti fruttosio peggiora la sensibilità all'insulina e la tolleranza al glucosio (22). Risultati simili sono stati ottenuti da Aeberli e colleghi, che hanno mostrato una riduzione della sensibilità epatica all'insulina, a seguito di un'assunzione di quantità moderate di fruttosio (23). Tuttavia, risultati non concordi sono stati ottenuti da uno studio di intervento di 24 settimane in cui una dieta a basso contenuto di fruttosio aggiunto non ha prodotto un miglioramento della insulino-sensibilità, pur mostrando un miglioramento della glicemia a digiuno (24). La mancata risposta alla dieta osservata nello studio appena citato potrebbe essere la conseguenza di alterazioni strutturali del metabolismo del glucosio indotte da una prolungata esposizione al fruttosio. Nel fegato, il fruttosio

supporta la lipogenesi de novo (DNL) e induce stress e infiammazione del reticolo endoplasmatico, portando così ad una riduzione della sensibilità all'insulina degli epatociti (25, 26).

Il fruttosio partecipa anche alla formazione dell'acido urico e contribuisce allo sviluppo di iperuricemia, favorita a sua volta anche dall'insulino-resistenza. Infatti, il fruttosio induce la formazione dell'acido urico sia in modo acuto, attraverso il consumo di adenosina trifosfato (ATP) e la degradazione delle purine, sia cronicamente, stimolandone la sintesi (27, 28). Diversi studi hanno indagato la complessa interazione che vi è tra il consumo di fruttosio aggiunto, l'induzione di iperuricemia e lo sviluppo di ipertensione arteriosa. Uno studio osservazionale condotto su 4000 soggetti ha mostrato che un'assunzione di fruttosio aggiunto superiore ai 74 g/die (corrispondenti a 2,5 *soft drink* zuccherati) si associa a valori di pressione sanguigna più elevati (29). Nel 2010, uno studio clinico randomizzato ha mostrato un aumento significativo della pressione sanguigna nei soggetti che hanno assunto 200 g/die di fruttosio diluito in acqua per due settimane. In particolare, il gruppo di trattamento ha mostrato un aumento significativo dei valori di acido urico. Nello stesso lavoro, la riduzione dell'acido urico con l'allopurinolo ha impedito l'aumento della pressione sanguigna (21).

L'assunzione di bevande zuccherate e di fruttosio aggiunto si associa anche allo sviluppo di dislipidemia. In particolare, in uno studio di intervento, 7 giorni di dieta ad alto contenuto di fruttosio hanno determinato un aumento della secrezione epatica di VLDL (30). Saito e colleghi hanno dimostrato che l'ingestione simultanea di bevande contenenti fruttosio ed una miscela di grassi ha provocato un aumento dei trigliceridi sierici (31). Karen L. Teff e colleghi

hanno invece dimostrato che, a differenza degli altri zuccheri, il fruttosio induce ipertrigliceridemia prolungata (32). I meccanismi attraverso i quali il fruttosio promuove la dislipidemia coinvolgono la DNL e l'aumentata espressione di Apo CIII. La DNL, promossa dal fruttosio attraverso la sovra-regolazione di SREBP1c e ChREBP, è responsabile dell'aumento dei trigliceridi sierici (33). Anche l'Apo CIII causa ipertrigliceridemia favorendo la mobilizzazione dei trigliceridi durante l'assemblaggio e la secrezione di VLDL. Infine, l'Apo CIII riduce la capacità di fuoriuscita di colesterolo dalle particelle di HDL-c, peggiorando la dislipidemia (34).

Più elevati livelli di assunzione di fruttosio sono stati osservati nei pazienti obesi [58]. Nello specifico, diversi studi hanno dimostrato il contributo dell'assunzione di bevande analcoliche arricchite in fruttosio nell'aumento di peso (35-38). A conferma di ciò, uno studio di intervento con una dieta a basso contenuto di fruttosio aggiunto ha mostrato un miglioramento dell'obesità centrale (24). I meccanismi alla base di queste associazioni sono indipendenti dal surplus calorico della dieta e coinvolgono la regolazione dell'insulina, della leptina e della grelina (32). L'assunzione di fruttosio determina una minima secrezione di insulina, insufficiente a stimolare la produzione di leptina da parte degli adipociti. A sua volta, la mancanza di sintesi della leptina impedisce l'innesco dei meccanismi di sazietà, favorendo un'ulteriore assunzione di cibo (39). Inoltre, l'assunzione di fruttosio potrebbe contribuire alla mancata inibizione nella secrezione di grelina. Ancora una volta, questo deficit di secrezione sarebbe correlato alla ridotta secrezione di insulina ed alla stimolazione glicemica che si verificano dopo l'ingestione di fruttosio (32). Infine, la fosforilazione incontrollata del fruttosio porta a un deficit di ATP negli

epatociti. Tale condizione promuoverebbe la ricerca di nuova energia attraverso l'assunzione di ulteriore cibo, favorendo quindi l'aumento di peso (40).

Infine, la stretta associazione tra il consumo di cibi e bevande arricchite in zucchero e lo sviluppo di fattori di rischio cardiometabolici assume un ruolo ancor più rilevante nella popolazione pediatrica (41).

Una metanalisi commissionata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità ha evidenziato che l'assunzione in età pediatrica di alte quantità di bevande ad elevato contenuto di zuccheri aggiunti si associa ad un aumento del 55% annuo del rischio di sviluppare sovrappeso od obesità (8, 42). Inoltre, tale associazione assumerebbe dimensioni tanto più drammatiche quanto più precoce è l'introduzione degli zuccheri aggiunti nella dieta dei bambini, con un rischio di sviluppare l'obesità che appare aumentato del 92% quando questi vengono introdotti prima dei 6 mesi di età e con effetti non solo immediati ma anche a lunga distanza (43).

Per questi motivi, la Società Europea di Gastroenterologia, Epatologia e Nutrizione Pediatrica ha emanato delle raccomandazioni in cui sottolinea la necessità di aumentare la consapevolezza del problema da parte dei genitori, di attuare politiche di prevenzione da parte delle autorità e, dal punto di vista nutrizionale, la necessità di rimpiazzare il consumo di bevande ricche in zuccheri aggiunti con cibi contenenti zuccheri naturali (come il latte e le spremute di frutta fresca) e di limitare il consumo di zuccheri nel contesto di un pasto principale e non come spuntino (41).

### **Fruttosio e NAFLD**

Diversi studi hanno dimostrato la presenza di una forte associazione tra sindrome metabolica e NAFLD, tanto da consi-

derare quest'ultima come l'espressione epatica della sindrome metabolica (44). Si ritiene inoltre che l'insulino-resistenza, caratteristica principale della sindrome metabolica, svolga un ruolo centrale nelle prime fasi dell'infiltrazione di grasso nel fegato. Tuttavia, è ancora dibattuto se siano l'insulino-resistenza e l'iperinsulinemia come componenti della sindrome metabolica ad indurre la steatosi epatica o se sia la stessa NAFLD ad indurre iperinsulinemia cronica e conseguentemente insulino-resistenza (45).

La stretta relazione tra l'insorgenza della NAFLD e la conduzione di uno stile di vita inadeguato è ampiamente dimostrata.

Numerosi studi hanno posto in correlazione il mancato equilibrio tra l'assunzione di nutrienti ad effetto dannoso e quelli ad effetto protettivo con lo sviluppo di NAFLD. I pazienti con NAFLD assumono una maggiore quantità di glucosio e proteine animali rispetto ai controlli che invece assumono più fibra (46, 47). Nei pazienti con NASH è stata anche documentata un'elevata assunzione di acidi grassi saturi (SFA) e colesterolo e un ridotto consumo di acidi grassi polinsaturi (PUFA) e vitamine (48). In sintesi, una "dieta occidentale", costituita da un elevato apporto di alimenti animali ricchi di SFA, acidi grassi trans, cereali raffinati e bibite zuccherate, rappresenta un modello dietetico fortemente associato alla NAFLD, sindrome metabolica, obesità e T2DM (49). Al contrario, la dieta Mediterranea, costituita principalmente da alimenti vegetali (frutta, verdura e legumi), cereali integrali, olio d'oliva e un maggior consumo di pesce, insieme ad un ridotto apporto di carni lavorate, latticini, cereali raffinati e dolci, rappresenta la migliore raccomandazione per la gestione e la prevenzione della NAFLD e della sindrome metabolica (50-52). I cereali integrali hanno una densità energeti-

ca inferiore rispetto ai prodotti raffinati e promuovono un maggiore senso di sazietà e un minore apporto energetico complessivo (53). Inoltre, influenzano la composizione del microbiota intestinale riducendo l'assorbimento di endotossine batteriche (54). Sia il surplus calorico che i livelli di endotossine batteriche nel circolo ematico sono associati allo sviluppo della NAFLD e delle sue complicanze (55, 56).

Un'assunzione regolare di  $\omega$ -3 PUFA (EPA e DHA) sembrerebbe ridurre la lipogenesi epatica e contrastare l'insulino-resistenza e l'infiammazione (57). Inoltre, gli acidi grassi monoinsaturi di classe  $\omega$ -9 (MUFA) hanno mostrato un miglioramento del profilo lipidico circolante e della resistenza all'insulina, suggerendo così un ruolo protettivo nei confronti della NAFLD (58). Infine, una serie di composti antiossidanti (alfa-tocoferolo, carotenoidi, polifenoli), contenuti principalmente nella frutta, verdura, frutta a guscio e olio d'oliva, hanno mostrato effetti sulla riduzione della steatosi epatica (59).

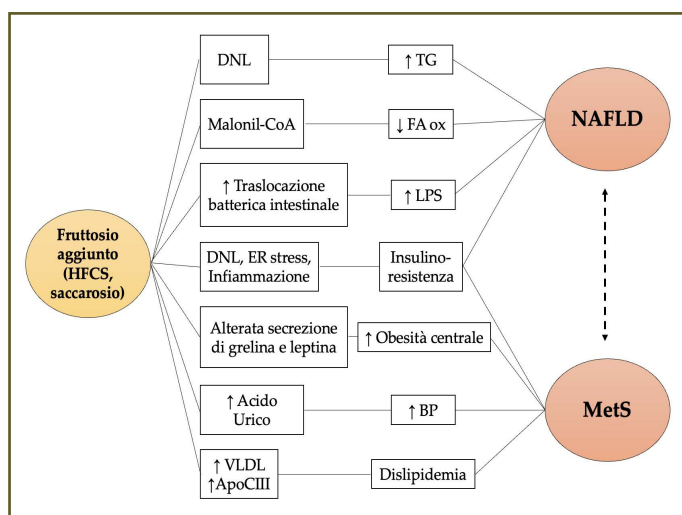
Il fruttosio aggiunto viene introdotto nella dieta in modo isolato, in assenza di tutti quei nutrienti appena descritti che svolgono invece un contro bilanciamento protettivo, sregolando alcuni meccanismi fisiologici e favorendo l'accumulo di grasso nel fegato. Tuttavia, i risultati dei vari studi appaiono contraddittori e gli effetti osservati potrebbero essere influenzati dall'elevato apporto energetico indotto da diete ricche di fruttosio aggiunto. Una recente metanalisi ha riassunto le evidenze sull'aumento di alcuni marcatori legati alla NAFLD a seguito di un periodo di dieta ipercalorica ad alto contenuto di fruttosio (60). In uno studio del 2016 condotto in Germania, la differenza di consumo di fruttosio tra i pazienti con e senza NAFLD perdeva significatività una volta che veniva normalizzata per le calorie consumate

(46). Secondo questi dati, quindi, l'apporto calorico sembrerebbe influenzare l'effetto del fruttosio sulla NAFLD.

Tuttavia, Schwarz e colleghi hanno dimostrato che un apporto di fruttosio pari al 25% dell'apporto calorico totale determina un aumento della lipogenesi epatica (61). Inoltre, nei pazienti con NAFLD, un aumento dell'assunzione giornaliera di fruttosio si associa a più bassi livelli di lipoproteine ad alta densità (HDL), maggiore gravità della fibrosi e infiammazione del fegato (62). Anche in un ampio studio longitudinale condotto su 2.600 parteci-

panti, l'aumento del consumo di bevande zuccherate è stato associato a fegato grasso, indipendentemente dall'apporto energetico totale della dieta (63). Infine, dati sull'associazione tra il consumo di fruttosio aggiunto ed alterazioni del profilo lipidico è stata osservata anche in una popolazione di giovani, indipendentemente dalla presenza della NAFLD (64).

La *figura 2* mostra i meccanismi patogenetici associati allo sviluppo della NAFLD sui quali il consumo di fruttosio potrebbe esercitare la propria influenza. Una dieta ad alto contenuto di fruttosio induce una maggiore stimolazione della lipogenesi de novo (DNL) a causa dell'aumentata sovra-regolazione dei fattori di trascrizione SREBP1c e ChREBP (65, 66). In concomitanza con l'induzione della DNL, i metaboliti intermedi della fruttolisi partecipano direttamente ai processi di lipogenesi (12). Inoltre, il fruttosio favorisce la produzione di malonil CoA che inibisce l'ossidazione degli acidi grassi con conseguente accumulo epatico di trigliceridi (67). Infine, il consumo cronico di fruttosio altera l'equilibrio della flora microbica intestinale e favorisce i processi di traslocazione batterica, inducendo un'elevata concentrazione di lipopolisaccaridi circolanti (LPS) (68). I livelli di LPS sono stati associati alla presenza di NAFLD e allo sviluppo di infiammazione e fibrosi epatica (56). In particolare, l'aumentata espressione e secrezione del fattore di necrosi tumorale (TNF), associato a un'elevata endotossitemia, stimola l'attivazione di SREBP1c, uno dei protagonisti della DNL (69). Inoltre, nel lume intestinale, il fruttosio subisce l'azione del microbiota e viene convertito in acetato, che fornisce acetyl-CoA lipogenico indipendentemente dai processi metabolici fruttolitici (70). Molti di questi meccanismi svolgono un ruolo anche nello sviluppo della sindrome me-



**Figura 2**- Meccanismi patogenetici fruttosio-dipendenti nella NAFLD e nella sindrome metabolica. Il fruttosio promuove lo sviluppo della NAFLD e della sindrome metabolica attraverso diverse vie: (1) agisce come substrato e stimolatore della DNL epatica con conseguente sviluppo di steatosi ed insulino-resistenza; (2) è un precursore del malonil CoA, inibitore dell'ossidazione degli acidi grassi; (3) aumenta la sintesi dell'acido urico inducendo a sua volta ipertensione; (4) induce l'espressione di Apo CIII e la secrezione di VLDL favorendo la dislipidemia; (5) favorisce la traslocazione batterica intestinale con conseguente aumento dei livelli sierici di LPS, strettamente associati allo sviluppo di NAFLD; (6) altera la regolazione del meccanismo fame-sazietà con conseguente maggior apporto calorico e aumento di peso.

HFCS: sciroppo di mais ad elevato contenuto di fruttosio; DNL: lipogenesi de novo; ER stress: stress del reticolo endoplasmatico; VLDL: very low-density lipoproteins; Apo CIII: apolipoproteina C-III; TG: trigliceridi; FA ox: ossidazione degli acidi grassi; LPS: lipopolisaccaride; BP: pressione sanguigna.



tabolica spiegando la stretta triangolazione che potrebbe esserci tra il consumo di fruttosio aggiunto, lo sviluppo di sindrome metabolica e quello della NAFLD.

Infine, studi sperimentali hanno dimostrato che otto settimane di una dieta ricca in fruttosio e saccarosio ha indotto l'accumulo di grasso nel fegato e la progressione della malattia in modo tempo-dipendente dall'esposizione (71, 72). Allo stesso modo, uno studio condotto su un gruppo di giovani uomini ha mostrato un'alterata sintesi dei marcatori degli acidi grassi dopo il consumo di bevande zuccherate ad alto contenuto di fruttosio. All'opposto, questo effetto non si è verificato per coloro che hanno consumato bevande zuccherate ricche di saccarosio o glucosio (73). Infine, uno studio clinico randomizzato condotto su pazienti con NAFLD ha mostrato che 6 settimane di restrizione alimentare dal fruttosio hanno portato ad una significativa riduzione del contenuto lipidico epatico (74).

## Conclusioni

Le variazioni delle abitudini alimentari avvenute nell'ultimo secolo hanno portato all'introduzione degli zuccheri aggiunti nella dieta, soprattutto sotto forma di saccarosio e, più recentemente, in forma di HFCS, composto largamente utilizzato nei processi industriali. Inoltre, la variazione qualitativa si è accompagnata anche alla variazione delle abitudini di consumo di questi alimenti, sempre più assunti al di fuori dei pasti principali ed in maniera isolata nel corso dell'intera giornata.

Le numerose evidenze presenti in letteratura dimostrano l'inequivocabile associazione tra l'assunzione di fruttosio aggiunto e lo sviluppo di un'epidemia in termini di obesità e di altri fattori di rischio cardiometabolici.

Per questi motivi è necessario che vengano implementate, da parte delle autorità sanitarie nazionali, tutte quelle iniziative

### RIASSUNTO

A partire dalla seconda metà del '900, il crescente consumo di zuccheri aggiunti ha assunto le caratteristiche di una vera e propria epidemia che si è sviluppata parallelamente a quella dell'obesità ed al progressivo aumento dell'incidenza delle patologie cardiometaboliche. Un momento cruciale di questo processo di modificazione delle abitudini alimentari è rappresentato dall'introduzione nei processi industriali dei nutrienti ad elevato contenuto di zuccheri aggiunti. Su tutti, l'introduzione dello sciroppo di mais ad elevato contenuto di fruttosio (HFCS) ha ampliato il consumo giornaliero medio di zuccheri aggiunti e, nello specifico, di fruttosio. Sebbene la molecola sia la stessa negli alimenti naturali ed in quelli industriali, gli effetti prodotti sulla salute sembrano essere diversi in quanto la matrice alimentare in cui è inserito il fruttosio ne modifica l'effetto prodotto sul corpo umano.

Il consumo di fruttosio si associa strettamente allo sviluppo della sindrome metabolica e dei suoi componenti. Tale legame sarebbe mediato sia da un effetto diretto di induzione dell'insulino-resistenza che dall'aumentata produzione di acido urico. Lo sviluppo di iperuricemia è responsabile soprattutto della stretta correlazione tra consumo di fruttosio ed aumento dei valori di pressione arteriosa.

Infine, un elevato consumo di fruttosio è correlato allo sviluppo della steatosi epatica non alcolica (NAFLD), all'entità della sua severità oltre che allo sviluppo di alterazioni metaboliche caratteristiche, come la dislipidemia aterogena.

In conclusione, le numerose evidenze sull'associazione tra l'assunzione di fruttosio aggiunto e lo sviluppo di obesità e di altri fattori di rischio cardiometabolici supportano la necessità dell'implementazione di iniziative governative atte a potenziare la consapevolezza del problema e a sviluppare strumenti di deterrenza volti all'ottenimento di una riduzione del consumo di alimenti ricchi in zuccheri aggiunti.

**Parole chiave:** *fruttosio, zuccheri aggiunti, rischio cardiovascolare, NAFLD, sindrome metabolica.*



atte a potenziare la consapevolezza del problema e ad agire come deterrente nei confronti del consumo di alimenti ad elevato contenuto di fruttosio aggiunto.

## Bibliografia

- Johnson RJ, Segal MS, Sautin Y, Nakagawa T, Feig DI, Kang DH, et al. Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney disease, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*. 2007; 86 (4): 899-906.
- White JS, Hobbs LJ, Fernandez S. Fructose content and composition of commercial HFCS-sweetened carbonated beverages. *Int J Obes (Lond)*. 2015; 39(1): 176-182.
- Ayoub-Charette S, Liu Q, Khan TA, Au-Yeung F, Blanco Mejia S, de Souza RJ, et al. Important food sources of fructose-containing sugars and incident gout: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ Open*. 2019; 9 (5): e024171.
- Choo VL, Vigiuliouk E, Blanco Mejia S, Cozma AI, Khan TA, Ha V, et al. Food sources of fructose-containing sugars and glycaemic control: systematic review and meta-analysis of controlled intervention studies. *BMJ*. 2018; 363: k4644.
- Semnani-Azad Z, Khan TA, Blanco Mejia S, de Souza RJ, Leiter LA, Kendall CWC, et al. Association of Major Food Sources of Fructose-Containing Sugars With Incident Metabolic Syndrome: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2020; 3 (7): e209993.
- Tajima R, Kimura T, Enomoto A, Saito A, Kobayashi S, Masuda K, et al. No association between fruits or vegetables and non-alcoholic fatty liver disease in middle-aged men and women. *Nutrition*. 2019; 61: 119-124.
- US Census Bureau. Statistical abstract of the United States. N 214. 2013.
- Guideline: Sugars Intake for Adults and Children. 2015.
- Chriqui JF, Chaloupka FJ, Powell LM, Eidson SS. A typology of beverage taxation: multiple approaches for obesity prevention and obesity prevention-related revenue generation. *J Public Health Policy*. 2013; 34 (3): 403-423.
- Schwendicke F, Stolpe M. Taxing sugar-sweetened beverages: impact on overweight and obesity in Germany. *BMC Public Health*. 2017; 17 (1): 88.
- Zhang DM, Jiao RQ, Kong LD. High Dietary Fructose: Direct or Indirect Dangerous Factors Disturbing Tissue and Organ Functions. *Nutrients*. 2017; 9 (4).
- Tappy L, Rosset R. Fructose Metabolism from a Functional Perspective: Implications for Athletes. *Sports Med*. 2017; 47 (Suppl. 1): 23-32.
- Liu L, Li T, Liao Y, Wang Y, Gao Y, Hu H, et al. Triose Kinase Controls the Lipogenic Potential of Fructose and Dietary Tolerance. *Cell Metab*. 2020; 32 (4):6 05-18.e7.
- Hannou SA, Haslam DE, McKeown NM, Herman MA. Fructose metabolism and metabolic disease. *J Clin Invest*. 2018; 128 (2): 545-555.
- KEYS A. Atherosclerosis: a problem in newer public health. *J Mt Sinai Hosp N Y*. 1953; 20 (2): 118-139.
- Keys A, Aravanis C, Blackburn HW, Van Buchem FS, Buzina R, Djordjevi BD, et al. Epidemiological studies related to coronary heart disease: characteristics of men aged 40-59 in seven countries. *Acta Med Scand Suppl*. 1966; 460: 1-392.
- Wood RJ, Fernandez ML, Sharman MJ, Silvestre R, Greene CM, Zern TL, et al. Effects of a carbohydrate-restricted diet with and without supplemental soluble fiber on plasma low-density lipoprotein cholesterol and other clinical markers of cardiovascular risk. *Metabolism*. 2007; 56 (1): 58-67.
- Yudkin J. Patterns and Trends in Carbohydrate Consumption and Their Relation to Disease. *Proc Nutr Soc*. 1964; 23: 149-162.
- Saklayen MG. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr Hypertens Rep*. 2018; 20 (2): 12.
- Chan W, Smith B, Stegall M, Borrows R. Obesity and Metabolic Syndrome in Kidney Transplantation: The Role of Dietary Fructose and Systemic Endotoxemia. *Transplantation*. 2019; 103 (1): 191-201.
- Perez-Pozo SE, Schold J, Nakagawa T, Sánchez-Lozada LG, Johnson RJ, Lillo JL. Excessive fructose intake induces the features of metabolic syndrome in healthy adult men: role of uric acid in the hypertensive response. *Int J Obes (Lond)*. 2010; 34 (3): 454-461.
- Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, et al. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest*. 2009; 119 (5): 1322-1334.
- Aeberli I, Hochuli M, Gerber PA, Sze L, Murer SB, Tappy L, et al. Moderate amounts of fructose consumption impair insulin sensitivity in

- healthy young men: a randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2013; 36 (1): 150-156.
24. Domínguez-Coello S, Carrillo-Fernández L, Gobierno-Hernández J, Méndez-Abad M, Borges-Álamo C, García-Dopico JA, et al. Decreased Consumption of Added Fructose Reduces Waist Circumference and Blood Glucose Concentration in Patients with Overweight and Obesity. The DISFRUTE Study: A Randomised Trial in Primary Care. *Nutrients*. 2020; 12 (4).
  25. Jegatheesan P, De Bandt JP. Fructose and NAFLD: The Multifaceted Aspects of Fructose Metabolism. *Nutrients*. 2017; 9 (3).
  26. Smith GI, Shankaran M, Yoshino M, Schweitzer GG, Chondronikola M, Beals JW, et al. Insulin resistance drives hepatic de novo lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2020; 130 (3): 1453-1460.
  27. Le MT, Frye RF, Rivard CJ, Cheng J, McFann KK, Segal MS, et al. Effects of high-fructose corn syrup and sucrose on the pharmacokinetics of fructose and acute metabolic and hemodynamic responses in healthy subjects. *Metabolism*. 2012; 61 (5): 641-51.
  28. Choi HK, Willett W, Curhan G. Fructose-rich beverages and risk of gout in women. *JAMA*. 2010; 304 (20): 2270-2278.
  29. Jalal DI, Smits G, Johnson RJ, Chonchol M. Increased fructose associates with elevated blood pressure. *J Am Soc Nephrol*. 2010; 21 (9): 1543-1549.
  30. Lê KA, Ith M, Kreis R, Faeh D, Bortolotti M, Tran C, et al. Fructose overconsumption causes dyslipidemia and ectopic lipid deposition in healthy subjects with and without a family history of type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr*. 2009; 89 (6): 1760-1765.
  31. Saito H, Kagaya M, Suzuki M, Yoshida A, Naito M. Simultaneous ingestion of fructose and fat exacerbates postprandial exogenous lipidemia in young healthy Japanese women. *J Atheroscler Thromb*. 2013; 20 (6): 591-600.
  32. Teff KL, Elliott SS, Tschöp M, Kieffer TJ, Rader D, Heiman M, et al. Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89 (6): 2963-2972.
  33. Stanhope KL, Griffen SC, Bair BR, Swarbrick MM, Keim NL, Havel PJ. Twenty-four-hour endocrine and metabolic profiles following consumption of high-fructose corn syrup-, sucrose-, fructose-, and glucose-sweetened beverages with meals. *Am J Clin Nutr*. 2008; 87 (5): 1194-1203.
  34. Hieronimus B, Stanhope KL. Dietary fructose and dyslipidemia: new mechanisms involving apolipoprotein CIII. *Curr Opin Lipidol*. 2020; 31 (1): 20-26.
  35. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, et al. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA*. 2004; 292 (8): 927-934.
  36. Twarog JP, Peraj E, Vaknin OS, Russo AT, Woo Baidal JA, Sonnevile KR. Consumption of sugar-sweetened beverages and obesity in SNAP-eligible children and adolescents. *Prim Care Diabetes*. 2020; 14 (2): 181-185.
  37. Berkey CS, Rockett HR, Field AE, Gillman MW, Colditz GA. Sugar-added beverages and adolescent weight change. *Obes Res*. 2004; 12 (5): 778-788.
  38. Miller C, Ettridge K, Wakefield M, Pettigrew S, Coveney J, Roder D, et al. Consumption of Sugar-Sweetened Beverages, Juice, Artificially-Sweetened Soda and Bottled Water: An Australian Population Study. *Nutrients*. 2020; 12 (3).
  39. Crujeiras AB, Carreira MC, Cabia B, Andrade S, Amil M, Casanueva FF. Leptin resistance in obesity: An epigenetic landscape. *Life Sci*. 2015; 140: 57-63.
  40. Bawden SJ, Stephenson MC, Ciampi E, Hunter K, Marciani L, Macdonald IA, et al. Investigating the effects of an oral fructose challenge on hepatic ATP reserves in healthy volunteers: A (31)P MRS study. *Clin Nutr*. 2016; 35 (3): 645-649.
  41. Fidler Mis N, Braegger C, Bronsky J, Campoy C, Domellöf M, Embleton ND, et al. Sugar in Infants, Children and Adolescents: A Position Paper of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017; 65 (6): 681-696.
  42. Te Morenga L, Mallard S, Mann J. Dietary sugars and body weight: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials and cohort studies. *BMJ*. 2012; 346: e7492.
  43. Pan L, Li R, Park S, Galuska DA, Sherry B, Freedman DS. A longitudinal analysis of sugar-sweetened beverage intake in infancy and obesity at 6 years. *Pediatrics*. 2014; 134 (Suppl. 1): S29-35.
  44. Angelico F, Del Ben M, Conti R, Francioso S, Feole K, Maccioni D, et al. Non-alcoholic fatty liver syndrome: a hepatic consequence of common metabolic diseases. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003; 18 (5): 588-594.
  45. Del Ben M, Polimeni L, Brancorsini M, Di Costanzo A, D'Erasmo L, Baratta F, et al. Non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome

- and patatin-like phospholipase domain-containing protein3 gene variants. *Eur J Intern Med.* 2014; 25 (6): 566-570.
46. Wehmeyer MH, Zyriax BC, Jagemann B, Roth E, Windler E, Schulze Zur Wiesch J, et al. Non-alcoholic fatty liver disease is associated with excessive calorie intake rather than a distinctive dietary pattern. *Medicine (Baltimore).* 2016; 95 (23): e3887.
  47. Alferink LJ, Kieffe-de Jong JC, Erler NS, Veldt BJ, Schoufour JD, de Knecht RJ, et al. Association of dietary macronutrient composition and non-alcoholic fatty liver disease in an ageing population: the Rotterdam Study. *Gut.* 2019; 68 (6): 1088-1098.
  48. Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 2003; 37 (4): 909-916.
  49. Hosseini Z, Whiting SJ, Vatanparast H. Current evidence on the association of the metabolic syndrome and dietary patterns in a global perspective. *Nutr Res Rev.* 2016; 29 (2): 152-162.
  50. 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.* *Circulation.* 2019; 139 (25): e1082-e1143.
  51. (EASL) EAftSoL, (EASD) EAftSoD, (EASO) EAftSoO. *EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease.* *J Hepatol.* 2016; 64 (6): 1388-1402.
  52. Willett WC, Sacks F, Trichopoulos A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, et al. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr.* 1995; 61 (6 Suppl.): 1402S-6S.
  53. Giacco R, Della Pepa G, Luongo D, Riccardi G. Whole grain intake in relation to body weight: from epidemiological evidence to clinical trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011; 21 (12): 901-908.
  54. Bailey MA, Holscher HD. Microbiome-Mediated Effects of the Mediterranean Diet on Inflammation. *Adv Nutr.* 2018; 9 (3): 193-206.
  55. Mundi MS, Velapati S, Patel J, Kellogg TA, Abu Dayyeh BK, Hurt RT. Evolution of NAFLD and Its Management. *Nutr Clin Pract.* 2020; 35 (1): 72-84.
  56. Carpino G, Del Ben M, Pastori D, Carnevale R, Baratta F, Overi D, et al. Increased Liver Localization of Lipopolysaccharides in Human and Experimental NAFLD. *Hepatology.* 2020; 72 (2): 470-485.
  57. Di Minno MN, Russolillo A, Lupoli R, Ambrosino P, Di Minno A, Tarantino G. Omega-3 fatty acids for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2012; 18 (41): 5839-5847.
  58. Priore P, Cavallo A, Gnoni A, Damiano F, Gnoni GV, Siculella L. Modulation of hepatic lipid metabolism by olive oil and its phenols in nonalcoholic fatty liver disease. *IUBMB Life.* 2015; 67 (1): 9-17.
  59. Godos J, Federico A, Dallio M, Scazzina F. Mediterranean diet and nonalcoholic fatty liver disease: molecular mechanisms of protection. *Int J Food Sci Nutr.* 2017; 68 (1): 18-27.
  60. Chiu S, Sievenpiper JL, de Souza RJ, Cozma AI, Mirrahimi A, Carleton AJ, et al. Effect of fructose on markers of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a systematic review and meta-analysis of controlled feeding trials. *Eur J Clin Nutr.* 2014; 68 (4): 416-423.
  61. Schwarz JM, Noworolski SM, Wen MJ, Dyachenko A, Prior JL, Weinberg ME, et al. Effect of a High-Fructose Weight-Maintaining Diet on Lipogenesis and Liver Fat. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015; 100 (6): 2434-2442.
  62. Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, Unalp-Arida A, Colvin R, Johnson RJ, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2010; 51 (6): 1961-1971.
  63. Ma J, Fox CS, Jacques PF, Speliotes EK, Hoffmann U, Smith CE, et al. Sugar-sweetened beverage, diet soda, and fatty liver disease in the Framingham Heart Study cohorts. *J Hepatol.* 2015; 63 (2): 462-469.
  64. Jin R, Le NA, Liu S, Farkas Epperson M, Ziegler TR, Welsh JA, et al. Children with NAFLD are more sensitive to the adverse metabolic effects of fructose beverages than children without NAFLD. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97 (7): E1088-1098.
  65. Dekker MJ, Su Q, Baker C, Rutledge AC, Adeli K. Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010; 299 (5): E685-694.
  66. Herman MA, Samuel VT. The Sweet Path to Metabolic Demise: Fructose and Lipid Synthesis. *Trends Endocrinol Metab.* 2016; 27 (10): 719-730.
  67. McGarry JD. Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of

- type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002; 51 (1): 7-18.
68. Perdomo CM, Frühbeck G, Escalada J. Impact of Nutritional Changes on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients*. 2019; 11 (3).
69. Todoric J, Di Caro G, Reibe S, Henstridge DC, Green CR, Vrbancic A, et al. Fructose stimulated de novo lipogenesis is promoted by inflammation. *Nat Metab*. 2020; 2 (10): 1034-1045.
70. Zhao S, Jang C, Liu J, Uehara K, Gilbert M, Izzo L, et al. Dietary fructose feeds hepatic lipogenesis via microbiota-derived acetate. *Nature*. 2020; 579 (7800): 586-591.
71. Sánchez-Lozada LG, Mu W, Roncal C, Sautin YY, Abdelmalek M, Reungjui S, et al. Comparison of free fructose and glucose to sucrose in the ability to cause fatty liver. *Eur J Nutr*. 2010; 49 (1): 1-9.
72. Schultz A, Neil D, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Hepatic adverse effects of fructose consumption independent of overweight/obesity. *Int J Mol Sci*. 2013; 14 (11): 21873-86.
73. Hochuli M, Aeberli I, Weiss A, Hersberger M, Troxler H, Gerber PA, et al. Sugar-sweetened beverages with moderate amounts of fructose, but not sucrose, induce Fatty Acid synthesis in healthy young men: a randomized crossover study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99 (6): 2164-72.
74. Simons N, Veeraiyah P, Simons PIHG, Schaper NC, Kooi ME, Schrauwen-Hinderling VB, et al. Effects of fructose restriction on liver steatosis (FRUITLESS); a double-blind randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2021; 113 (2): 391-400.

TERAPIA

# IL RUOLO DI ANGPTL3 COME TARGET TERAPEUTICO NELLE DISLIPIDEMIE

## The role of ANGPTL3 as a therapeutic target in dyslipidemias

LAURA D'ERASMO<sup>1</sup>, ANDREA BARAGETTI<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Traslazionale di Precisione, Sapienza Università di Roma;

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano;

<sup>3</sup>IRCCS Multimedica, Milano

### SUMMARY

Angiopoietin-3 (ANGPTL3) is an important inhibitor of the activity of lipoprotein lipase and endothelial lipase, thus representing a crucial regulator for the catabolism of very low-density lipoproteins rich in triglycerides (VLDL) which, by virtue of their residual cholesterol “remnant”, exert significant pro-inflammatory and pro-atherogenic effects on the vascular endothelium.

Pre-clinical evidence (mouse models of ANGPTL3 “knock-out”) have shown that the genetic absence of this mediator is associated with robust reductions in plasma triglycerides and LDL cholesterol even in the absence of the LDL receptor. This observation was crucial in considering this target for the treatment of homozygous forms of familial hypercholesterolemia (FH) resistant to current therapies. A monoclonal antibody (Evinacumab) directed against the circulating form of the protein and an antisense oligonucleotide for gene transcript inhibition (Vupanorsen) were therefore developed. Both options are providing compelling results in terms of both efficacy and safety in phase I, phase II and phase III studies (the latter for Evinacumab). Many data are still to be acquired, especially those concerning the long-term anti-atherosclerotic effect, but there is a lot of expectation on this target for which, for the first time in the cardiovascular field, we have come very close to gene editing option through CRISPR-Cas9. This review aims to summarize both the molecular bases and the successes, the critical aspects and those to be defined regarding the development of this therapeutic perspective, so promising for severe dyslipidemias for which an effective therapeutic alternative is currently lacking.

**Keyword:** *Angiopoietin-3, Homozygous Familial Hypercholesterolemia, Hypertriglyceridemia, monoclonal antibodies, antisense oligonucleotides, CRISPR-Cas9.*

### Introduzione

Elevati livelli di colesterolo nelle lipoproteine a bassa densità (LDL-C) sono un fattore di rischio noto per malattia cardiovascolare aterosclerotica (ASCVD). La forte associazione causale tra il plasma LDL-C e l'ASCVD costituisce la base per l'uso di te-

*Indirizzi per la corrispondenza*

Laura D'Erasmus

E-mail: laura.derasmus@uniroma1.it

Andrea Baragetti

E-mail: andrea.baragetti@unimi.it



rapie aggressive volte a ridurre LDL-C in particolare negli individui ad alto rischio di ASCVD. Attualmente diverse terapie sono disponibili per ridurre la colesterolemia nella maggior parte delle persone: statine, ezetimibe e inibitori di *Pro-Protein Converte* *tase Subtilisin-Kexin type 9* (PCSK9). Queste terapie sono efficaci e sono da considerare dei mezzi terapeutici per un tempestivo ed efficace trattamento dei pazienti ad alto rischio e molto alto rischio cardiovascolare secondo le linee guida internazionali (1). Tuttavia, rimane ancora oggi una non trascurabile parte di questi pazienti per i quali queste opzioni terapeutiche mostrano limitati, se non scarsi, risultati terapeutici. Tra queste categorie sicuramente sono da annoverare i pazienti con ipercolesterolemia severa, i soggetti portatori di mutazioni di geni che codificano per il recettore delle lipoproteine LDL, per PCSK9 o per Apolipoproteina B (ApoB) su entrambi gli alleli (Ipercolesterolemia Familiare Omozigote (HoFH)) oppure su uno dei due alleli nella forma *null* (HeFH). Per tutti questi pazienti che presentano evidenti resistenze alle terapie convenzionali, vi è un crescente interesse a identificare nuovi trattamenti che possano ridurre efficacemente i livelli plasmatici di LDL-C.

È stato riconosciuto, più recentemente, che il colesterolo plasmatico, benché rimanga il marcatore causale per ACVD, riflette la quantità di lipoproteina che maggiormente lo trasporta (LDL), ma è meno rappresentativo delle lipoproteine circolanti contenenti ApoB, che sono “precursori” delle LDL (2). Infatti, le lipoproteine di immediata derivazione epatica a molto bassa densità (o “VLDL”) e quelle a intensità intermedia (IDL) subiscono in periferia l’attività lipolitica della lipasi lipoproteica (LPL) e di quella endoteliale (EL), progressivamente diventando LDL (3). LPL e EL “scaricano” in questo modo il contenuto di tri-

gliceridi in queste lipoproteine e rendono sempre maggiore la quota relativa del colesterolo residuo (“remnant”) (4). In aggiunta a questi aspetti, tutte queste lipoproteine sono in grado di penetrare nell’endotelio vascolare, causando le medesime reazioni infiammatorie e aterosclerotiche indotte dalle LDL (5–7).

La quota di queste lipoproteine è consistente e clinicamente rilevante, se consideriamo che i prelievi plasmatici per il controllo routinario del profilo lipidico sono comunemente prescritti a digiuno, non permettendo quindi una “fotografia” realistica della quantità di VLDL e IDL che sono prodotte in misura significativa nella condizione “non a digiuno” o, ancor più, nella fase di “lipemia postprandiale”. Nella fase di lipemia postprandiale in particolare, se non si considera l’effimero aumento di chilomicroni di origine intestinale (che si esaurisce nell’arco di mezz’ora o al più un’ora) si osservano dei significativi aumenti di VLDL che persistono dalle quattro alle sei ore dopo il consumo di un pasto ad elevato contenuto calorico (8). Questa condizione non è sovralfisiologica, in quanto recenti proiezioni epidemiologiche hanno indicato che nelle popolazioni odierne a più alto rischio ASCVD si consumano cibi e pietanze contenenti tra i 20-40 g di grassi alimentari per ogni pasto e che vengono consumati dai tre ai quattro pasti al giorno (9,10).

Questo rende immediata la conclusione che la sola considerazione di LDL-C, non solo a scopo diagnostico e prognostico, ma anche nell’ottica di un intervento terapeutico, precluda la valutazione di un iterativo carico o “burden” infiammatorio, che certamente complica l’evoluzione del rischio ASCVD.

Tutti gli studi di popolazione e gli approcci genetici di randomizzazione mendeliana che hanno supportato in maniera robusta la causalità della “trigliceridemia non



a digiuno” per l'aumentato rischio ASCVD (11–13) sono da considerarsi quindi delle importanti lezioni in ambito lipidologico che testimoniano, di riflesso, la rilevanza dell'accumulo di colesterolo non soltanto nelle LDL ma anche, in maniera più generale, in tutte le lipoproteine contenenti ApoB.

Quali strumenti la ricerca farmacologica ha sviluppato per un approccio maggiormente comprensivo nella riduzione delle lipoproteine contenenti ApoB, specialmente in quei casi di “bisogno clinico insoddisfatto” (ipercolesterolemia severa e ipertrigliceridemia)?

Tra i vari approcci rimasti “al palo” in fase sperimentale e quelli che hanno soltanto visto da lontano un approdo in fase clinica, l'Angiopoietin like-3 (Angptl3) è il *target* che fin da subito ha suscitato interesse in ambito farmacologico e che, ad oggi, ha già mostrato promettenti risultati.

In questa revisione di letteratura, riteniamo di dover innanzitutto ricordare gli aspetti molecolari legati al metabolismo di questa proteina, per poi contestualizzare i dati dei *trial* clinici e suggerire, da ultimo, quali sono gli aspetti ancora mancanti da esplorare.

### La Lipoprotein lipasi e la regolazione del *trafficking* di substrati lipidici

L'evoluzione ha portato ad un meccanismo attraverso il quale il corpo umano immagazzina energia durante i pasti mentre usa l'energia che è stata immagazzinata durante le fasi di carestia. I TG sono la principale forma di lipidi sia da immagazzinare che per fornire energia. Come processo fisiologico fondamentale, i TG sono immagazzinati nel tessuto adiposo bianco (WAT) dopo l'assunzione di cibo, mentre durante digiuno i TG vengono indirizzati ai tessuti che li utilizzano per alimentare il

metabolismo ossidativo che li sostiene (cuore e muscolatura scheletrica) (“partizionamento” dei TG). In circolo, in virtù della loro insolubilità in acqua, i TG vengono trasportati da chilomicroni e VLDL. I chilomicroni sono le lipoproteine di derivazione intestinale e vengono formate dopo un pasto dai TG provenienti dalla dieta a livello dei villi duodenali; al contrario le VLDL vengono prodotte principalmente durante il digiuno da parte del fegato venendo secrete direttamente nel torrente ematico (4,10). Queste VLDL trasportano e distribuiscono i trigliceridi per lo stoccaggio o l'ossidazione. Il partizionamento dei TG tra WAT (stoccaggio) e tessuti ossidativi (per produzione energetica) dipende proprio dalla LPL. La LPL è l'enzima chiave responsabile dell'idrolisi dei trigliceridi plasmatici e limita la velocità di assorbimento dei trigliceridi sia nei tessuti ossidativi che in quelli di accumulo (14). L'attività postprandiale di LPL aumenta nel WAT, ma diminuisce nei tessuti ossidativi, dirigendo così i TG al WAT per lo stoccaggio (14). A digiuno, l'attività di LPL si riduce a livello del WAT, ma aumenta nei tessuti ossidativi, indirizzando i TG verso muscoli per la produzione di energia (14). Pertanto, la LPL è considerato un *gatekeeper* per la consegna e l'utilizzo dei substrati a livello dei vari tessuti e l'attività LPL è attentamente e accuratamente orchestrata in modo specifico a livello di ogni tessuto.

Per tale motivo diverse proteine sono coinvolte nella regolazione dell'attività dell'LPL (15). Tra queste, si riconoscono le apolipoproteine C1, C2, C3, E e A5 e le proteine simili ad Angiopoietina note come ANGPTL3, ANGPTL4 e ANGPTL8. Queste ultime, in particolare, agirebbero in modo coordinato tra di loro regolando, grazie ai loro effetti su LPL, la disponibilità di substrati a livello dei diversi tessuti nella fase di digiuno e/o post-prandiale.

## ANGPTL3 e il metabolismo lipidico

Dalla sua scoperta nel 1999 da parte di Conklin e colleghi (16), Angptl3 è stata considerata un modulatore molto potente delle lipoproteine plasmatiche, in particolar modo regolando i livelli di TG, LDL e colesterolo nelle lipoproteine a alta densità (HDL-C) attraverso un'inibizione dell'attività della LPL (17). È inoltre seminale ricordare che Angptl3 agisce anche come inibitore dell'attività della lipasi endoteliale (EL), un enzima espresso sulla membrana luminale delle cellule endoteliali vascolari e che, mediando il metabolismo di fosfolipidi, contribuisce al rimodellamento del contenuto lipidico e delle dimensioni delle HDL. A livello trascrizionale, il gene ANGPTL3 è regolato da *Liver X receptors (LXRs)* e da *Hepatocyte Nuclear Factor 1 $\alpha$  (HNF1 $\alpha$ )* (18). Il primo ne aumenta l'espressione proprio durante la fase di non-digiuno o in risposta a insulina (19) oppure a leptina (20), grazie al legame su una regione specifica nel gene di ANGPTL3; HNF1 $\alpha$  invece inibisce l'espressione ANGPTL3 indirettamente in quanto richiama la mediazione del recettore per l'ormone tiroideo (21).

Angptl3 è una proteina da 70 kDa principalmente espressa e secreta dal fegato (16, 22) e, in misura minore dal rene (16), da cui poi è eliminata (23-25). Angptl3 conserva una regione N-terminale e un *Fibrinogen-like domain (FLD)* nella regione C-terminale, tipica della famiglia delle Angiopietine. Inoltre, Angptl3 è caratterizzata da una struttura aminoacidica (dall'aminoacido 245 a quello 460) omologa a quella del fibrinogeno (per il 40% identica). Infine una sequenza di 16 aminoacidi ("peptide segnale") permette la sua secrezione epatica (26, 27). Il dominio N-terminale è più efficiente nell'inibire l'attività LPL rispetto all'ANGPTL3 a lunghezza intera mentre il dominio C-terminale interagisce con il re-

cettore  $\alpha 3\beta v$  dell'integrina cellulare, possibilmente trasmettendo una segnalazione intracellulare.

Essenziale per l'attività di Angptl3 è la regione *Specific Epitope 1 (SE1)*, un "linker" (lungo dall'amminoacido 32 a quello 55) della porzione N- con quella C-terminale. Questa struttura subisce una attivazione subito dopo la sua secrezione epatica, grazie al clivaggio operato dalla furina PCSK3 all'interno dell'epatocita e da PACE4 (PCSK6) a livello extra-cellulare. In questo modo la forma clivata è rilasciata in circolo e mostra un'affinità di legame e di inibizione dell'attività di LPL superiore rispetto alla forma non clivata (27, 28).

I suoi effetti sul metabolismo dei lipidi furono originariamente identificati in modelli murini di obesità (ceppo KK (KK/SAN)) che esprimevano una forma tronca di ANGPTL3 associata a iperglicemia ed iperinsulinemia. Questi dati hanno suggerito che una perdita di attività di ANGPTL3 si associa a una riduzione dei livelli di TG. Dopo le prime evidenze che hanno confermato come l'ablazione di Angptl3 in modelli murini favorisce la lipolisi del contenuto di TG nelle VLDL e, quindi, il loro catabolismo mediante un'interazione diretta con SE1 (29, 30), è stato più recentemente chiarito con maggior dettaglio che Angptl3 favorisce anche la lipolisi del materiale lipidico specificamente dal WAT (31). Infatti in topi alimentati con dieta ad alto contenuto di grassi l'ablazione genetica totale di Angptl3 è sufficiente per ridurre l'accumulo specificamente nel tessuto adiposo (29). L'assenza "full-body" di Angptl3, data da delezione genica di *ANGPTL3*, in modelli murini sottoposti a dieta ad elevato contenuto di grassi non esercita alcun beneficio sull'accumulo ectopico di adiposità nel cuore, muscolatura scheletrica e tessuto adiposo bruno (32). In aggiunta a questi ulteriori aspetti, è sicuramente da sottoli-

neare che l'attività di Angptl3 nell'aumentare il catabolismo delle lipoproteine contenenti ApoB è indipendente da LDLR (33). Questo aspetto molecolare ha posto le basi per il crescente interesse verso questa proteina, con la prospettiva di trattare quei soggetti dove vi sia un completo deficit di questo recettore, ovvero HoFH o altre forme severe di ipercolesterolemia.

In aggiunta a tutti questi aspetti derivati da modelli sperimentali, la rilevanza di Angptl3 nel mediare tutte queste risposte è stata confermata ampiamente da studi di genetica. Infatti, gli studi di associazione genomica (GWAS) sull'uomo hanno ulteriormente rilevato l'aggregazione di polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) nel gene ANGPTL3 alle variazioni dei TG nella popolazione generale. ANGPTL3 è rimasta una proteina interessante fino a quando Musunuru e colleghi, mediante sequenziamento delle regioni codificanti del DNA (esoma), hanno dimostrato come la perdita di funzione (LOF) in omozigosi (o eterozigosi composta) nel gene ANGPTL3 localizzato sul cromosoma 1p31 si associava ad un fenotipo di ipolipidemia (34). Da allora, diverse famiglie con FHBL2 con mutazioni in ANGPTL3 sono state identificate e studiate attentamente in particolare grazie allo sforzo di alcuni ricercatori italiani che hanno identificato la presenza di un particolare *cluster* di soggetti omozigoti in una cittadina montuosa laziale (Campodiemele) (35, 36). La presenza di questo genotipo si è dimostrato essere associato ad un fenotipo unico che è stato successivamente chiamato ipolipidemia combinata familiare (FHBL2, OMIM #605019). L'FHBL2 è caratterizzata da una marcata riduzione di lipoproteine contenenti ApoA1 e ApoB (VLDL e LDL), un aumento dell'attività della LPL che comporta un accelerato catabolismo VLDL durante la fase di lipemia postprandiale (35, 36). Il meccanismo me-

dante il quale l'inibizione della ANGPTL3 si associa ad una riduzione delle LDL-C è al momento sconosciuta sebbene sembrerebbe essere indipendente dalla via del recettore del LDLR (17). Questo modello umano di carenza di ANGPTL3 ha offerto un modello unico per studiare il meccanismo di azione ANGPTL3 e le conseguenze favorevoli associate alla sua assenza permettendo di caratterizzare molte delle funzioni di questa proteina nell'uomo. L'osservazione relativa agli effetti positivi del deficit di ANGPTL3 non si è tuttavia limitata a verificare il suo effetto sulle lipoproteine. Infatti, studi di GWAS hanno successivamente evidenziato che i soggetti portatori di varianti LOF in ANGPTL3 presentano un rischio ridotto di malattia cardiovascolare aterosclerotica (37).

Complessivamente appare chiaro come tutti questi dati abbiano stabilito la logica per lo sviluppo di strategie farmacologiche per inattivare ANGPTL3 e ridurre i livelli plasmatici di lipoproteine aterogene e, potenzialmente, il rischio cardiovascolare.

### Strategie farmacologiche di inibizione di ANGPTL3

Ad oggi, sono stati utilizzati due diversi approcci per inattivare ANGPTL3 (38):

- la somministrazione di un anticorpo monoclonale (mAb) umano contro la forma proteica circolante di Angptl3 (Evinacumab);
- un oligonucleotide antisense (ASOs) che colpisce l'espressione del gene ANGPTL3 (Vupanorsen) (*Figura 1*).

Entrambi questi approcci si sono dimostrati sin dall'inizio già molto convincenti nel modello murino a garantire riduzioni robuste dei livelli plasmatici di TG, di LDL e di HDL-C.

Nella restante parte di questa rassegna ci occuperemo di esaminare le evidenze

dell'utilizzo di queste nuove strategie terapeutiche nell'uomo.

### Evinacumab

L'anticorpo monoclonale REGN1500 (Evinacumab) è un anticorpo completamente umanizzato che lega con alta affinità l'ANGPTL3 (Figura 2). In questo paragrafo sono riassunte le principali evidenze relative l'efficacia e la sicurezza di Evinacumab nell'uomo (Tabella 1).

Gli studi clinici di fase I hanno dimostrato che la somministrazione di Evinacumab (75-250 mg per via sottocutanea o 5-20 mg/kg per via endovenosa) a 83 volontari umani sani (39) e con ipertrigliceridemia da lieve a moderata (150-450 mg/dl) o LDL-C 100 mg/dl (40) si associava ad

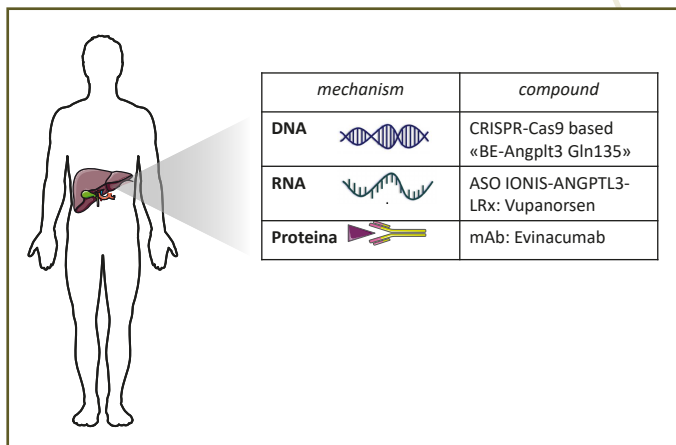


Figura 1 - Opzioni terapeutiche contro Angptl3, suddivise per target molecolare (DNA, RNA e proteina circolante).

Elenco riassuntivo delle tre opzioni dirette contro Angptl3, tutte caratterizzate da completa estrazione epatica. Le tre opzioni in figura sono suddivise per il target molecolare contro cui sono dirette (sequenza genica di ANGPTL3 “DNA”; trascritto di ANGPTL3 “RNA”; proteina circolante contro cui l'anticorpo monoclonale è diretto).

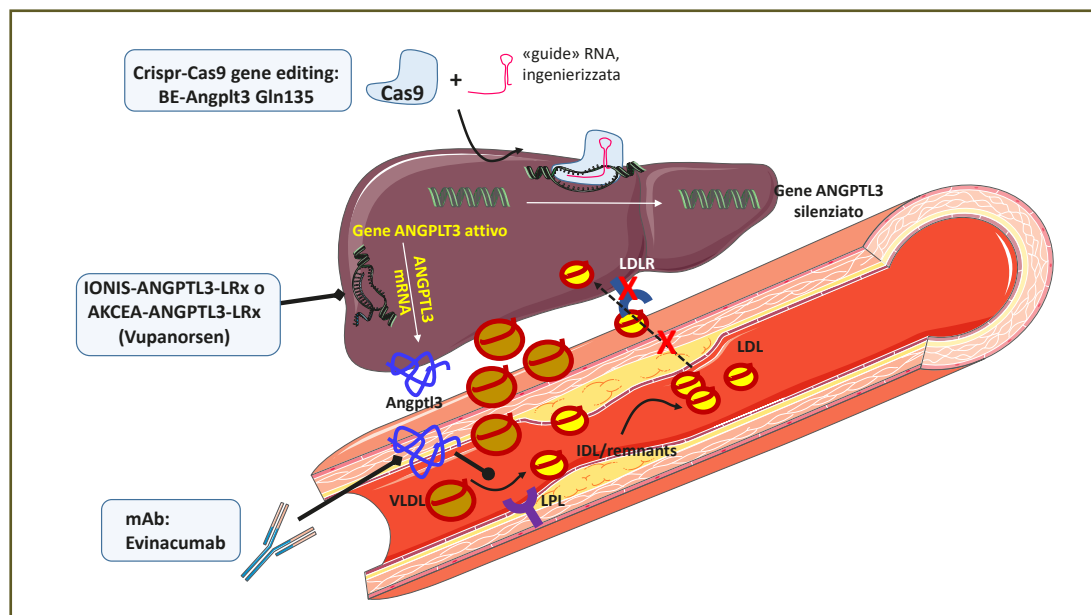


Figura 2 - Razionale delle tre opzioni terapeutiche contro ANGPTL3 nell'ipercolesterolemia severa con deficit del recettore delle LDL.

La figura schematizza il razionale dell'approccio di *gene editing* di ANGPTL3 (CRISPR-Cas9), quello diretto contro il trascritto del gene (Vupanorsen) e quello diretto contro la proteina circolante (Evinacumab). Il simbolo "X" rosso sul recettore delle LDL (LDLR) indica assenza di questo recettore, raffigurando le condizioni di ipercolesterolemia familiare omozigote causate da completo deficit di LDLR. "LPL" = Lipoproteina Lipasi; "LDLR" = Recettore delle LDL; "VLDL" = Lipoproteine a molto bassa densità; "IDL/remnants" = Lipoproteine a densità intermedia; "LDL" = Lipoproteine a bassa densità; "mAb" = anticorpo monoclonale; "mRNA" = RNA messaggero.

**Tabella I - Riassunto degli studi di Fase I, di Fase II e di Fase III che hanno valutato l'effetto di Evinacumab sui principali marcatori lipidici circolanti.**

La tabella riporta, sia per gli studi di Fase I sia per quelli di Fase II, il codice (NCT), il riassunto del disegno e i risultati principali (riduzioni medie dei diversi marcatori lipidici).

Studi di Fase-I		
Studio	Disegno	Risultati principali
NCT01749878	83 volontari sani; Evinacumab (75-250 mg per via sottocutanea o 5-20 mg/kg per via endovenosa)	TG: -76% LDL-C: -23%
NCT01749878 NCT02107872	Soggetti con TG: 150-450 mg/dl e LDL-C $\geq$ 100 mg/dl. n=83 con single ascending dose study [SAD]; n=56 for multiple ascending dose study [MAD])	TG: -88,2% (dose e.v. 20 mg/kg ogni 4 settimane).
Studi di Fase-II		
NCT03452228 NCT04863014	(n=17): FCS con mutazioni <i>loss-of-function</i> su entrambi gli alleli in APOA5, APOC2, GPIHBP1, LMF1, o LPL. (n=15): Sindrome chilomicronemica multifattoriale (MCS) con mutazioni in eterozigosi sui geni APOA5, APOC2, GPIHBP1, LMF1, or LPL. (n=19): MCS senza mutazioni su LPL.	TG: -81,7% dipendentemente da genotipo. Pazienti FCS con mutazioni sul gene LPL responsivi.
NCT03175367	FH portatori di mutazioni in eterozigosi resistenti a terapia che presentavano, alla baseline LDL-C 70-100 mg/dl con aterosclerosi oppure LDL-C sopra 100 mg/dl senza aterosclerosi. Dosi testate: 450 mg/w; 300 mg/w; 200 mg/2w sottocute. 15 mg/kg o 5 mg/kg intravenosa.	Riduzioni LDL-C: -56,0%: con 450 mg/w -52,9%: con 300 mg/w -38,5%: con 200 mg/2w -50,5%: con 15 mg/kg -24,2%: con 5 mg/kg
NCT02265952	9 HoFH (mutazioni su gene LDLR).	Riduzione LDL-C: -58,18%
Studi di Fase-III		
NCT03399786 ELIPSE HoFH	65 HoFH con infusione intravenosa 15 mg/kg.	Riduzione LDL-C: -47,1%

una riduzione dose-dipendente placebo-controllato dei TG e delle LDL-C fino al 76% e 23% rispettivamente.

Due differenti studi di fase I hanno testato Evinacumab nei pazienti con ipertrigliceridemia moderata (TG 150-450 mg/dL) e LDL-C  $>$ 100 mg/dl (40) (Tabella 1). Entrambi gli studi hanno dimostrato una consistente riduzione della trigliceridemia con un picco tra il giorno 11 e 15 dall'infusione. Il migliore risultato in termini di trigliceridemia si è ottenuto con la dose endovenosa di 20 mg/kg ogni 4 settimane (-88.2%). I più comuni effetti collaterali sono stati lievi e tra questi in 4 soggetti si è rilevata una elevazione dei livelli di transaminasi (AST or ALT  $>$  3 volte ULN)

mentre in 6 soggetti è stata rilevata una elevazione dei valori di CPK ( $>$ 3 volte ULN). Nonostante al momento non vi siano dati disponibili relativamente all'uso dell'Evinacumab delle forme più severe di ipertrigliceridemia, siamo in attesa dei risultati di due studi di fase II (NCT03452228 e NCT04863014 (Tabella 1)) in cui il farmaco è stato sperimentato nei soggetti con ipertrigliceridemia severa e storia di pancreatite acuta. Risultati preliminari sono stati presentati nel congresso dell'American College of Cardiology 2021 (41) (Tabella 1) dimostrando come questo farmaco sia in grado di determinare una riduzione dei trigliceridi fino all'81.7% e che questa azione è altamente dipendente dal



genotipo sottostante risultando irrilevante nei pazienti con sindrome chilomicronemica familiare, portatori di mutazioni con perdita di funzione del gene che codifica per LPL. Questo dato a riprova del fatto che l'inibizione di ANGPTL3 determina un effetto sulla trigliceridemia solo in presenza di un normale funzionamento del meccanismo di idrolisi LPL mediato.

Contemporaneamente, considerati i risultati sui livelli di LDL-C sono stati effettuati ulteriori studi volti a sperimentare il suo utilizzo nei pazienti ipercolesterolemici. L'Evinacumab, pertanto, è stato sperimentato in uno studio di fase II in doppio cieco randomizzato (42), controllato con placebo, in pazienti con ipercolesterolemia resistente con o senza ipercolesterolemia familiare (Tabella 1). L'ipercolesterolemia resistente era definita come LDL-C >70 mg/dl in soggetti con ASCVD e > 100 mg/dl senza ASCVD. In questi pazienti l'utilizzo di Evinacumab si associava ad una riduzione di LDL-C oltre il 50% alle dosi maggiori con un'incidenza di effetti collaterali che si aggirava tra il 3-16%. Evinacumab è stato testato in un altro studio di fase II (43), in aperto, *proof-of-concept* che coinvolgeva nove pazienti con HoFH. L'HoFH è un disordine genetico raro, a trasmissione autosomica dominante, associato a una elevazione severa dei livelli di LDL-C e, conseguentemente, aterosclerosi accelerata. I risultati di questo studio hanno dimostrato come la terapia con Evinacumab in questi pazienti ha determinato una riduzione marcata nei livelli di LDL-C, di TG e di HDL-C di circa 50, 47 e 36% rispettivamente. Questi dati hanno inoltre dimostrato sorprendentemente come l'efficacia dell'inibizione di ANGPTL3 sui livelli di LDL-C sia indipendente dall'attività residua del recettore dell'LDL epatico sfruttando un meccanismo indipendente da questa via (44). Considerati questi ri-

sultati promettenti, l'Evinacumab è stato testato nei pazienti con ipercolesterolemia familiare omozigote (studio ELIPSE HoFH (Tabella 1)). Lo studio ELIPSE è uno studio di fase III (45), in doppio cieco controllato con placebo, volto a valutare l'efficacia e la sicurezza del Evinacumab in 65 pazienti con HoFH indipendentemente dal genotipo e dalla terapia farmacologica ipolipemizzante di *background* (LLT). I risultati di questo studio hanno evidenziato che la somministrazione mensile di Evinacumab *on top* alla terapia ipolipemizzante di *background* ha determinato una riduzione della colesterolemia a 24 settimane del 49%. Ancora più importante, la riduzione dell'LDL-C era indipendente dall'attività residua dell'LDLR con i pazienti HoFH portatori di varianti LDLR null/null che presentavano una riduzione dell'LDL-C di circa il 70% rispetto al placebo. L'analisi combinata della sicurezza degli studi controllati con placebo con Evinacumab ha dimostrato che le reazioni avverse più comuni (> 3% dei pazienti) dopo 24 settimane di terapia erano rinofaringite (16% vs 13%), malattia simile all'influenza (7% vs 6%), vertigini (6% vs 0%), rinorrea (5% vs 0%), nausea (5% vs 2%), dolore alle estremità (4% vs 0% placebo), e astenia (4% vs 0%). Pertanto, l'Evinacumab può offrire un'opzione sicura ed efficace per migliorare significativamente il controllo delle lipoproteine aterogene e quindi ridurre gli eventi cardiovascolari nei pazienti con HoFH. Sulla base di queste evidenze, la Food and Drug Administration (FDA) e la European Medicine Agency (EMA) hanno approvato la terapia con Evinacumab (Evkeeza) come trattamento aggiuntivo per i pazienti HoFH di età pari o superiore a 12 anni (46). La dose raccomandata è di 15 mg/kg somministrata per infusione endovenosa nell'arco di 60 minuti una volta al mese (ogni 4 settimane).



## Vupanorsen

In modelli murini, l'inibizione duale dell'mRNA di *ANGPTL3* e PCSK9 mediante siRNA iniettato in topi con deficit di LDLR in eterozigosi induceva una riduzione di LDL-C che era superiore e cumulativa rispetto a quanto ottenuto con l'inibizione del solo RNA messaggero mRNA per PCSK9 o del solo mRNA per *ANGPTL3* (38). Inoltre, il silenziamento dell'RNA di *ANGPTL3*, sempre nel modello murino, ha mostrato una importante riduzione nel numero e nella dimensione delle VLDL (47), mentre non garantiva una robusta riduzione di LDL-C in modelli murini con delezione di EL (48). Queste preliminari osservazioni hanno suggerito due punti fondamentali:

- direzionare il trattamento contro il trascritto epatico di *ANGPTL3* permette delle convincenti riduzioni di LDL-C, anche in assenza di LDLR;
- tale effetto è per lo più conseguente all'aumento del catabolismo di tutte le lipoproteine contenenti ApoB (38). Due conclusioni importanti che hanno aperto la strada verso lo sviluppo del primo oligonucleotide antisense (ASO) diretto contro l'mRNA di *ANGPTL3*: Vupanorsen (IONIS-*ANGPTL3*-LRx o AKCEA-*ANGPTL3*-LRx) (Figura 2).

Questo ASO è di "seconda generazione" in quanto coniugato a una molecola di N-Acetylgalactosamine ("Gal-Nac) che permette una completa estrazione epatica del prodotto, oltre che una potenza quindi volte superiore rispetto allo stesso prodotto non coniugato (38). L'efficacia di questo prodotto e la sua indipendenza dall'attività residua del recettore delle LDL si è palesata sin da subito in modelli murini di FH (LDLR knock-out) in cui si osservano riduzioni di TG fino a -63% rispetto a *LDLR knock-out* non trattati (47).

L'ancor maggiore specificità epatica permette, inoltre, un importante profilo farmacocinetico di Vupanorsen: questo ASO dimostra una emivita di circa 3-5 settimane con un aumento lineare, dose-dipendente, della concentrazione massima (Cmax) tra 10-60 mg/dose, grazie anche a un ottimo profilo di volume di distribuzione (49).

Tutti questi vantaggi forniti dalla tecnologia Gal-Nac permettono anche un accettabile punto di vista di *safety* e dosi minori necessari per ottenere benefici terapeutici con questo ASO rispetto alle forme non coniugate. Si riducono così le insorgenze di trombocitopenia, principale effetto collaterale osservato, in senso lato, con tutte i prodotti ASO di prima generazione e non è specifico per il trattamento di *ANGPTL3* (38).

In questo paragrafo sono riassunte le principali evidenze relative a efficacia e sicurezza di Vupanorsen nell'uomo (Tabella 2).

Vupanorsen è stato testato per la prima volta in uno studio clinico randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, di fase I (49), progettato per valutare la sicurezza, il profilo degli effetti collaterali, la farmacocinetica e la farmacodinamica di dosi singole crescenti e dosi multiple crescenti di *ANGPTL3*-LRx in 44 adulti affetti da ipertrigliceridemia tra 90-150 o >150 mg/dl a seconda della coorte. I risultati di questo studio hanno indicato che l'inibizione epatica di *ANGPTL3* determinava una riduzione dei trigliceridi (32.2-63.1%), dei livelli di colesterolo di LDL (1.3-32.9%) e dei livelli di apolipoproteina C-III (18.9-58.8%). Successivamente, uno studio di fase II in doppio cieco (50), controllato con placebo, ha testato questo farmaco in un ampio spettro di soggetti (N = 105):

- 1) con elevati livelli di TG plasmatici a digiuno (> 150mg/dL);

**Tabella 2 - Riassunto degli studi di Fase I e di Fase II che hanno valutato l'effetto di Vupanorsen sui principali marcatori lipidici circolanti.**

La tabella riporta, sia per gli studi di Fase I sia per gli studi di Fase II, il codice (NCT), il riassunto sommario del disegno e i risultati principali (riduzioni medie dei diversi marcatori lipidici).

Studi di Fase-I		
Studio	Disegno	Risultati principali
NCT02709850	44 volontari sani (TG 90-150 mg/dl). Studio "single ascending dose" [SAD] 20, 40, o 80 mg sottocute. Associato a studio "multiple ascending dose". [MAD] 10, 20, 40, or 60 mg a settimana per 6 settimane.	TG: - (33,2% - 63,1%) LDL-C: - (1,3% - 32,9%) VLDL-C: - (27,9% - 60,0%) Non-HDL-C: - (10% - 36%) ApoB: - (3,4% - 25,7%) ApoCIII: - (18,9% - 58,8%)
Studi di Fase-II		
Gaudet D et al. Eur Heart J 2020	105 pazienti con TG >150 mg/dL, diabete di tipo 2 e steatosi epatica. 6 mesi con 40 o 80 mg ogni 4 settimane (Q4W) o 20 mg ogni settimana (QW).	TG: -36% con 40 mg Q4W TG: -53% con 80 mg Q4W TG: -47% con 20 mg QW Colesterolo totale: -19% con 80 Q4W; colesterolo "remnant": -38% con 80 mg Q4W non-HDL-C: -18% con 80 mg Q4W.
NCT03360747	3 pazienti FCS	dati ongoing

2) diabete di tipo 2 con HbA1c >6,5% e 10%;  
3) steatosi epatica [frazione di grasso epatico (HFF) >8% quantizzata mediante risonanza magnetica (MRI)].

I pazienti sono stati trattati per 6 mesi con placebo o Vupanorsen somministrato per via sottocutanea alle dosi di 40 o 80 mg ogni 4 settimane (Q4W), o 20 mg ogni settimana (QW). I risultati di questo studio hanno indicato che la riduzione massima dei livelli di trigliceridi del 53% rispetto alla *baseline* veniva ottenuta con la dose di 80mg Q4W ed era associata a una riduzione di LDL-C di circa 7%. Va notato che il trattamento con Vupanorsen non è stato associato ad alcun cambiamento significativo nella conta piastrinica con reazioni a livello del sito d'iniezione generalmente lievi. Uno studio di fase II, recentemente concluso, ha valutato l'efficacia del Vupanorsen nel ridurre i livelli dei trigliceridi nei soggetti con sindrome chilomicronemica familiare (NCT03360747 (51)), ma i risultati non sono al momento disponibili. Le aziende produttrici hanno recentemen-

te annunciato la sospensione del programma di sviluppo clinico di Vupanorsen (52). L'azienda ha preso questa decisione dopo una revisione approfondita dei dati derivanti dallo studio di fase 2b, multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, di soggetti con dislipidemia trattati con statine - noto anche come TRANSLATE-TIMI 70 dall'acronimo di *TaRgeting ANGPTL3 with an aNTiSense oLigonucleotide in AdultS with dyslipidemia* (53). Lo studio ha raggiunto il suo obiettivo primario di verificare la presenza di una riduzione statisticamente significativa del "colesterolo non-HDL" ("non-HDL-C", sottrazione matematica di HDL-C dal colesterolo totale plasmatico) e dei trigliceridi e di angptl3. Tuttavia, l'entità della riduzione di non-HDL-C e dei TG osservata non ha sostenuto la continuazione del programma di sviluppo clinico né per la riduzione del rischio cardiovascolare, né per l'ipertrigliceridemia severa. Inoltre, sorprendentemente, il trattamento con Vupanorsen è stato associato con un aumen-

to dose dipendente della steatosi epatica e le dosi elevate sono state associate con un aumento significativo nei livelli di alanina aminotransferasi (ALT) e aminotransferasi dell'aspartato (AST).

### Il futuro di *ANGPTL3*: approccio di *gene editing* mediante tecnologia CRISPR-Cas9

La tecnologia "CRISPR-Cas9" scoperto nel 2012, si basa sul meccanismo evolutivamente conservato dei batteri nel produrre trascritti genici per proteggersi da infezioni di DNA esogeno (54, 55). Infatti, questo sistema nei batteri sfrutta i frammenti di DNA CRISPR che, specificamente in questi procarioti (e.g. *Streptococcus Pyogenes*), "guida" l'attività dell'enzima Cas9 per riconoscere e clivare specifiche sequenze di DNA complementari alla sequenza CRISPR. Una volta riconosciuto l'RNA che contiene la sequenza *spacer*, la proteina Cas9 associata a CRISPR riconosce e taglia il frammento patogeno di DNA e introduce specifiche mutazioni in una sequenza *target* del genoma dell'ospite (55). CRISPR-Cas9 permette una specificità di gran lunga superiore rispetto alle più comuni metodiche di silenziamento con vettori virali, generando tagli sul doppio filamento mirati. Inoltre, a differenza degli approcci virali, CRISPR-Cas9 non richiede più l'assemblaggio di complessi proteici ma soltanto la modifica di poche sequenze nucleotidiche della *guide* di RNA, ulteriormente facilitando la specificità. Quest'ultima caratteristica rende la tecnologia CRISPR-Cas9 utile per il trattamento di molecole di non elevato peso molecolare, codificate da regioni di DNA relativamente piccole; requisito, questo, che si allinea bene per un'applicazione su *Angptl3*.

Il primo sistema CRISPR-Cas9 contro *ANGPTL3* ha rappresentato anche un'im-

portante esperienza che ha posto le basi per miglioramenti più "universali" in ambito biotecnologico. Infatti, nell'intento di trattare *angptl3* con CRISPR-Cas9 per la prima volta è stato utilizzato un più specifico *editor* della Cas9 (chiamato "BE3") (Figura 2). Quest'ultimo è stato concepito per superare gli inconvenienti legati a questa tecnologia (vedasi mutagenesi *on-target* e *off-target* data da insufficiente specificità della *guide* di RNA (38)).

Dopo iniezione di BE3 con *guide* dell'RNA verso il codone Gln-135 del gene *ANGPTL3* (BE3-*Angptl3*), in modelli murini si osservava una elevata specificità di *gene editing*, con il 35% in più di alleli di *ANGPTL3* editati, senza evidenza di mutagenesi *off-target*. Questo effetto si associava, in vivo, a -50% della proteina *Angptl3* circolante, a -35% di TG a digiuno e a -20% di colesterolo plasmatico.

In topi LDLR knock-out, BE3-*Angptl3* riduceva significativamente i TG fino a 56% e il colesterolo fino a 51% (56).

Poco è noto, tuttavia, per ciò che concerne il profilo di *safety* di questa tecnologia. È da ricordare che la rarefazione significativa di cellule ematopoietiche nel midollo osseo riscontrato in topi con deficienza genetica di *ANGPTL3* (knock-out) (57, 58), non si osservava con il sistema di *gene editing*.

### Conclusioni

Sino ad oggi, il trattamento delle forme severe di FH, gli HoFH e i portatori in eterozigosi di *mutazioni null* severe (HeFH) è stato limitato dal meccanismo di azione della maggior parte delle strategie ipolipemizzanti, le quali sono volte a aumentare l'attività di LDLR. La lipoproteina aferesi è stata considerata efficace ad oggi, malgrado il profondo impatto negativo sulla qualità di vita del paziente. D'altro canto, l'evolu-

zione terapeutica della Lomitapide, un farmaco inibitore della *Microsomal Triglycerides Transfer Protein*, MTTP), è risultata complicata dall'accumulo epatico di trigliceridi. In aggiunta, mentre l'utilizzo di anticorpi monoclonali contro PCSK9 ha mostrato un vantaggio in alcune forme severe di *mutazioni null* in eterozigosi, che mantengono ancora una minima attività residua di LDLR, Evinacumab ha tutti i presupposti per presentarsi come valida alternativa nelle forme di completo deficit di LDLR.

Da quanto discusso sino ad ora appare chiaro come Angptl3 sia una proteina interessante e che la sua inibizione possa rappresentare un obiettivo terapeutico rivoluzionario nella cura delle dislipidemie e dell'aterosclerosi. Rimangono ancora da chiarire alcuni punti relativamente al suo funzionamento/inibizione (e.g. modalità attraverso il quale si riducono i livelli di LDL, flusso di FFA), nonché l'effettivo beneficio per la prevenzione cardiovascolare.

Innanzitutto, i dati raccolti sino ad oggi sembrerebbero indicare che vi siano delle differenze nella potenza ipolipemizzante tra Evinacumab e Vupanorsen, ma ancora non sappiamo se siano ascrivibili al tipo di strategia terapeutica utilizzata o al protocollo di trattamento.

Inoltre, nonostante i dati preliminari sui soggetti portatori di mutazioni LOF in ANGPTL3 e sull'inibizione farmacologica di ANGPTL3 abbiano mostrato un buon profilo di *safety*, dobbiamo acquisire ancora dati più robusti circa l'utilizzo nel lungo termine. Nel dettaglio di questo aspetto, la sicurezza a livello epatico dell'inibizione ANGPTL3 rimane un quesito ancora meritevole di studi approfonditi, in particolare dopo la decisione di non proseguire lo sviluppo del vupanorsen a causa di questi potenziali effetti avversi. In relazione a questo ultimo punto, abbiamo ancora bisogno di tempo e di *trial* più ampi e con *fol-*

*low-up* più estesi per valutare se questa promettente opzione farmacologica si tradurrà in un reale effetto anti-aterosclerotico. Solo uno studio mono-centro, che ha incluso due soggetti HoFH portatori di mutazioni null/null su LDLR, ha dimostrato che un'aggressiva multi-terapia, che includeva anche Evinacumab, riduceva il volume dell'ateroma coronarico in sei mesi di trattamento (valutato tramite tomografia computerizzata) (NCT03399786) (59).

Quest'ultimo esempio, ci serve anche per volgere alla conclusione di questa breve revisione, indicando come approcci di biotecnologia farmaceutica così avanzati per il trattamento di queste forme severe necessitano di diverse valutazioni critiche, anche in ambito farmaco-economico. Benché accettabile per queste forme a rischio ASCVD molto alto, il costo elevato della terapia richiede una sempre maggiore consapevolezza e caratterizzazione del quadro clinico del paziente, della sua storia familiare e, ove possibile, del quadro genetico. Questo nuovo approccio terapeutico necessita di algoritmi clinici sempre più personalizzati e più oculati che non rinneghino e, anzi, sfruttino, ove possibile, le opzioni terapeutiche esistenti. L'avvento di terapie geniche (vedasi i siRNA contro PCSK9 (60) o le proposte di *gene editing* contro ANGPTL3) aprono scenari futuristici con riduzione delle somministrazioni e, probabilmente, dei costi nel lungo termine. Tuttavia, il continuo accumulo di queste nuove opzioni, senza una visione comprensiva e critica di tutto quello di cui già disponiamo, rischia di far pagare il prezzo di inconvenienti, tra cui il ridotto beneficio assoluto di queste terapie nel tempo e la ridotta aderenza del paziente.

#### *Conflitto di interessi*

Gli autori non riportano conflitti di interesse per la stesura di questo manoscritto.

## RIASSUNTO

Angiopietina-3 (ANGPTL3) è un importante inibitore dell'attività della lipasi lipoproteica e della lipasi endoteliale, rappresentando così un regolatore cruciale del catabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi a molto bassa densità (VLDL) che, in virtù del loro colesterolo residuo ("remnant"), esercitano significativi effetti pro-infiammatori e pro-aterogeni sull'endotelio vascolare.

Le evidenze precliniche (modelli murini di ANGPTL3 "knock-out") hanno dimostrato che l'assenza genetica di questo mediatore si associa a robuste riduzioni di trigliceridi plasmatici e di colesterolo LDL anche in assenza del recettore delle LDL. Questa osservazione è risultata cruciale nel considerare questo *target* per il trattamento delle forme di ipercolesterolemia familiare (FH) omozigote resistenti alle attuali terapie. Pertanto, sono stati sviluppati un anticorpo monoclonale (Evinacumab) diretto contro la forma circolante della proteina e oligonucleotidi antisenso per l'inibizione del trascritto genico (Vupanorsen). Queste due opzioni stanno fornendo convincenti risultati in termini di efficacia e di sicurezza in studi di Fase I, Fase II e Fase III (questi ultimi per Evinacumab). Molti dati sono ancora da acquisire, specialmente quelli riguardanti l'effetto anti-aterosclerotico a lungo-termine, ma vi è molta aspettativa su questo *target* per il quale, per la prima volta in ambito cardiovascolare, si è arrivati molto vicini con l'opzione di *gene editing* attraverso CRISPR-Cas9. Questa revisione vuole riassumere sia le basi molecolari sia i successi, gli aspetti critici e quelli da definire, riguardanti lo sviluppo di questa prospettiva terapeutica così promettente per le dislipidemie severe per le quali, ad oggi, manca una efficace alternativa terapeutica.

**Parole chiave:** *Angiopietina-3, Ipercolesterolemia Familiare Omozigote, Ipertrigliceridemia, anticorpi monoclonali, oligonucleotidi antisenso, CRISPR-Cas9.*

## Bibliografia

- 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. Vol. 41, European Heart Journal. Oxford University Press. 2020; 111-188.
- Sniderman AD, Thanassoulis G, Glavinovic T, Navar AM, Pencina M, Catapano A, et al. Apolipoprotein B Particles and Cardiovascular Disease: A Narrative Review. JAMA Cardiol [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2022 Mar 27]; 4(12): 1287-1295. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31642874/>
- Björnson E, Adiels M, Taskinen MR, Borén J. Kinetics of plasma triglycerides in abdominal obesity. Curr Opin Lipidol [Internet]. 2017 [cited 2022 Feb 28]; 28(1): 11-18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27898581/>
- Baragetti A. La lipemia postprandiale: Dai risultati sperimentali all'intervento terapeutico. 2016 [cited 2022 Mar 27]; 24-35. Available from: [http://www.sefap.it/web/upload/GIFF2016-2\\_24\\_35.pdf](http://www.sefap.it/web/upload/GIFF2016-2_24_35.pdf)
- Klop B, Proctor SD, Mamo JC, Botham KM, Castro Cabezas M. Understanding Postprandial Inflammation and Its Relationship to Lifestyle Behaviour and Metabolic Diseases. Int J Vasc Med [Internet]. 2012 [cited 2019 Mar 22]; 2012: 1-11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21961070>
- Norata GD, Grigore L, Raselli S, Redaelli L, Hamsten A, Maggi F, et al. Post-prandial endothelial dysfunction in hypertriglyceridemic subjects: Molecular mechanisms and gene expression studies. Atherosclerosis [Internet]. 2007 Aug [cited 2018 May 1]; 193 (2): 321-327. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17055512>
- Pirillo A, Norata GD, Catapano AL. Postprandial lipemia as a cardiometabolic risk factor. Curr Med Res Opin [Internet]. 2014 Aug 2 [cited 2019 Mar 22]; 30 (8): 1489-1503. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1185/03007995.2014.909394>
- Berry SE, Valdes AM, Drew DA, Asnicar F, Mazidi M, Wolf J, et al. Human postprandial responses to food and potential for precision nutrition. Nat Med [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2020 Sep 10]; 26 (6): 964-973. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32528151/>
- Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. Br J Nutr [Internet]. 2007 Sep 1 [cited 2019 Sep 3]; 98 (3): 458-473. Available from: [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S000711450774268X/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S000711450774268X/type/journal_article)
- Nordestgaard BG. A Test in Context: Lipid Pro-



- file, Fasting Versus Nonfasting. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Sep 26; 70 (13): 1637-1646.
11. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting Triglycerides and Risk of Myocardial Infarction, Ischemic Heart Disease, and Death in Men and Women. *JAMA* [Internet]. 2007 Jul 18 [cited 2019 Mar 22]; 298 (3): 299. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17635890>
  12. Varbo A, Nordestgaard BG. Nonfasting Triglycerides, Low-Density Lipoprotein Cholesterol, and Heart Failure Risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2018 Feb [cited 2019 Mar 22]; 38 (2): 464-472. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29097364>
  13. Thomsen M, Varbo A, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Low Nonfasting Triglycerides and Reduced All-Cause Mortality: A Mendelian Randomization Study. *Clin Chem* [Internet]. 2014 May 1 [cited 2019 Mar 22]; 60 (5): 737-746. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24436475>
  14. Shulman GI. Ectopic Fat in Insulin Resistance, Dyslipidemia, and Cardiometabolic Disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2014 Sep 18 [cited 2022 Feb 28]; 371 (12): 1131-1141. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmra1011035>
  15. Wu SA, Kersten S, Qi L. Lipoprotein Lipase and Its Regulators: An Unfolding Story. *Trends Endocrinol Metab* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2022 Mar 27]; 32 (1): 48-61. Available from: <http://www.cell.com/article/S104327602030223Xfull-text>
  16. Conklin D, Gilbertson D, Taft DW, Maurer MF, Whitmore TE, Smith DL, et al. Identification of a mammalian angiopoietin-related protein expressed specifically in liver. *Genomics* [Internet]. 1999 Dec 15 [cited 2022 Mar 27]; 62 (3): 477-482. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10644446/>
  17. Bini S, D'Erasmo L, Di Costanzo A, Minicocci I, Pecce V, Arca M. The Interplay between Angiopoietin-Like Proteins and Adipose Tissue: Another Piece of the Relationship between Adiposity and Cardiometabolic Diseases? *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Jan 2 [cited 2022 Mar 27]; 22 (2): 1-16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33451033/>
  18. Kaplan R, Zhang T, Hernandez M, Xiaodong Gan F, Wright SD, Waters MG, et al. Regulation of the angiopoietin-like protein 3 gene by LXR. *J Lipid Res* [Internet]. 2003 Jan 1 [cited 2022 Feb 28]; 44 (1): 136-143. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12518032/>
  19. Inukai K, Nakashima Y, Watanabe M, Kurihara S, Awata T, Katagiri H, et al. ANGPTL3 is increased in both insulin-deficient and -resistant diabetic states. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2004 May 14 [cited 2022 Mar 27]; 317 (4): 1075-1079. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15094378/>
  20. Shimamura M, Matsuda M, Ando Y, Koishi R, Yasumo H, et al. Leptin and insulin down-regulate angiopoietin-like protein 3, a plasma triglyceride-increasing factor. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2004 Sep 24 [cited 2022 Mar 27]; 322 (3): 1080-1085. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15336575/>
  21. Fugier C, Tousaint JJ, Prieur X, Plateroti M, Samarut J, Delerive P. The lipoprotein lipase inhibitor ANGPTL3 is negatively regulated by thyroid hormone. *J Biol Chem* [Internet]. 2006 Apr 28 [cited 2022 Mar 27]; 281 (17): 11553-11559. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16505486/>
  22. Romeo S, Yin W, Kozlitina J, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Hobbs HH, et al. Rare loss-of-function mutations in ANGPTL family members contribute to plasma triglyceride levels in humans. *J Clin Invest* [Internet]. 2009 Jan 5 [cited 2022 Mar 27]; 119 (1): 70-79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19075393/>
  23. Li Y, Sun L, Xu H, Fang Z, Yao W, et al. Angiopoietin-like protein 3 modulates barrier properties of human glomerular endothelial cells through a possible signaling pathway involving phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B and integrin  $\alpha$ V $\beta$ 3. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* [Internet]. 2008 Jun [cited 2022 Mar 27]; 40 (6): 459-465. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18535744/>
  24. Dai R, Lin Y, Liu H, Rao J, Zhai Y, Zha X, et al. A vital role for Angptl3 in the PAN-induced podocyte loss by affecting detachment and apoptosis in vitro. *BMC Nephrol* [Internet]. 2015 Mar 29 [cited 2022 Mar 27]; 16 (1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25884163/>
  25. Lin Y, Rao J, Zha XL, Xu H. Angiopoietin-like 3 induces podocyte F-actin rearrangement through integrin  $\alpha$ (V) $\beta$ 3/FAK/PI3K pathway-mediated Rac1 activation. *Biomed Res Int* [Internet]. 2013 [cited 2022 Mar 27]; 2013. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24294595/>
  26. Camenisch G, Pisabarro MT, Sherman D, Kowalski J, Nagel M, Hass P, et al. ANGPTL3 stimulates endothelial cell adhesion and migration via integrin  $\alpha$  v $\beta$  3 and induces blood vessel formation in vivo. *J Biol Chem* [Internet]. 2002 May 10 [cited 2022 Mar 27]; 277 (19): 17281-17290. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11877390/>

27. Ono M, Shimizugawa T, Shimamura M, Yoshida K, Noji-Sakikawa C, Ando Y, et al. Protein region important for regulation of lipid metabolism in angiopoietin-like 3 (ANGPTL3): ANGPTL3 is cleaved and activated in vivo. *J Biol Chem* [Internet]. 2003 Oct 24 [cited 2022 Mar 27]; 278 (43): 41804-41809. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12909640/>
28. Dongiovanni P, Meroni M, Baselli G, Mancina RM, Ruscica M, Longo M, et al. PCSK7 gene variation bridges atherogenic dyslipidemia with hepatic inflammation in NAFLD patients. *J Lipid Res* [Internet]. 2019 [cited 2022 Mar 27]; 60 (6): 1144-1153. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30918065/>
29. Fujimoto K, Koishi R, Shimizugawa T, Ando Y. Angptl3-null mice show low plasma lipid concentrations by enhanced lipoprotein lipase activity. *Exp Anim* [Internet]. 2006 Mar 1 [cited 2022 Mar 27]; 55 (1): 27-34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16508209/>
30. Shimizugawa T, Ono M, Shimamura M, Yoshida K, Ando Y, Koishi R, et al. ANGPTL3 decreases very low density lipoprotein triglyceride clearance by inhibition of lipoprotein lipase. *J Biol Chem* [Internet]. 2002 Sep 13 [cited 2022 Mar 27]; 277 (37): 33742-337428. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12097324/>
31. Shimamura M, Matsuda M, Kobayashi S, Ando Y, Ono M, Koishi R, et al. Angiopoietin-like protein 3, a hepatic secretory factor, activates lipolysis in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2003 Feb 7 [cited 2022 Mar 27]; 301 (2): 604-609. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12565906/>
32. Wang Y, McNutt MC, Banfi S, Levin MG, Holland WL, Gusarova V, et al. Hepatic ANGPTL3 regulates adipose tissue energy homeostasis. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2015 Sep 15 [cited 2022 Mar 27]; 112 (37): 11630-11635. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26305978/>
33. Wang Y, Gusarova V, Banfi S, Gromada J, Cohen JC, Hobbs HH. Inactivation of ANGPTL3 reduces hepatic VLDL-triglyceride secretion. *J Lipid Res* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2022 Mar 27]; 56 (7): 1296-1307. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25954050/>
34. Musunuru K, Pirruccello JP, Do R, Peloso GM, Guiducci C, Sougnez C, et al. Exome sequencing, ANGPTL3 mutations, and familial combined hypolipidemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2010 Dec 2 [cited 2022 Mar 27]; 363 (23): 2220-2227. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20942659/>
35. Minicocci I, Santini S, Cantisani V, Stitzel N, Kathiresan S, Arroyo JA, et al. Clinical characteristics and plasma lipids in subjects with familial combined hypolipidemia: a pooled analysis. *J Lipid Res* [Internet]. 2013 Dec [cited 2022 Mar 27]; 54 (12): 3481-3490. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24058201/>
36. Minicocci I, Tikka A, Poggiogalle E, Metso J, Montali A, Ceci F, et al. Effects of angiopoietin-like protein 3 deficiency on postprandial lipid and lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2022 Mar 27]; 57 (6): 1097-1107. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27040449/>
37. Stitzel NO, Khera A V., Wang X, Bierhals AJ, Vourakis AC, et al. ANGPTL3 Deficiency and Protection Against Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2017 Apr 25 [cited 2022 Mar 27]; 69 (16): 2054-2063. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28385496/>
38. Bellosta S, Rossi C, Alieva AS, Catapano AL, Corsini A, Baragetti A. Cholesterol Lowering Biotechnological Strategies: From Monoclonal Antibodies to Antisense Therapies. A Pre-Clinical Perspective Review. *Cardiovasc drugs Ther* [Internet]. 2022 [cited 2022 Mar 27]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35022949/>
39. Dewey FE, Gusarova V, Dunbar RL, O'Dushlaine C, Schurmann C, Gottesman O, et al. Genetic and Pharmacologic Inactivation of ANGPTL3 and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2017 Jul 20 [cited 2022 Mar 27]; 377 (3): 211-221. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28538136/>
40. Ahmad Z, Banerjee P, Hamon S, Chan KC, Bouzelmat A, Sasiela WJ, et al. Inhibition of Angiopoietin-Like Protein 3 With a Monoclonal Antibody Reduces Triglycerides in Hypertriglyceridemia. *Circulation* [Internet]. 2019 Aug 6 [cited 2022 Mar 27]; 140 (6): 470-486. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31242752/>
41. Evinacumab Lowers Triglycerides in Severe Hypertriglyceridemia | tctmd.com [Internet]. [cited 2022 Mar 27]. Available from: <https://www.tctmd.com/news/evinacumab-lowers-triglycerides-severe-hypertriglyceridemia>
42. Rosenson RS, Burgess LJ, Ebenbichler CF, Baum SJ, Stroes ESG, Ali S, et al. Evinacumab in Patients with Refractory Hypercholesterolemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Dec 10 [cited 2022 Mar 27]; 383 (24): 2307-2319. Available from: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2031049>
43. Gaudet D, Gipe DA, Pordy R, Ahmad Z, Cuchel M, Shah PK, et al. ANGPTL3 Inhibition in Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2017 Jul 20 [cited 2022

- Mar 27]; 377 (3): 296-297. Available from: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM1705994>
44. Banerjee P, Chan KC, Tarabocchia M, Benito-Vicente A, Alves AC, Uribe KB, et al. Functional analysis of LDLR (low-density lipoprotein receptor) variants in patient lymphocytes to assess the effect of evinacumab in homozygous familial hypercholesterolemia patients with a spectrum of LDLR activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2019 [cited 2022 Mar 27]; 39 (11): 2248-2260. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/ATVBAHA.119.313051>
  45. Raal FJ, Rosenson RS, Reeskamp LF, Hovingh GK, Kastelein JJP, et al. Evinacumab for Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Aug 20 [cited 2022 Mar 2]; 383 (8): 711-720. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32813947/>
  46. Markham A. Evinacumab: First Approval. *Drugs* 2021 819 [Internet]. 2021 May 18 [cited 2022 Mar 27]; 81 (9): 1101-1105. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40265-021-01516-y>
  47. Adam RC, Mintah IJ, Alexa-Braun CA, Shihani LM, Lee JS, Banerjee P, et al. Angiotensin-like protein 3 governs LDL-cholesterol levels through endothelial lipase-dependent VLDL clearance. *J Lipid Res.* 2020 Sep; 61 (9): 1271-1286.
  48. Wu L, Soundarapandian MM, Castoreno AB, Millar JS, Rader DJ. LDL-Cholesterol Reduction by ANGPTL3 Inhibition in Mice Is Dependent on Endothelial Lipase. *Circ Res.* 2020 Sep; 127 (8): 1112-1114.
  49. Graham MJ, Lee RG, Brandt TA, Tai L-J, Fu W, Peralta R, et al. Cardiovascular and Metabolic Effects of ANGPTL3 Antisense Oligonucleotides. *N Engl J Med.* 2017 Jul; 377 (3): 222-232.
  50. Gaudet D, Karwowska-Prokopczuk E, Baum SJ, Hurh E, Kingsbury J, Bartlett VJ, et al. Vupanorsen, an N-acetyl galactosamine-conjugated antisense drug to ANGPTL3 mRNA, lowers triglycerides and atherogenic lipoproteins in patients with diabetes, hepatic steatosis, and hypertriglyceridaemia. *Eur Heart J* [Internet]. 2020 Oct 21 [cited 2022 Mar 2]; 41 (40): 3936-3945. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32860031/>
  51. Phase 2 Study of AKCEA-ANGPTL3-LRx (ISIS 703802) in Participants With Familial Chylomicronemia Syndrome (FCS) - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2022 Mar 27]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03360747>
  52. Pfizer and Ionis Announce Discontinuation of Vupanorsen Clinical Development Program | Pfizer [Internet]. [cited 2022 Mar 27]. Available from: <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-ionis-announce-discontinuation-Vupanorsen>
  53. A Dose-Ranging Study With Vupanorsen (TRANSLATE-TIMI 70) - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2022 Mar 27]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04516291>
  54. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* (80-) [Internet]. 2012 Aug 17 [cited 2021 Apr 8]; 337 (6096): 816-821. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22745249/>
  55. Zalatan JG, Lee ME, Almeida R, Gilbert LA, Whitehead EH, La Russa M, et al. Engineering complex synthetic transcriptional programs with CRISPR RNA scaffolds. *Cell* [Internet]. 2015 Jan 15 [cited 2021 May 10]; 160 (1-2): 339-350. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25533786/>
  56. Chadwick AC, Evitt NH, Lv W, Musunuru K. Reduced blood lipid levels with in vivo CRISPR-Cas9 base editing of ANGPTL3 [Internet]. Vol. 137, *Circulation*. Lippincott Williams and Wilkins; 2018 [cited 2021 Apr 8]; 975-977. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29483174/>
  57. Zheng J, Huynh HD, Umikawa M, Silvany R, Zhang CC. Angiotensin-like protein 3 supports the activity of hematopoietic stem cells in the bone marrow niche. *Blood* [Internet]. 2011 Jan 13 [cited 2021 Apr 8]; 117 (2): 470-479. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20959605/>
  58. Zhang CC, Kaba M, Ge G, Xie K, Tong W, Hug C, et al. Angiotensin-like proteins stimulate ex vivo expansion of hematopoietic stem cells. *Nat Med* [Internet]. 2006 Mar 14 [cited 2022 Mar 2]; 12 (2): 240-245. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16429146/>
  59. Reeskamp LF, Nurmohamed NS, Bom MJ, Planken RN, Driessen RS, van Diemen PA, et al. Marked plaque regression in homozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2022 Mar 2]; 327: 13-17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34004483/>
  60. Ray KK, Landmesser U, Leiter LA, Kallend D, Dufour R, Karakas M, et al. Inclisiran in Patients at High Cardiovascular Risk with Elevated LDL Cholesterol. *N Engl J Med.* 2017; 376 (15): 1430-1440.

**METANALISI ORIGINALE**

# SICUREZZA EPATICA DELLE STATINE NELLA STEATOSI EPATICA NON ALCOLICA. UNA REVISIONE SISTEMATICA E METANALISI

## Hepatic safety of statins in nonalcoholic fatty liver disease. A systematic review and meta-analysis

MATTIA CORONATI<sup>1</sup>, ARIANNA PANI<sup>2</sup>, ARIANNA DI ROCCO<sup>3</sup>, DANILO MENICHELLI<sup>1</sup>, GIANLUCA GAZZANIGA<sup>2</sup>, ALESSIO FARCOMENI<sup>4</sup>, LAURA D'ERASMO<sup>5</sup>, FRANCESCO ANGELICO<sup>3</sup>, MARIA DEL BEN<sup>1</sup>, FRANCESCO BARATTA<sup>1</sup>, DANIELE PASTORI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Cliniche, Internistiche, Anestesiologiche e Cardiovascolari, Sapienza Università di Roma;

<sup>2</sup>Unità di Farmacologia Clinica, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano;

<sup>3</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sapienza Università di Roma;

<sup>4</sup>Dipartimento di Economia e Finanza, Università di Roma Tor Vergata, Roma;

<sup>5</sup>Dipartimento di Medicina Traslazionale e di Precisione, Sapienza Università di Roma

**SUMMARY**

**Background.** The hepatic safety of statins in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is not well established. We analyzed the differences in liver function tests, including alanine transaminase aminotransferase (ALT), aspartate transaminase (AST), and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) in NAFLD patients, whether they were treated with statins.

**Methods.** Systematic review of MEDLINE via PubMed and EMBASE databases with meta-analyses of clinical trials investigating ALT, AST and GGT levels in NAFLD for statin treatment. The mean difference (MD) and the mean percentage change were calculated in the two groups.

**Results.** We included 22 studies totaling 2,345 patients with NAFLD. Overall, 16 studies were pre- and post-intervention, 5 cross-sectional and 1 combined cross-intervention / intervention study. In all but one of the intervention studies, patients had elevated baseline ALT, AST, and GGT levels.

Intervention studies showed decreased ALT values with an MD reduction of -27.2 U / L (95% CI -35.25 / -19.15) and an MD percentage reduction of -35.41% (95% CI -44.78 / -26.04). Additionally, AST values decreased after statin treatment in intervention studies with a MD of -18.82 U / L (95% CI -25.63 / -12.02) (percentage -31.78% 95% CI -41.45 / -22.11). Similarly, GGT levels decreased after statin treatment with a MD of -19.93 U / L (95% CI -27.10 / -12.77) (percentage -25.57% 95% CI -35.18 / -15.97). Cross-sectional studies showed no differences between AST and GGT values in patients with and without statins.

**Conclusions.** In the intervention studies, ALT, AST and GGT decreased after statin treatment with a mean percent difference of -35.41%, -31.78%, and -25.57%, respectively, while the cross-sectional studies did not show differences. Our data suggest that statins can be used safely in NAFLD patients, even when liver indices are slightly elevated.

**Keywords:** NAFLD, liver, safety, AST, ALT, GGT, statins.



## Introduzione

La prevalenza della steatosi epatica non alcolica (NAFLD) è in continuo aumento specialmente nei paesi occidentali (1) e si prevede che diventerà la principale causa di trapianto di fegato (2).

I pazienti con NAFLD sono spesso caratterizzati dalla presenza di disturbi cardio-metabolici, tra i più frequenti figurano l'alterata glicemia a digiuno/diabete, sovrappeso/obesità e dislipidemia. Queste condizioni definiscono la cosiddetta sindrome metabolica (MetS), di cui la NAFLD è stata a lungo considerata la sua manifestazione epatica (3). La presenza di MetS aumenta il rischio cardiovascolare nei pazienti con NAFLD (4-6). In particolare, la presenza di una dislipidemia aterogena, con elevati livelli di lipoproteine ricche di trigliceridi e bassi livelli di colesterolo lipoproteico ad alta densità (HDL-C), rappresenta un importante fattore di rischio per eventi cardiovascolari (7, 8).

Per tale ragione, ai pazienti NAFLD viene spesso prescritto un trattamento con statine che risulta associato ad una sostanziale riduzione della mortalità cardiovascolare (9-11).

Il trattamento con statine è generalmente sicuro e ben tollerato dai pazienti (12, 13). Tuttavia, una minoranza di pazienti può manifestare effetti collaterali come mialgia, raramente associata a rhabdomiolisi e, meno frequentemente, aumento degli enzimi epatici (14, 15). Pertanto, aumenti asintomatici e transitori delle aminotransferasi potrebbero verificarsi nello 0,1-3% dei pazienti mentre l'insufficienza epatica fulminante è un evento estremamente raro (2 su 1 milione di pa-

zienti trattati) (16). Il tasso di interruzione del trattamento dei pazienti a causa di questi effetti è variabile: oscilla dall'1,8%[17] al 12% (18) ed è particolarmente associato ad un successivo aumento del rischio di complicanze cardiovascolari (19).

La prescrizione di statine può essere difficile nei pazienti con malattia epatica cronica, specialmente quando è presente un aumento degli enzimi epatici (20, 21). Nonostante un consenso comune sul fatto che le statine possano essere prescritte in modo sicuro ai pazienti affetti da NAFLD (22), mancano ancora dati concreti a sostegno di questa raccomandazione.

Abbiamo eseguito una revisione sistematica e una metanalisi di studi clinici che indagano la sicurezza del trattamento con statine nei pazienti con NAFLD. In particolare, è stato analizzato l'effetto della terapia con statine sui livelli di alanina aminotransferasi (ALT), aspartato transaminasi (AST) e gamma-glutamyl transferasi (GGT).

## Metodi

### *Selezione degli studi per l'inclusione*

Abbiamo condotto una revisione sistematica della letteratura cercando su MEDLINE, tramite i *database* PubMed ed EMBASE per studi osservazionali, randomizzati (RCT) e pre-post intervento, utilizzando una combinazione dei seguenti termini e parole chiave MESH per PubMed: *following MESH terms and keywords for PubMed*: "NAFLD", "hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitors", "statins", "pitavastatin", "lovastatin", "fluvastatin", "simvastatin", "atorvastatin", "transaminases", "aspartate aminotransferases", "alanine transaminase", "gamma-glutamyl-transferase", "AST", "ALT", "GGT", "liver enzymes" and "liver function tests".

La ricerca su EMBASE includeva i seguenti Emtree e parole chiave: "hydroxy-

*Indirizzo per la corrispondenza*

Daniele Pastori

E-mail: daniele.pastori@uniroma1.it



methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor” AND “nonalcoholic fatty liver” AND “human”/de AND (“article”/it OR “article in press”/it) AND “clinical article”/de, riportando 21 risultati.

L'ultima ricerca è stata eseguita il 24 aprile 2020. La ricerca è stata eseguita senza limiti temporali.

#### *Tipologia di studi per l'inclusione*

Abbiamo incluso tutti gli articoli clinici che riportavano il valore delle transaminasi prima e dopo la somministrazione di statine e studi caso-controllo che riportavano il valore delle transaminasi sia nei casi che nei controlli. Abbiamo incluso solo articoli di riviste in lingua inglese con testo completo disponibile. Sono stati esclusi studi che comprendevano meno di 15 pazienti. Abbiamo escluso: *case report / series*, editoriali / commenti, lettere, revisioni, metanalisi e studi sperimentali. Infine, abbiamo escluso gli studi di intervento che testavano l'effetto delle statine in associazione con altri farmaci. Quando uno studio riportava sia i dati derivati dalle statine da sole che combinate con altri farmaci, solo i primi dati sono stati inclusi nella metanalisi. Non è stato trovato alcun RCT. Abbiamo incluso 22 studi (16 studi pre-post-intervento, 5 studi trasversali e 1 studio che riportava sia dati trasversali che interventistici).

#### *Selezione degli studi*

Il processo di selezione degli studi è stato eseguito secondo le linee guida PRISMA. Due medici (FB, DP) hanno esaminato in modo indipendente i titoli e gli *abstract* dei manoscritti individuati attraverso le ricerche nel *database* per identificare gli studi potenzialmente idonei a un'ulteriore valutazione. Un terzo medico (MDB) ha esaminato gli studi idonei in termini di adeguatezza e completezza. La selezione dello studio è stata eseguita in più fasi. Nella prima fase

studi potenzialmente rilevanti sono stati ottenuti tramite ricerche combinate di banche dati elettroniche utilizzando le parole chiave sopra menzionate. Successivamente, sono stati esclusi gli studi non in lingua inglese, che non coinvolgevano esseri umani o che non affrontavano l'argomento dello studio. Nella seconda fase, gli studi sono stati esaminati e selezionati in base ai criteri di inclusione ed esclusione. Infine, FB e DP hanno raccolto indipendentemente i dati.

#### *Rischio di Bias*

Il rischio di *bias* è stato stimato dal “Risk of Bias Assessment tool for Non-randomized Studies (RoBANS)” (<https://abstracts.cochrane.org/2011-madrid/risk-bias-assessment-tool-non-randomized-studies-robans-development-and-validation-new>) comprendente 6 domini quali:

- punto 1: selezione dei partecipanti (selection bias);
- punto 2: variabili confondenti (confounding bias);
- punto 3: misurazione dell'intervento/esposizione (performance bias);
- punto 4: accecamento della valutazione dei risultati (detection bias);
- punto 5: dati su risultati incompleti (attrition bias);
- punto 6: segnalazione selettiva dei risultati (reporting bias).

#### *Risultati*

Gli *endpoint* considerati erano la differenza media (MD) e le differenze medie percentuali nei livelli di AST, ALT e GGT tra i pazienti che usavano o meno statine.

#### *Analisi dei dati*

Le variabili continue sono state riportate come medie con deviazioni standard (SD). Quando i dati erano riportati come mediane e IQR, le medie e le SD sono state approssimativamente stimate mediante il me-

todo descritto da Wan et al. (23). Le differenze medie, le differenze medie percentuali e il loro errore standard sono stati calcolati per gli studi trasversali. Il metodo delta è stato utilizzato per calcolare l'errore standard asintotico della differenza media percentuale (24). Negli studi pre-post, le medie pre/post-intervento sono state trasformate in una differenza media e in una differenza media percentuale; le deviazioni standard sono state imputate secondo Marinho et al. (25), seguendo le raccomandazioni contenute nel "Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions".

Le stime aggregate sono state ottenute mediante un modello ad effetti casuali. I risultati sono mostrati in *forest plots*, con il 95% di intervallo di confidenza (IC). Un'analisi di sottogruppo è stata eseguita dopo la stratificazione mediante disegno di studio (interventistica vs. osservazionale). L'eterogeneità è stata valutata con la statistica Q e I<sup>2</sup> di Moran e interpretata qualitativamente come bassa (25-50%), moderata (50%-75%) e alta (75%-100%).

Tutte le analisi sono state effettuate utilizzando il *software* R (R Development Core Team) versione 3.6.1, con pacchetti "rmeta" e "metafor". Tutti i valori p erano a due code e il livello di significatività statistica è stato fissato a 0,05.

## Risultati

### Caratteristiche degli studi inclusi

La *Tabella 1* riassume le caratteristiche dello studio, la diagnosi di NAFLD e l'indicazione al trattamento con statine. Non è stato trovato alcun RCT. Abbiamo incluso 22 studi, 16 studi pre-post, 5 trasversali e 1 studio che riportava sia dati al basale che post-intervento (*Tabella 1*).

Sono stati inclusi un totale di 2.345 pazienti affetti da NAFLD, 1.000 provenienti da studi di intervento pre/post e 1.345 da studi osservazionali (*Tabella 1*). In 8 studi di intervento su 16 la diagnosi di NAFLD è stata confermata mediante biopsia, in 4 tramite risultati di *imaging*, in 4 studi attraverso l'incremento sierico degli enzimi

**Tabella 1 – Caratteristiche degli studi inclusi nella metanalisi.**

Anno/ Autore	Progettazione dello studio	Diagnosi NAFLD	Impostazione/ indicazione alla statina	Tipo e dose delle statine	Età (anni)	Donne (%)	Totale pazienti
<b>Studi osservazionali</b>							
2003 Kiyici (39)	Studio interventistico pre-post	Biopsia epatica	Trattamento NAFLD; Incremento ALT	Atorvastatina 10 mg	50.2	55.56	27
2004 Hatzitollos (40)	Studio interventistico pre-post	Biopsia epatica, US e TAC	Dislipidemia mista (Fredrickson tipo IIb); Incremento ALT	Atorvastatina 20 mg	53.0	53.57	28
2006 Antonopoulos (41)	Studio interventistico pre-post	US epatica	Pazienti iperlipidemici	Rosuvastatina 10 mg	56.0	28.30	23
2006 Athyros (42)	Studio interventistico pre-post	US epatica	Assenza di diabete	Atorvastatina 20 mg	60.0	35.00	63
2008 Hyogo (35)	Studio interventistico pre-post	Biopsia epatica	–	Atorvastatina 10 mg	52.5	35.48	31

Continua >>>

Continua &gt;&gt;&gt;

Anno/ Autore	Progettazione dello studio	Diagnosi NAFLD	Impostazione/ indicazione alla statina	Tipo e dose delle statine	Età (anni)	Donne (%)	Totale pazienti
<b>Studi osservazionali</b>							
2009 Abel (43)	Studio interventistico pre-post	ALT >40 U/L o AST >37 U/L negli uomini; ALT o AST >31 U/L nelle donne	Diabete ben controllato	Simvastatina 20 mg	58.6	46.15	26
2010 Kimura (44)	Studio interventistico pre-post	Biopsia epatica	Dislipidemia	Atorvastatina 10 mg	50.2	32.56	43
2010 Greace (45)	Analisi post-hoc RCT	ALT >45 e <135 U/L o AST >37 e <101 U/L	Prevenzione secondaria	Atorvastatina da 10 a 80 mg	60	21	227
2011 Hyogo (46)	Studio interventistico pre-post	Biopsia epatica	–	Pitavastatina 2 mg	50.6	55.00	20
2011 Maroni (26)	Retrospectivo	US epatica e valori anomali degli enzimi epatici (AST ≥33 U/L e/o ALT ≥33 U/L; e/o GGT ≥49 U/L).	Dislipidemia	Atorvastatina (n=19) Simvastatina (n=11) Rosuvastatina (n=10) Fluvastatina (n=2) Lovastatina (n=1)	54.5	30.23	43
2012 Han-1 (47)	Studio interventistico pre-post	Aumento ALT ≥1,25 volte e ≤2,5 volte 40 UI/L	Pazienti iperlipidemici	Atorvastatina 10-20 mg	54.9	46.03	85
2012 Han-2 (47)	Studio interventistico pre-post	Aumento ALT ≥1,25 volte e ≤2,5 volte 40 UI/L	Pazienti iperlipidemici	Pitavastatina 2-4 mg	55.8	46.97	88
2012 Hyogo (48)	Studio interventistico pre-post	Biopsia epatica	Pazienti iperlipidemici	Atorvastatina 10 mg	50.0	33.30	42
2012 Nakahara (49)	Studio interventistico pre-post	Biopsia epatica	Pazienti iperlipidemici	Rosuvastatina 2,5 mg	46.3	57.89	19
2015 Derosa (50)	Studio interventistico pre-post	US epatica	Pazienti normo- colesterolemici ipertesi	Simvastatina 20 mg	–	49.6	139
2017 Occhiali (51)	Studio interventistico pre-post	Biopsia epatica	Prediabete/diabete	Simvastatina (67%) Rosuvastatina (21%) Atorvastatina e Pravastatina (12%)	–	–	19
2017 Cioboată [52]	Studio interventistico pre-post	Biopsia epatica	Pazienti iperlipidemici	Atorvastatina 20 mg	–	–	57
2018 Hadzi- Petrushev (53)	Studio interventistico pre-post	US epatica	–	Atorvastatina 20 mg	43.0	0.00	20

Continua &gt;&gt;&gt;

Continua &gt;&gt;&gt;

Studi trasversali								
Anno/ Autore	Diagnosi NAFLD	Impostazione/ indicazione alla statina	Tipo e dose delle statine	Età (anni)	Donne (%)	Totale pazienti	Statina in atto (n)	Statina non in atto (n)
2006 Dallas Heart Study (54)	Spettroscopia MR	Dallas Heart Study	Simvastatina (48%) Atorvastatina (32%) Pravastatina (12%) Fluvastatina (6%) Cervastatina (1%) Lovastatina (1%)	45.7	–	638	54	584
2007 Ekstedt (55)	Biopsia epatica	Aumento cronico di ALT e AST	Simvastatina (n=11) Atorvastatina (n=5) Pravastatina (n=1)	60.7	29.41	68	17	51
2016 Nascimbeni (56)	Biopsia epatica	Diabete	Atorvastatina (n=82) Rosuvastatina (n=24) Simvastatina (n=23) Pravastatina (n=10) Fluvastatina (n=3) Statine + ezetimibe (n=10)	53.0	60.00	343	154	192
2017 Occhiali (51)	Biopsia epatica	Prediabete/ diabete	8% in terapia ad alta intensità e 79% in terapia ad intensità moderata	50.6	29.70	101	38	63
2017 Del Ben (21)	US epatica	ASCVD	Non segnalato	59.9	35.29	442	230	212
2020 Khoo (57)	US epatica / CT / MR	NAFLD ·	Simvastatina (68,6%) Atorvastatina (21,6%) Rosuvastatina (8,6%) Lovastatina (0,5%) Pravastatina (0,5%)	54.3	47.90	428	185	243

ALT: alanina aminotransferasi, ASCVD: malattia cardiovascolare aterosclerotica, AST: aspartato transaminasi, TC: tomografia computerizzata, GGT: gamma-glutamil transferasi, MR: risonanza magnetica, NAFLD: steatosi epatica non alcolica, US: ultrasuoni.

epatici, e in 2 studi mediante biopsia epatica combinata a US e *imaging* o enzimi epatici (Tabella 1).

L'età media dei pazienti variava dai 43 a 60 anni e la percentuale di donne oscillava dallo 0,0% al 60% (Tabella 1). Per quanto riguarda la tipologia di statina, l'Atorvastatina 10-20 mg era presente in 10 studi, Pitavastatina 2-4 mg in 2, Rosuvastatina 2,5 e 10 mg in 2, due studi hanno utilizzato Simvastatina 20 mg e due studi più di una statina (Maroni et al & Bril et al.). La durata dell'intervento variava dai 3 ai 24 mesi.

#### Rischio di bias degli studi inclusi

Il rischio di *bias* per gli studi pre-post e trasversali è riportato in Figura 1. Tutti gli studi osservazionali sono stati valutati ad alto rischio complessivo di *bias*, dovuto principalmente alla mancanza di *blinding* nella valutazione dei risultati (detection bias) e nella selezione del risultato riportato (reporting bias).

#### ALT, AST e GGT

Tutti i pazienti inclusi negli studi di intervento avevano un valore medio di ALT >40 U/L, AST >35 U/L e GGT >50

Before-After Studies						
Author (year)	Item 1	Item 2	Item 3	Item 4	Item 5	Item 6
Kiyici, 2003	●	●	●	●	●	●
Hatzitollos, 2004	●	●	●	●	●	●
Antonopoulos, 2006	●	●	●	●	●	●
Athyros, 2006	●	●	●	●	●	●
Hyogo, 2008	●	●	●	●	●	●
Abel, 2009	●	●	●	●	●	●
Kimura, 2010	●	●	●	●	●	●
GREACE, 2010	●	●	●	●	●	●
Hyogo, 2011	●	●	●	●	●	●
Maroni, 2011	●	●	●	●	●	●
Han, 2012	●	●	●	●	●	●
Hyogo, 2012	●	●	●	●	●	●
Nakahara, 2012	●	●	●	●	●	●
Derosa, 2015	●	●	●	●	●	●
Bril, 2017	●	●	●	●	●	●
Ciobaată, 2017	●	●	●	●	●	●
Hadzi-Petrushev, 2018	●	●	●	●	●	●
Cross sectional Studies						
Author (year)	Item 1	Item 2	Item 3	Item 4	Item 5	Item 6
Dallas Heart Study, 2006	●	●	●	●	●	●
Ekstedt, 2007	●	●	●	●	●	●
Nascimbeni, 2016	●	●	●	●	●	●
Bril, 2017	●	●	●	●	●	●
Del Ben, 2017	●	●	●	●	●	●
Khoo, 2020	●	●	●	●	●	●

**Figura 1** - Lo strumento "Risk of Bias Assessment per studi non randomizzati" (RoBANS) (rosso: alto rischio, giallo: rischio poco chiaro, verde: basso rischio).

U/L, ad eccezione di Maroni 2011[26] (Tabella 2).

Nei pazienti trattati con statine, la differenza media globale del valore di ALT è stata di -21,82 U/l (95%CI -29,06/-14,58) con una riduzione della MD percentuale del -29,38% (95%CI -37,81/-20,95).

Questa differenza è risultata più evidente negli studi di intervento che hanno mostrato una riduzione media delle ALT di -27,2 U/l (95%CI -35,25/-19,15) e una riduzione della MD percentuale di -35,41% (95%CI -44,78/-26,04), mentre è stata meno significativa in quelli trasversali -5,85 U/l (95%CI -12,19/0,49) (percentuale -12,18 U/l, 95%CI -21,60/-2,75) (Figura 2).

La differenza media globale dei valori di AST nei pazienti trattati con statine è stata di -15,25 U/l (95%CI -21,40/-9,11) con una riduzione MD percentuale del -25,91% (IC 95%-35,17/-16,65). Questa differenza è risultata significativa negli studi di intervento -18,82 U/l (95%CI -25,63/-12,02) (percentuale -31,78% 95%CI -41,45/-22,11) ma non in quelli trasversali (Figura 3).

Per quanto riguarda la GGT, nei pazienti trattati con statine, la differenza media globale è stata di -15,78 U/l (95%CI -23,16/-8,40) con una riduzione percentuale del

**Tabella 2** - Test di funzionalità epatica prima e dopo il trattamento con statine negli studi interventistici (gruppo A) e in pazienti che assumono o meno statine in studi trasversali (gruppo B).

Anno/Autore	ALT prima delle statine	ALT dopo statine	AST prima delle statine	AST dopo statine	GGT prima delle statine	GGT dopo statine
<b>Gruppo A. Studi interventistici</b>						
2003 Kiyici (39)	81.8	44.8	45.4	32.1	64.2	37.2
2004 Hatzitollos (40)	115.0	76.6	68.0	46.0	98.0	33.0
2006 Antonopoulos (41)	90.9	28.30	38.0	30.4	52.0	39.7
2006 Athyros (42)	54.0	32.0	38.0	25.0	52.0	33.0
2008 Hyogo (35)	89.4	35.9	51.1	25.8	87.0	51.0
2009 Abele (43)	66.6	29.5	51.1	25.8	87.0	51.0
2010 Kimura (44)	61.8	56.2	48.9	33.1	90.3	65.0
2010 Greace (45)	57.0	37.0	49.0	26.0	70.0	38.0

Continua >>>



Continua >>>

Anno/Autore	ALT prima delle statine	ALT dopo statine	AST prima delle statine	AST dopo statine	GGT prima delle statine	GGT dopo statine
<b>Gruppo A. Studi interventistici</b>						
2011 Hyogo (46)	102.1	68.2	62.6	41.8	94.5	59.6
2011 Maroni (26)	37.6	44.7	26.3	34.3	59.0	86.5
2012 Han-1 (47)	58.7	53.3	44.5	41.5	79.9	68.8
2012 Han-2 (47)	56.4	51.3	39.5	39.0	75.7	64.8
2012 Hyogo (48)	89.0	56.6	48.0	33.0	90.4	65.1
2012 Nakahara (49)	68.7	50.3	40.1	33.8	78.7	61.4
2015 Derosa-1 (50)	58.0	36.0	36.0	38.0	-	-
2015 Derosa-2 (50)	55.0	38.0	58.0	39.0	-	-
Occhiali 2017 (51)	66.0	38.0	48.0	31.00	-	-
2017 Ciobotă (52)	82.6	43.6	83.1	43.3	53.0	43.1
2018 Hadzi-Petrushev (53)	41.9	30.8	42.7	24.2	-	-
<b>Gruppo B. Studi trasversali</b>						
	ALT con statine	ALT senza statine	AST con statine	AST senza statine	GGT con statine	GGT senza statine
2006 Dallas Heart Study (54)	30.0	25.0	-	-	-	-
2007 Ekstedt (55)	61.0	63.0	35.0	36.0	-	-
2016 Nascimbeni (56)	42.0	39.0	32.0	31.0	50.0	54.0
Occhiali 2017 (51)	75.0	57.0	53.0	43.0	-	-
2017 Del Ben (21)	34.5	29.0	25.8	23.9	44.5	43.8
2020 Khoo (57)	44.3	46.6	31.2	36.8	45.8	54.5

Tutti i valori sono espressi come U/L. Cfr. tabella 1 per le abbreviazioni.

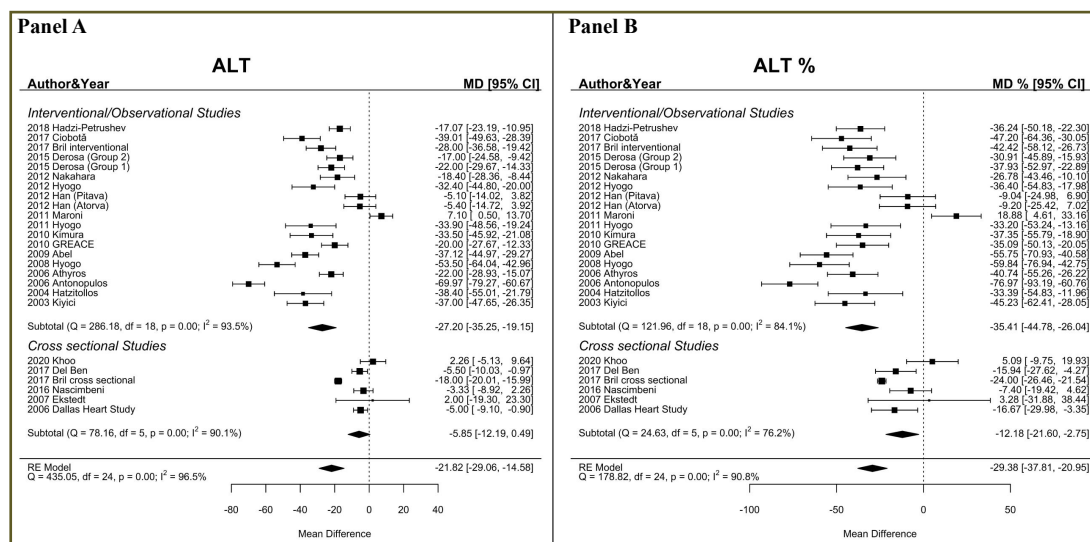


Figura 2 - Variazioni dei livelli di ALT (differenza della media, pannello A; differenza percentuale, pannello B) in base al trattamento con statine.

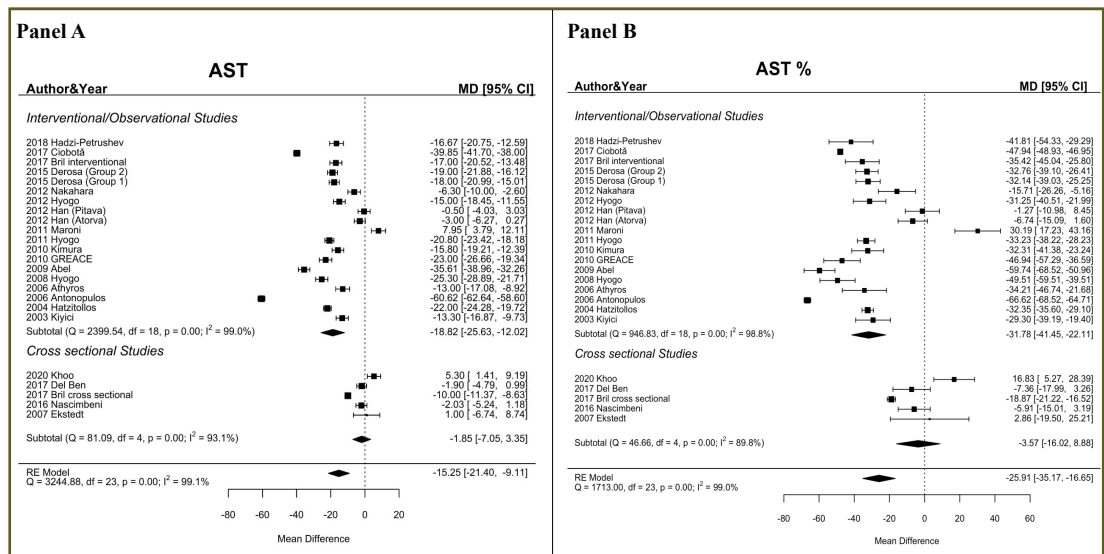


Figura 3 - Variazioni dei livelli di AST (differenza della media, Panel A; differenza percentuale, Panel B) in base al trattamento con statine.

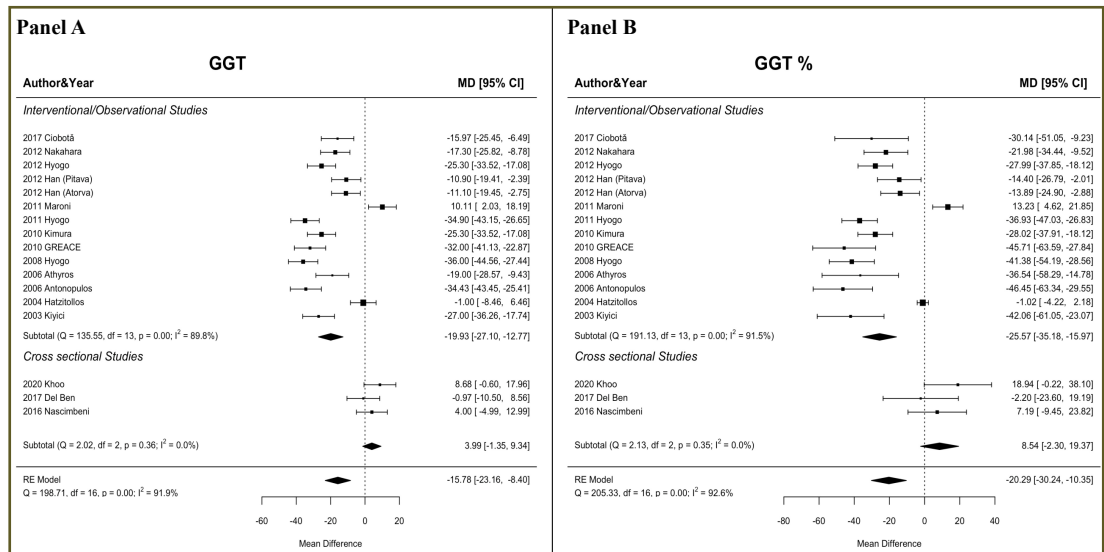


Figura 4 - Variazioni dei livelli di GGT (differenza della media, Panel A; differenza percentuale, Panel B) in base al trattamento con statine.

-20,29% (95%CI -30,24/-10,35). Questa differenza è stata più evidente negli studi di intervento -19,93 U/l (95%CI -27,10/-12,77) (percentuale -25,57% 95%CI -35,18/-15,97), mentre non era significativa in quelli osservazionali (Figura 4).

**Discussione**

Questa metanalisi fornisce dati aggregati riguardo la sicurezza del trattamento con statine nei pazienti con NAFLD. I nostri risultati mostrano che i pazienti con

NAFLD con prescrizione di statine in studi interventistici pre-post hanno avuto una riduzione dei valori basali per tutti gli esiti di sicurezza analizzati (ALT, AST e GGT). Questa evidenza appare ancora più importante se si considera che quasi tutti i pazienti trattati con statine avevano livelli basali di enzimi epatici elevati, rafforzando l'evidenza che la terapia con statine può essere sicura nei pazienti con NAFLD anche quando un danno epatico è clinicamente evidente.

I nostri risultati si aggiungono alle precedenti evidenze emerse da uno studio retrospettivo su 4.024 pazienti iperlipidemici, dove soggetti con elevati livelli di enzimi epatici, trattati con statine, non hanno mostrato alcun aumento del rischio epatotossico (27). Inoltre, dati su oltre 11.000 pazienti provenienti da studi clinici randomizzati hanno mostrato che le statine, in particolare l'atorvastatina, hanno migliorato la NAFLD/NASH e ridotto di due volte gli eventi rispetto ai pazienti con funzionalità epatica normale (28). Infine, nel 2013 una meta-analisi Cochrane, che includeva solo due ridotti RCT, ha mostrato una riduzione degli enzimi epatici dopo l'uso di statine (20).

I nostri dati indicano che i medici non dovrebbero essere scoraggiati a prescrivere statine ai pazienti con NAFLD, anche quando è presente un lieve aumento degli enzimi epatici sierici. Difatti, un danno epatico indotto da farmaci (DILI) clinicamente significativo, causato da statine, risulta molto raro. Bjornsson et al. (29), estraendo i dati dal Comitato Consultivo Svedese per le reazioni avverse, ha rilevato che, nel periodo 1988-2010, solo 1 paziente a cui è stata prescritta la statina ha necessitato di un trapianto di fegato e solo 2 persone sono morte a seguito di un DILI. Inoltre, l'incidenza stimata di DILI (definita da un valore di aminotransferasi 5 volte

maggiore il normale limite superiore (ULN) e/o fosfatasi alcalina  $>2x$  ULN o bilirubina  $>2x$  ULN) è stata di  $1,6 \times 10^{-4}$  anni-persona. La maggior parte dei DILI indotti dalle statine sono conseguenza di un effetto idiosincratco. Tuttavia, essendo la maggior parte delle statine metabolizzate dal CYP3A4, l'uso concomitante di un farmaco che inibisce tale enzima potrebbe favorire l'aumento della concentrazione sierica di atorvastatina, simvastatina e lovastatina e può favorire l'aumento degli enzimi epatici (30, 31). Inoltre, i medici dovrebbero eseguire indagini di laboratorio e strumentali per escludere altre possibili cause responsabili dell'aumento degli enzimi epatici sierici (32).

I meccanismi responsabili dell'associazione benefica tra l'uso di statine e la riduzione degli enzimi epatici possono essere diversi. La riduzione del contenuto lipidico epatico indotta dalle statine potrebbe comportare una minore infiammazione epatica e stress ossidativo, con una minore perossidazione lipidica e formazione di ox-LDL, che risultano aumentati nei pazienti con NAFLD e potrebbero contribuire alla progressione della malattia (33). In uno studio sperimentale, l'atorvastatina è stata associata ad un aumento dell'attività di alcuni enzimi antiossidanti, tra cui superossido dismutasi e glutatione perossidasi (34). Inoltre, i pazienti con NAFLD con prescrizione di atorvastatina per dislipidemia hanno mostrato un aumento dei livelli di adiponectina antinfiammatoria e una riduzione del fattore di necrosi tumorale-alfa (35).

Le statine possono anche esercitare un effetto diretto sul fegato, come suggerito da studi sperimentali che mostrano una modulazione della fibrosi epatica e dell'infiammazione da parte delle statine (36). Tutti questi meccanismi possono giustificare il minor rischio di scompenso epatico e carcinoma epatocellular che è stato de-

scritto in pazienti con malattia epatica trattati con statine (37).

Infine, l'interruzione del trattamento con statine ha comportato un aumento del rischio cardiovascolare in diversi contesti clinici (38), suggerendo che i benefici nel proseguimento del trattamento con statine superano i rischi putativi.

Sfortunatamente, non erano presenti sufficienti dati per comprendere se la riduzione degli enzimi epatici fosse parallela all'abbassamento del colesterolo o se questo effetto fosse correlato ad una azione diretta / pleiotropica delle statine. Inoltre, abbiamo anche ipotizzato che il miglioramento degli enzimi epatici potrebbe essere correlato alla perdita di peso corporeo. Tuttavia, i dati disponibili non supportano questa ipotesi, in quanto solo in uno studio interventistico (Athyros 2006) il BMI è migliorato dopo la terapia con statine mentre in tutti gli altri studi non è stato riportato alcun cambiamento del BMI dopo la terapia con statine.

#### *Punti di forza e limiti*

Nella maggior parte degli studi interventistici, la NAFLD è stata diagnosticata mediante biopsia epatica o tecniche di imaging di secondo livello come la TC o la spettroscopia MR, dando così robustezza ai loro risultati. Al contrario, la diagnosi di NAFLD era più eterogenea negli studi osservazionali, che ricorrevano agli US epatici o ai marcatori biochimici (enzimi epatici, FLI). Ciò è dovuto principalmente al-

l'impossibilità di eseguire la biopsia epatica su grandi popolazioni e ciò può giustificare il diverso risultato tra le due tipologie di studio. Un limite di questa analisi è dovuto alla mancanza di dati provenienti da studi randomizzati controllati (RCT), dato che tutti gli studi interventistici prevedevano interventi a braccio singolo, non in cieco o analisi post-hoc di RCT. Nonostante la maggior parte degli studi abbia utilizzato l'atorvastatina, non è possibile trarre conclusioni sull'effetto delle diverse statine sugli enzimi epatici. Inoltre, nessuno studio ha analizzato l'effetto delle statine ad altissima intensità (atorvastatina 40 mg o rosuvastatina 20 mg) o ha confrontato direttamente l'effetto di diverse statine. Infine, i nostri dati dovrebbero essere interpretati con cautela data l'elevata eterogeneità tra gli studi.

#### **Conclusioni**

La nostra analisi mostra che i pazienti NAFLD, con prescrizione di statine, hanno una significativa riduzione dei livelli di enzimi epatici. Tali dati supportano l'uso sicuro delle statine in questi pazienti.

DP: concettualizzazione e progettazione dello studio, cura dei dati, scrittura, revisione del manoscritto, garante del manoscritto; MC, FB, AP, DM, GG: cura dei dati, scrittura e revisione del manoscritto; ADR e AF: analisi formale e revisione del manoscritto; MC, FA, LDE, MDB: scrittura e revisione del manoscritto.

#### **RIASSUNTO**

**Sfondo.** La sicurezza epatica delle statine nei pazienti con steatosi epatica non alcolica (NAFLD) non è ben definita. Abbiamo analizzato le differenze nei test di funzionalità epatica, tra cui alanina transaminasi aminotransferasi (ALT), aspartato transaminasi (AST) e gamma-glutamyl transpeptidasi (GGT) in pazienti NAFLD, trattati o meno con statine.

**Metodi.** Revisione sistematica su MEDLINE tramite database PubMed e EMBASE con metanalisi di studi clinici che hanno indagato i livelli di ALT, AST e GGT nella NAFLD relativamente al trattamento con statine. Nei due gruppi sono state calcolate la differenza media (MD) e la variazione media percentuale.

**Risultati.** Abbiamo incluso 22 studi per un totale di 2.345 pazienti con NAFLD. Complessivamente, 16 studi erano pre e post-intervento, 5 trasversali e 1 studio combinato trasversale/intervento. In tutti gli studi di intervento, ad eccezione di uno, i pazienti avevano livelli basali di ALT, AST e GGT aumentati. Gli studi di intervento hanno mostrato valori diminuiti di ALT con una riduzione MD di -27,2 U/l (95%IC -35,25/-19,15) e una riduzione percentuale MD di -35,41% (95%CI -44,78/-26,04). Inoltre, i valori di AST si sono ridotti dopo il trattamento con statine negli studi di intervento con una MD di -18,82 U/l (95%CI -25,63/-12,02) (percentuale -31,78% 95%CI -41,45/-22,11). Allo stesso modo, i livelli di GGT si sono ridotti dopo il trattamento con statine con una MD di -19,93 U / l (95% CI -27,10 / -12,77) (percentuale -25,57% 95% CI -35,18 / -15,97). Gli studi trasversali non hanno mostrato differenze tra valori di AST e GGT nei pazienti con e senza statine.

**Conclusioni.** Negli studi di intervento, ALT, AST e GGT si sono ridotti dopo il trattamento con statine con una differenza media percentuale rispettivamente di -35,41%, -31,78% e -25,57% mentre gli studi *cross-sectional* non hanno mostrato differenze. I nostri dati suggeriscono che le statine possono essere utilizzate in modo sicuro nei pazienti con NAFLD, anche quando gli indici epatici sono lievemente aumentati.

**Parole chiave:** NAFLD, fegato, sicurezza, AST, ALT, GGT, statine.

## Bibliografia

1. Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 15: 11-20.
2. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, Perumpail RB, Harrison SA, Younossi ZM, Ahmed A. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology* 2015; 148: 547-555.
3. Angelico F, Del Ben M, Conti R, Francioso S, Feole K, Maccioni D, Antonini TM, Alessandri C. Non-alcoholic fatty liver syndrome: a hepatic consequence of common metabolic diseases. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2003; 18: 588-594.
4. Karajamaki AJ, Bloigu R, Kauma H, Kesaniemi YA, Koivurova OP, Perkiomaki J, Huikuri H, Ukkola O. Non-alcoholic fatty liver disease with and without metabolic syndrome: Different long-term outcomes. *Metabolism: clinical and experimental* 2017; 66: 55-63.
5. Stahl EP, Dhindsa DS, Lee SK, Sandesara PB, Chalasani NP, Sperling LS. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and the Heart: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology* 2019; 73: 948-963.
6. Pastori D, Sciacqua A, Marcucci R, Del Ben M, Baratta F, Violi F, Pignatelli P, group A-As. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), metabolic syndrome and cardiovascular events in atrial fibrillation. A prospective multicenter cohort study. *Internal and emergency medicine* 2021.
7. Pastori D, Baratta F, Novo M, Cocomello N, Violi F, Angelico F, Del Ben M. Remnant Lipoprotein Cholesterol and Cardiovascular and Cerebrovascular Events in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Journal of clinical medicine* 2018; 7.
8. Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Borén J, Catapano AL, Descamps OS, Fisher E, Kovanen PT, Kuivenhoven JA, Lesnik P, Masana L, Nordestgaard BG, Ray KK, Reiner Z, Taskinen MR, Tokgözoğlu L, Tybjaerg-Hansen A, Watts GF, Panel EASC. Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart J* 2011; 32: 1345-1361.
9. Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, Sourjina T, Peto R, Collins R, Simes R, Cholesterol Treatment Trialists C. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005; 366: 1267-1278.
10. Pastori D, Farcomeni A, Milanese A, Del Sole F, Menichelli D, Hiatt WR, Violi F. Statins and Major Adverse Limb Events in Patients with Peripheral Artery Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Thrombosis and haemostasis* 2020; 120: 866-875.
11. Pastori D, Baratta F, Di Rocco A, Farcomeni A, Del Ben M, Angelico F, Violi F, Pignatelli P, Lip GYH. Statin use and mortality in atrial fibrillation: A systematic review and meta-analysis of 100,287 patients. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* 2021; 165: 105418.



12. Mach F, Ray KK, Wiklund O, Corsini A, Catapano AL, Bruckert E, De Backer G, Hegele RA, Hovingh GK, Jacobson TA, Krauss RM, Laufs U, Leiter LA, Marz W, Nordestgaard BG, Raal FJ, Roden M, Santos RD, Stein EA, Stroes ES, Thompson PD, Tokgozoglu L, Vladutiu GD, Gencer B, Stock JK, Ginsberg HN, Chapman MJ, European Atherosclerosis Society Consensus P. Adverse effects of statin therapy: perception vs. the evidence - focus on glucose homeostasis, cognitive, renal and hepatic function, haemorrhagic stroke and cataract. *European heart journal* 2018.
13. Reiner Ž. Statins in the primary prevention of cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol* 2013; 10: 453-64.
14. Adhyaru BB, Jacobson TA. Safety and efficacy of statin therapy. *Nature reviews Cardiology* 2018; 15: 757-69.
15. Šimić I, Reiner Ž. Adverse effects of statins - myths and reality. *Curr Pharm Des* 2015; 21: 1220-1226.
16. Bhardwaj SS, Chalasani N. Lipid-lowering agents that cause drug-induced hepatotoxicity. *Clinics in liver disease* 2007; 11: 597-613, vii.
17. Newman C, Tsai J, Szarek M, Luo D, Gibson E. Comparative safety of atorvastatin 80 mg versus 10 mg derived from analysis of 49 completed trials in 14,236 patients. *The American journal of cardiology* 2006; 97: 61-67.
18. Wei MY, Ito MK, Cohen JD, Brinton EA, Jacobson TA. Predictors of statin adherence, switching, and discontinuation in the USAGE survey: understanding the use of statins in America and gaps in patient education. *Journal of clinical lipidology* 2013; 7: 472-483.
19. Marrs JC, Kostoff MD. Discontinuation of Statins: What Are the Risks? *Curr Atheroscler Rep* 2016; 18: 41.
20. Eslami L, Merat S, Malekzadeh R, Naseri-Moghaddam S, Aramin H. Statins for non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *The Cochrane database of systematic reviews* 2013; 12: CD008623.
21. Del Ben M, Baratta F, Polimeni L, Pastori D, Loffredo L, Averna M, Violi F, Angelico F. Under-prescription of statins in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD* 2017; 27: 161-167.
22. Pastori D, Polimeni L, Baratta F, Pani A, Del Ben M, Angelico F. The efficacy and safety of statins for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2015; 47: 4-11.
23. Wan X, Wang W, Liu J, Tong T. Estimating the sample mean and standard deviation from the sample size, median, range and/or interquartile range. *BMC medical research methodology* 2014; 14: 135.
24. Wolter KM. *Introduction to Variance Estimation*: New York: Springer, 1985.
25. Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *The Cochrane database of systematic reviews* 2003: CD002278.
26. Maroni L, Guasti L, Castiglioni L, Marino F, Contini S, Macchi V, De Leo A, Gaudio G, Tozzi M, Grandi AM, Cosentino M, Venco A. Lipid targets during statin treatment in dyslipidemic patients affected by nonalcoholic fatty liver disease. *The American journal of the medical sciences* 2011; 342: 383-387.
27. Chalasani N, Aljadhey H, Kesterson J, Murray MD, Hall SD. Patients with elevated liver enzymes are not at higher risk for statin hepatotoxicity. *Gastroenterology* 2004; 126: 1287-1292.
28. Doumas M, Imprialos K, Dimakopoulou A, Stavropoulos K, Binas A, Athyros VG. The Role of Statins in the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Current pharmaceutical design* 2018; 24: 4587-4592.
29. Björnsson E, Jacobsen EI, Kalaitzakis E. Hepatotoxicity associated with statins: reports of idiosyncratic liver injury post-marketing. *J Hepatol* 2012; 56: 374-380.
30. Karahalil B, Hare E, Koç G, Uslu İ, Şentürk K, Özkan Y. Hepatotoxicity associated with statins. *Arh Hig Rada Toksikol* 2017; 68: 254-260.
31. Neuvonen PJ, Niemi M, Backman JT. Drug interactions with lipid-lowering drugs: mechanisms and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80: 565-581.
32. Bays H, Cohen DE, Chalasani N, Harrison SA, The National Lipid Association's Statin Safety Task F. An assessment by the Statin Liver Safety Task Force: 2014 update. *Journal of clinical lipidology* 2014; 8: S47-S57.
33. Ferro D, Baratta F, Pastori D, Cocomello N, Colantoni A, Angelico F, Del Ben M. New Insights into the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Gut-Derived Lipopolysaccharides and Oxidative Stress. *Nutrients* 2020; 12.
34. Goodarzi Z, Karami E, Yousefi S, Dehdashti A, Bandegi AR, Ghanbari A. Hepatoprotective effect of atorvastatin on Cadmium chloride induced hepatotoxicity in rats. *Life sciences* 2020; 254: 117770.
35. Hyogo H, Tazuma S, Arihiro K, Iwamoto K, Nabeshima Y, Inoue M, Ishitobi T, Nonaka M, Chayama K. Efficacy of atorvastatin for the

- treatment of nonalcoholic steatohepatitis with dyslipidemia. *Metabolism: clinical and experimental* 2008; 57: 1711-1718.
36. Vargas JI, Arrese M, Shah VH, Arab JP. Use of Statins in Patients with Chronic Liver Disease and Cirrhosis: Current Views and Prospects. *Curr Gastroenterol Rep* 2017; 19: 43.
  37. Kamal S, Khan MA, Seth A, Cholankeril G, Gupta D, Singh U, Kamal F, Howden CW, Stave C, Nair S, Satapathy SK, Ahmed A. Beneficial Effects of Statins on the Rates of Hepatic Fibrosis, Hepatic Decompensation, and Mortality in Chronic Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The American journal of gastroenterology* 2017.
  38. Giral P, Neumann A, Weill A, Coste J. Cardiovascular effect of discontinuing statins for primary prevention at the age of 75 years: a nationwide population-based cohort study in France. *European heart journal* 2019; 40: 3516-3525.
  39. Kiyici M, Gulden M, Gurel S, Nak SG, Dolar E, Savci G, Adim SB, Yerci O, Memik F. Ursodeoxycholic acid and atorvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Canadian journal of gastroenterology = Journal canadien de gastroenterologie* 2003; 17: 713-718.
  40. Hatzitolios A, Savopoulos C, Lazaraki G, Sidiropoulos I, Haritanti P, Lefkopoulou A, Karagiannopoulou G, Tzioufa V, Dimitrios K. Efficacy of omega-3 fatty acids, atorvastatin and orlistat in non-alcoholic fatty liver disease with dyslipidemia. *Indian journal of gastroenterology : official journal of the Indian Society of Gastroenterology* 2004; 23: 131-134.
  41. Antonopoulos S, Mikros S, Mylonopoulou M, Kokkoris S, Giannoulis G. Rosuvastatin as a novel treatment of non-alcoholic fatty liver disease in hyperlipidemic patients. *Atherosclerosis* 2006; 184: 233-234.
  42. Athyros VG, Mikhailidis DP, Didangelos TP, Giouleme OI, Liberopoulos EN, Karagiannis A, Kakafika AI, Tziomalos K, Burroughs AK, Elisaf MS. Effect of multifactorial treatment on non-alcoholic fatty liver disease in metabolic syndrome: a randomised study. *Current medical research and opinion* 2006; 22: 873-883.
  43. Abel T, Feher J, Dinya E, Eldin MG, Kovacs A. Safety and efficacy of combined ezetimibe/simvastatin treatment and simvastatin monotherapy in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 2009; 15: MS6-MS11.
  44. Kimura Y, Hyogo H, Yamagishi S, Takeuchi M, Ishitobi T, Nabeshima Y, Arihiro K, Chayama K. Atorvastatin decreases serum levels of advanced glycation endproducts (AGEs) in non-alcoholic steatohepatitis (NASH) patients with dyslipidemia: clinical usefulness of AGEs as a biomarker for the attenuation of NASH. *Journal of gastroenterology* 2010; 45: 750-757.
  45. Athyros VG, Tziomalos K, Gossios TD, Griva T, Anagnostis P, Kargiotis K, Pagourelis ED, Theocharidou E, Karagiannis A, Mikhailidis DP, Group GSC. Safety and efficacy of long-term statin treatment for cardiovascular events in patients with coronary heart disease and abnormal liver tests in the Greek Atorvastatin and Coronary Heart Disease Evaluation (GREACE) Study: a post-hoc analysis. *Lancet* 2010; 376: 1916-1922.
  46. Hyogo H, Ikegami T, Tokushige K, Hashimoto E, Inui K, Matsuzaki Y, Tokumo H, Hino F, Tazuma S. Efficacy of pitavastatin for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis with dyslipidemia: An open-label, pilot study. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2011; 41: 1057-1065.
  47. Han KH, Rha SW, Kang HJ, Bae JW, Choi BJ, Choi SY, Gwon HC, Bae JH, Hong BK, Choi DH, Han KR. Evaluation of short-term safety and efficacy of HMG-CoA reductase inhibitors in hypercholesterolemic patients with elevated serum alanine transaminase concentrations: PITCH study (PITavastatin versus atorvastatin to evaluate the effect on patients with hypercholesterolemia and mild to moderate hepatic damage). *Journal of clinical lipidology* 2012; 6: 340-351.
  48. Hyogo H, Yamagishi S, Maeda S, Kimura Y, Ishitobi T, Chayama K. Atorvastatin improves disease activity of nonalcoholic steatohepatitis partly through its tumour necrosis factor-alpha-lowering property. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2012; 44: 492-496.
  49. Nakahara T, Hyogo H, Kimura Y, Ishitobi T, Arihiro K, Aikata H, Takahashi S, Chayama K. Efficacy of rosuvastatin for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis with dyslipidemia: An open-label, pilot study. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2012; 42: 1065-1072.
  50. Derosa G, Mugellini A, Pesce RM, D'Angelo A, Maffioli P. Perindopril and barnidipine alone or combined with simvastatin on hepatic steatosis and inflammatory parameters in hypertensive patients. *Eur J Pharmacol* 2015; 766: 31-36.
  51. Bril F, Portillo Sanchez P, Lomonaco R, Orsak B, Hecht J, Tio F, Cusi K. Liver Safety of Statins in Prediabetes or T2DM and Nonalcoholic Steatohepatitis: Post Hoc Analysis of a Randomized

- Trial. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2017; 102: 2950-2961.
52. Cioboată R, Găman A, Trașcă D, Ungureanu A, Docea AO, Tomescu P, Gherghina F, Arsene AL, Badiu C, Tsatsakis AM, Spandidos DA, Drakoulis N, Călina D. Pharmacological management of non-alcoholic fatty liver disease: Atorvastatin versus pentoxifylline. *Exp Ther Med* 2017; 13: 2375-2381.
  53. Hadzi-Petrushev N, Dimovska K, Jankulovski N, Mitrov D, Mladenov M. Supplementation with Alpha-Tocopherol and Ascorbic Acid to Nonalcoholic Fatty Liver Disease's Statin Therapy in Men. *Advances in pharmacological sciences* 2018; 2018: 4673061.
  54. Browning JD. Statins and hepatic steatosis: perspectives from the Dallas Heart Study. *Hepatology* 2006; 44: 466-471.
  55. Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S. Statins in non-alcoholic fatty liver disease and chronically elevated liver enzymes: a histopathological follow-up study. *Journal of hepatology* 2007; 47: 135-141.
  56. Nascimbeni F, Aron-Wisnewsky J, Pais R, Tordjman J, Poitou C, Charlotte F, Bedossa P, Poynard T, Clement K, Ratzin V, Group Ls. Statins, antidiabetic medications and liver histology in patients with diabetes with non-alcoholic fatty liver disease. *BMJ Open Gastroenterol* 2016; 3: e000075.
  57. Khoo S, Wong VW, Goh GB, Fan J, Chan WK, Seto WK, Chow WC. Suboptimal treatment of dyslipidemia in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2020; 35: 320-325.

**NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI****AHA 2021****MANUELA CASULA**

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

*Nel mese di novembre 2021, si è tenuto il meeting annuale dell'American Heart Association (AHA), in edizione virtuale.*

**L'uso degli inibitori SGLT2 è legato a un minor numero di aritmie atriali**

I pazienti con dispositivi elettronici cardiaci impiantabili (CIED) che hanno ricevuto un trattamento con un inibitore del cotrasportatore sodio-glucosio 2 hanno avuto un numero significativamente inferiore di eventi di aritmia atriale rispetto a quelli che non hanno mai ricevuto tale farmaco.

In un'analisi propensity score-matched che ha incluso più di 5.000 pazienti arruolati con un CIED, il trattamento con un inibitore del cotrasportatore sodio-glucosio-2 (SGLT2) era associato a una significativa riduzione del 23% di aritmia atriale e a un calo relativo del 44% della mortalità per tutte le cause.

I risultati suggeriscono che l'uso di un agente della classe degli inibitori SGLT2 è associato a una marcata riduzione del carico di aritmia atriale e della mortalità per tutte le cause nei pazienti con CIED in un

contesto reale. Questi dati indicano possibili proprietà antiaritmiche degli inibitori SGLT2 che sono incrementali rispetto agli effetti benefici del farmaco sugli esiti dell'insufficienza cardiaca.

**Canagliflozin migliora i sintomi dell'HF in uno studio completamente da remoto**

Una nuova ricerca dimostra che i benefici degli inibitori SGLT2 sui sintomi e sulla qualità di vita dei pazienti con insufficienza cardiaca si estendono a canagliflozin (Invokana, Invokamet, Janssen).

Canagliflozin 100 mg al giorno ha infatti superato il placebo di una media di 4,3 punti per l'esito primario ovvero la variazione a 12 settimane del punteggio totale dei sintomi del Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire (KCCQ) (P = .016). Le curve si sono separate già a 2 settimane e il beneficio si è mantenuto fino a 3 mesi. Inoltre, l'entità dell'effetto era paragonabile a prescindere dalla frazione di eiezione o dallo stato del diabete del paziente.

Lo studio Canagliflozin Impact on Health Status, Quality of Life, and Functional Status in Heart Failure (CHIEF-HF) è stato avviato la settimana in cui gli Stati

*Indirizzo per la corrispondenza*

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

Uniti hanno messo in atto un lock down a causa di COVID-19 ed è stato completato durante la pandemia. I siti di studio hanno identificato i potenziali pazienti con HF sulla base della revisione delle cartelle cliniche elettroniche e li hanno invitati a visitare un sito web per informarsi sullo studio. Se interessati, i pazienti potevano scegliere di essere sottoposti allo *screening*. I criteri di inclusione erano una diagnosi confermata di scompenso cardiaco (HF), l'accesso esclusivo a un telefono cellulare, la disponibilità a indossare un Fitbit e un punteggio complessivo KCCQ allo *screening* pari o inferiore a 80.

Tra il 26 marzo 2020 e il 12 febbraio 2021, un totale di 1333 pazienti è stato sottoposto a *screening* e il 50% ha acconsentito a partecipare allo studio. L'analisi completa ha riguardato 226 pazienti trattati con placebo e 222 con canagliflozin. In un'analisi dei responder, il numero necessario da trattare (NNT) per evitare un ampio peggioramento (almeno 20 punti) del punteggio totale dei sintomi KCCQ in 12 settimane è stato di 15 e l'NNT per un miglioramento da moderato a ampio (da 10 a 19 punti) è stato di 27. Nelle analisi di sottogruppo, il beneficio di canagliflozin sull'*endpoint* primario era coerente tra i pazienti con insufficienza cardiaca a frazione di eiezione preservata (HfpEF) o ridotta (HfrEF), così come tra pazienti con diabete di tipo 2 o non diabetici.

### **Gli anticoagulanti possono attenuare il declino cognitivo nei pazienti affetti da FA**

La fibrillazione atriale è il più comune disturbo del ritmo cardiaco osservato nella pratica clinica. Numerosi studi hanno dimostrato che questa condizione, più diffusa tra gli anziani, aumenta la possibilità di eventi cardio- e cerebrovascolari.

Queste conoscenze sono ben consolidate, così come l'uso di anticoagulanti per prevenire le tromboembolie nei soggetti con punteggi di rischio rilevanti. Tuttavia, sebbene precedenti ricerche abbiano esaminato l'associazione tra fibrillazione atriale e declino cognitivo, finora nessuno studio ha esplorato gli effetti degli anticoagulanti orali sugli aspetti cognitivi e funzionali dei pazienti.

Lo studio brasiliano Cognitive Impairment Related to Atrial Fibrillation (GIRAF) ha valutato gli effetti degli anticoagulanti warfarin e dabigatran sul deterioramento cognitivo e funzionale, sulla comparsa di emorragie e sulle complicanze cerebrovascolari. Lo studio randomizzato, multicentrico e prospettico ha valutato 200 pazienti (62% maschi) di età superiore ai 70 anni con fibrillazione atriale confermata. I partecipanti sono stati assegnati in modo casuale a un ciclo di 2 anni di dabigatran 110 mg o 150 mg due volte al giorno, oppure a warfarin una volta al giorno a una dose sufficiente per scoagulare il sangue. Tutti i partecipanti hanno completato una serie di valutazioni cognitive e funzionali di 90 minuti al basale e durante le visite di *follow-up*. I pazienti sono stati inoltre sottoposti a una risonanza magnetica cerebrale al basale e dopo 2 anni per identificare un eventuale ictus. A 2 anni non sono state riscontrate differenze tra i farmaci, in base ai dati ottenuti da scale che hanno misurato la memoria, la funzione esecutiva, il linguaggio e l'attenzione.

### **ASCEND: possibile protezione dalla demenza con aspirina nel diabete tipo 2 (T2D)**

Un regime di aspirina giornaliera a basso dosaggio non ha prodotto una riduzione significativa dell'incidenza di demenza o di deterioramento cognitivo nello studio



ASCEND, uno studio multicentrico randomizzato con più di 15.000 persone con diabete seguite in media per più di 9 anni, ma i risultati hanno lasciato intendere un beneficio sufficiente a giustificare ulteriori studi.

ASCEND aveva l'obiettivo primario di valutare la sicurezza e l'efficacia di una dose giornaliera di aspirina da 100 mg per la prevenzione di eventi vascolari come infarto miocardico (IM) e ictus ischemico in 15.480 persone con diabete che avevano almeno 40 anni al momento dell'arruolamento e non avevano una storia di malattie cardiovascolari. I risultati principali sono stati pubblicati nel 2018 e hanno mostrato che, sebbene l'aspirina abbia prodotto un beneficio significativo riducendo gli eventi trombotici, ha anche comportato un numero significativamente maggiore di eventi emorragici maggiori rispetto al placebo. Questi risultati, insieme a quelli analoghi di altri due studi sull'aspirina pubblicati più o meno nello stesso periodo (ASPREE e ARRIVE), hanno portato a mettere in guardia dall'uso diffuso e di routine dell'aspirina per la prevenzione primaria degli eventi di malattia cardiovascolare aterosclerotica nella maggior parte degli adulti.

I nuovi risultati provengono da analisi aggiuntive della demenza e del deterioramento cognitivo sovrapposte alle analisi principali dei risultati di ASCEND. Lo studio ha calcolato gli esiti della demenza in tre modi diversi. Ha applicato una definizione ristretta che si basava su una diagnosi specifica di demenza nella cartella clinica elettronica o nel registro di morte. Una seconda metrica ha utilizzato una definizione di esito più ampia, che ha tenuto traccia delle voci relative non solo alla demenza, ma anche alle diagnosi di deterioramento cognitivo, delirio, confusione, prescrizione di farmaci per la demenza

e rinvio a una clinica della memoria o a una psichiatria geriatrica. La terza valutazione era un test di funzionalità cognitiva somministrato ai partecipanti alla fine del follow-up, ma solo il 58% dei partecipanti arruolati ha completato questa parte dello studio, ed è anche possibile che alcuni soggetti abbiano saltato questa valutazione a causa dell'insorgenza della demenza. Queste limitazioni ostacolano una chiara interpretazione di questa terza metrica.

I risultati principali per le altre due misure più affidabili di demenza o deterioramento cognitivo hanno mostrato una riduzione non significativa del rischio relativo del 9% legato all'uso dell'aspirina rispetto al placebo per l'*endpoint* più ampio e una riduzione non significativa del rischio relativo dell'11% con l'uso dell'aspirina utilizzando la definizione ristretta solo per la demenza. Anche il terzo metodo ha mostrato un piccolo effetto non significativo dell'uso quotidiano di aspirina rispetto al placebo. I risultati non escludono completamente un beneficio dall'aspirina. Forse alcune persone a rischio trarrebbero beneficio dalla protezione dalla demenza.

### **I risultati di EMPEROR-Preserved sono stati confermati nei pazienti con HfpEF**

I principali risultati dello studio EMPEROR-Preserved, riportati in agosto, hanno stabilito per la prima volta che il trattamento con l'inibitore SGLT2 empagliflozin può apportare chiari benefici ai pazienti con insufficienza cardiaca con frazione di eiezione preservata (HFpEF).

L'unica avvertenza è che EMPEROR-Preserved ha arruolato pazienti con una frazione di eiezione ventricolare sinistra di almeno il 41%, mentre per HFpEF "vera" si intendono pazienti con insufficienza cardiaca e una LVEF di almeno il 50%, se-

condo le recenti definizioni. Circa un terzo dei 5.988 pazienti arruolati in EMPEROR-Preserved aveva una LVEF del 41%-49%, ovvero insufficienza cardiaca con frazione di eiezione lievemente ridotta. L'analisi secondaria dello studio EMPEROR-Preserved ha ora risolto questa ambiguità dimostrando che, tra i 4.005 pazienti (67%) arruolati nello studio con una LVEF di almeno il 50%, il trattamento con empagliflozin (Jardiance) ha ridotto l'*endpoint* primario dello studio – morte cardiovascolare o primo ricovero per insufficienza cardiaca – di un significativo 17%, rispetto ai pazienti che hanno ricevuto il placebo, sciogliendo ogni dubbio sulla rilevanza dei risultati complessivi per il sottogruppo di pazienti con HFpEF non attenuata.

### **L'agente invertitore di ticagrelor raggiunge una rapida emostasi: REVERSE-IT**

L'anticorpo monoclonale sperimentale bentracimab, che inverte gli effetti antiaggreganti del ticagrelor, sembra avviarsi verso l'approvazione normativa, sulla base di un'analisi ad interim dello studio di fase 3 REVERSE-IT.

L'analisi ad interim di questo studio non randomizzato, a braccio singolo, è stata richiesta dalla Food and Drug Administration, che sta valutando un'approvazione accelerata condizionale di bentracimab (ex PB2452) se ne vengono stabilite l'efficacia e la sicurezza. Al momento della somministrazione, bentracimab si lega al ticagrelor libero in modo che quest'ultimo non possa legarsi al recettore piastrinico P2Y12. In questo modo si interrompe uno dei passaggi chiave del percorso di aggregazione piastrinica.

REVERSE-IT sta ancora arruolando pazienti. Questa analisi ad interim è stata condotta sui primi 150 pazienti che hanno

soddisfatto i criteri di eleggibilità e sono stati trattati. Per quanto riguarda l'*endpoint* primario di inversione, è stato raggiunto un rapido ripristino della funzionalità piastrinica sia nei pazienti sottoposti a intervento chirurgico che in quelli con emorragia maggiore. La reattività piastrinica è risalita a livelli quasi normali entro 10 minuti dalla somministrazione e gli effetti di picco sono stati mantenuti per le prime 24 ore dopo la somministrazione. L'emostasi accertata è stata raggiunta nel 100% dei 113 pazienti chirurgici urgenti valutati.

### **Un inibitore orale giornaliero di PCSK9 mostra risultati incoraggianti negli studi di fase I**

L'inibitore sperimentale di PCSK9 MK-0616, formulato come compressa a somministrazione giornaliera, in due studi di fase 1 con un totale di 100 partecipanti, ha mostrato una riduzione dei livelli plasmatici di PCSK9 di oltre il 90%, e dei livelli di colesterolo LDL-C di circa il 65%. Inoltre, MK-0616 è stato generalmente ben tollerato fino a dosi singole di 300 mg.

I risultati collettivi della prima esperienza sull'uomo dell'agente orale sono decisamente incoraggianti e supportano MK-0616 come potenziale farmaco per la riduzione delle LDL che sarebbe più conveniente e probabilmente più accessibile ai pazienti rispetto agli attuali inibitori PCSK9 iniettabili.

### **Obicetrapib: l'inibitore della CETP convince nella riduzione delle LDL**

Obicetrapib è un membro della classe degli inibitori della proteina di trasferimento degli esteri colesterilico (CETP). Questi agenti sono stati inizialmente sviluppati per la loro capacità di aumentare il colesterolo HDL, ma questo approccio è

stato abbandonato dopo che diversi studi non hanno dimostrato un legame tra l'aumento delle HDL e la riduzione dei successivi eventi cardiovascolari.

Tuttavia, obicetrapib, che sembra essere il più potente inibitore della CETP fino ad oggi, ha anche dimostrato di produrre riduzioni impressionanti delle LDL, ed è questo dato importante che ha spinto diversi esperti di lipidi a continuare il suo sviluppo.

Lo studio ROSE ha incluso 120 pazienti che erano stati trattati con una dose stabile di statine ad alta intensità per almeno 8 settimane. Tutti i pazienti dovevano avere livelli di LDL a digiuno di almeno 70 mg/dL. I risultati hanno mostrato una robusta riduzione del 51% delle LDL con la dose di 10 mg di obicetrapib e una riduzione del 42% con la dose di 5 mg, effetti comparabili a prescindere dall'LDL basale. Entrambe le dosi di obicetrapib sono state ben tollerate, senza alcun aumento del tasso di eventi avversi.

Relativamente alle differenze rispetto altri agenti della classe degli inibitori della CETP, obicetrapib è molto più potente, come dimostrano i grandi cambiamenti lipidici osservati con quantità molto piccole di questo farmaco, 5 mg o 10 mg, mentre i precedenti inibitori della CETP mostravano cambiamenti minori con dosi molto più elevate.

L'altro aspetto importante di questa classe di agenti è che il primo farmaco, il torcetrapib, presentava una tossicità che si traduceva in un aumento degli eventi cardiovascolari. Ma ora è stato stabilito che torcetrapib aveva una serie di effetti fuori bersaglio che non sono stati osservati con i successivi agenti di questa classe. Gli studi condotti finora dimostrano che obicetrapib non ha effetti simili a quelli di torcetrapib.

### **L'assistenza remota non medica aiuta il controllo della pressione e del colesterolo**

Un programma di assistenza digitale a distanza per la gestione dell'ipertensione e dell'ipercolesterolemia da parte di personale non medico può essere efficace.

I pazienti inclusi in questo studio sono stati identificati tramite uno screening con la cartella clinica elettronica o con il referente di un medico di base. Sono stati dotati di bracciali per la pressione sanguigna a domicilio e hanno ricevuto telefonate da operatori senza specifica competenza sanitaria che hanno fornito informazioni educative e raccomandato esami di laboratorio; i farmacisti hanno iniziato e titolato i farmaci, il tutto senza visite di persona.

Nello studio attuale, a 3 mesi, il 40% dei pazienti nel programma di gestione dei lipidi e il 44% dei pazienti nel programma di gestione dell'ipertensione avevano raggiunto i livelli di mantenimento del colesterolo LDL-C e della pressione arteriosa; il 92% di questi pazienti aveva raggiunto i livelli prefissati.

I risultati ribadiscono anche le difficoltà nel mantenere i pazienti in un programma a lungo termine, anche se gratuito. Allo stesso tempo, questo programma a distanza è stato ugualmente efficace nei pazienti che non erano esperti di tecnologia o che non parlavano inglese.

Lo studio ha dimostrato che l'uso della tecnologia informatica può essere un mezzo vantaggioso per controllare i fattori di rischio, soprattutto nei pazienti con accesso limitato all'assistenza medica continua. Il principale ostacolo sarà garantire che dispositivi come i *monitor* della pressione sanguigna siano economicamente vantaggiosi per le persone con minori possibilità di spesa.

**NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI****ACC 2022****MANUELA CASULA**

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

*Nel mese di aprile 2022, si è tenuto il meeting annuale dell'American College of Cardiology (ACC), in modalità mista.*

**Empagliflozin migliora rapidamente i sintomi dell'insufficienza cardiaca acuta nei pazienti ospedalizzati**

Il trattamento con l'inibitore SGLT2 empagliflozin di pazienti ricoverati d'urgenza per insufficienza cardiaca ha portato a un rapido aumento incrementale del benessere rispetto ai controlli che hanno ricevuto placebo; il miglioramento si è manifestato dopo 2 settimane in un'analisi secondaria di 530 pazienti randomizzati nello studio EMPULSE. Il miglioramento molto precoce del punteggio del Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire (KCCQ) - un noto predittore di morte cardiovascolare e di riammissioni per insufficienza cardiaca - che è stato osservato con empagliflozin a 15 giorni, è la prima osservazione di questo tipo e, se confermata da studi futuri, suggerirebbe che l'assunzione di inibitori SGLT2 durante l'ospedalizzazione per insufficienza cardiaca acuta può essere uno strumento per migliorare la qualità della

transizione ospedale-casa. Questi dati supportano l'inizio di empagliflozin o di un altro inibitore SGLT2 in ospedale, in assenza di controindicazioni. L'inizio del trattamento in ospedale è importante anche come momento educativo nella relazione medico-paziente, promuovendo anche l'aderenza alla terapia dopo la dimissione.

**Il calcium score predice il rischio di morte improvvisa nella CAD preclinica**

Il rischio di morte cardiaca improvvisa (Sudden Cardiac Death, SCD) aumenta costantemente all'aumentare del calcio coronarico (CAC), indipendentemente dai fattori di rischio convenzionali, nei pazienti in prevenzione primaria considerati a rischio basso o intermedio. I risultati, basati su un ampio studio di coorte, rafforzano l'idea che la valutazione del CAC possa supportare ulteriori test in questi pazienti che presentano per lo più una malattia cardiovascolare aterosclerotica subclinica (ASCVD). Un CAC score compreso tra 100 e 399 in questa coorte principalmente asintomatica, prevalentemente bianca e di sesso maschile, era associato a un aumento del rischio di SCD di 2,8 volte rispetto a un punteggio pari a 0. Il

*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

rischio aumentava di 4 volte con CAC score compresi tra 400 e 999, e di quasi 5 volte con score superiori a 1000. L'associazione era indipendente dall'età e dal sesso, ma anche da diabete, fumo, ipertensione, dislipidemia e storia familiare di malattie cardiache. L'entità dell'associazione del punteggio CAC con il rischio di SCD nello studio era maggiore rispetto a predittori più noti, come il prolungamento dell'intervallo QT corretto per la frequenza cardiaca (QTc) o la durata del complesso QRS.

### **Studio SCORED: sotagliflozin mostra robusti benefici in termini di MACE**

I risultati di nuove analisi hanno ulteriormente chiarito il potente effetto dell'inibitore sperimentale di SGLT1 e SGLT2 sotagliflozin sugli eventi avversi cardiovascolari maggiori nei pazienti con diabete di tipo 2, malattia renale cronica e ad alto rischio di malattia cardiovascolare. Nelle analisi secondarie prespecificate dei risultati dello SCORED tra i 5.144 pazienti randomizzati che sono entrati nello studio con una storia di malattia cardiovascolare (CVD), il trattamento con sotagliflozin rispetto al placebo per una mediana di 16 mesi era associato a una riduzione significativa del rischio del 21% di eventi cardiovascolari avversi maggiori (MACE), mentre tra i 5.440 pazienti dello studio che non avevano una storia di CVD (sebbene avessero almeno un fattore di rischio maggiore o almeno due fattori di rischio minori), il trattamento con sotagliflozin era associato a una riduzione significativa del rischio del 26%. Parte di questi benefici complessivi in termini di MACE derivavano da miglioramenti simili del trattamento con sotagliflozin sui singoli esiti di infarto miocardico (IM) non fatale e ictus non fatale. Questo beneficio in termini di ictus non è stato osservato chiaramente

con nessun altro agente della classe degli inibitori SGLT2, e la rapidità dell'effetto, entro 3 mesi dall'inizio del trattamento, potrebbe essere dovuto all'inibizione del recettore SGLT1.

### **Delusione per un nuovo farmaco per il colesterolo: TRADUCI-TIMI 70**

Un farmaco sperimentale che ha come bersaglio una nuova via del metabolismo lipidico ha mostrato risultati deludenti nello studio TRANSLATE-TIMI 70 di fase 2b. Vupanorsen è un oligonucleotide antisense che ha come bersaglio la *angiopoietin-like protein 3* epatica (ANGPTL3), la cui inibizione è stata suggerita come modalità per ridurre i trigliceridi e il colesterolo non-HDL. Secondo i risultati dello studio TRANSLATE-TIMI 70 su 286 adulti con colesterolo non-HDL di almeno 100 mg/dL e trigliceridi compresi tra 150 e 500 mg/dL, sebbene vupanorsen abbia portato a una riduzione significativa del colesterolo non-HDL compresa tra il 22% e il 27%, essa non è risultata significativa dal punto di vista clinico per la riduzione del rischio cardiovascolare; inoltre, sono emerse problematiche di sicurezza legate essenzialmente all'innalzamento degli enzimi epatici. Pfizer ha quindi annunciato l'interruzione dello sviluppo di vupanorsen.

### **L'inibizione precoce di PCSK9 nell'IMA produce la regressione della placca**

Quando l'inibitore di PCSK9 alirocunab viene aggiunto alle statine ad alta intensità subito dopo un infarto miocardico acuto (IMA), la riduzione del volume dell'ateroma a 12 mesi raddoppia rispetto al placebo, e risultano migliorati anche altri segni chiave della stabilizzazione della placca, come lo spessore del cappuccio



fibroso, secondo i risultati dello studio PACMAN-AMI.

Nel PACMAN-AMI, 300 pazienti affetti da AMI sono stati randomizzati a 150 mg di alirocumab o placebo, somministrati tramite iniezione sottocutanea entro 24 ore da un intervento percutaneo urgente (PCI) e dal posizionamento di uno stent. Tutti i pazienti hanno ricevuto la terapia assegnata in aggiunta a una statina ad alta intensità (20 mg di rosuvastatina al giorno). Per quanto riguarda l'esito primario del volume dell'ateroma, la riduzione media del 2,1% tra i pazienti randomizzati ad alirocumab era più che doppia rispetto alla riduzione dello 0,9% nel gruppo placebo ( $P = 0,001$ ). I dati suggeriscono che l'obiettivo della riduzione del colesterolo LCL sotto ai 50 mg/dL potrebbe essere ulteriormente diminuito, poichè i miglioramenti nelle caratteristiche di rimodellamento diventano molto più evidenti e rapidi man mano che i livelli scendono sotto la soglia di 50 mg/dL.

### **Dati incoraggianti sull'agente invertitore di Ticagrelor**

Nello studio di fase 2b condotto su volontari anziani senza malattia coronarica nota, l'agente invertitore dell'antiaggregante ticagrelor, bentracimab, ha ripristinato in modo significativo la funzione piastrinica, rispetto al placebo. Sulla base di questi dati, bentracimab sembra essere un'opzione molto promettente per l'inversione di ticagrelor. Questo nuovo approccio può essere utile nei pazienti che assumono ticagrelor e che presentano emorragie importanti o devono sottoporsi a un intervento chirurgico d'emergenza.

Ticagrelor è un antagonista reversibile del recettore P2Y12 e in questo senso è diverso da clopidogrel e prasugrel, che sono inibitori piastrinici irreversibili. Ciò ha consentito lo sviluppo di bentracimab,

un frammento di anticorpo monoclonale umano ricombinante che si lega al ticagrelor libero con elevata affinità e specificità, permettendo l'attivazione piastrinica, mentre il complesso bentracimab/ticagrelor viene eliminato dal flusso sanguigno.

Un precedente studio di fase 1 su giovani volontari sani aveva dimostrato l'inversione immediata e sostenuta di ticagrelor con bentracimab e aveva contribuito a stabilire il regime di dosaggio del farmaco. Ora è in corso uno studio di fase 3, REVERSE-IT. Si tratta di uno studio a gruppo singolo su pazienti in terapia con ticagrelor che presentano emorragie importanti non controllate o pericolose per la vita o che richiedono interventi chirurgici urgenti o procedure invasive. Un'analisi ad interim prespecificata su 122 pazienti, a supporto dell'approvazione condizionata accelerata, ha dimostrato un rapido ripristino della funzione piastrinica con bentracimab sia nei pazienti sottoposti a intervento chirurgico che in quelli con emorragie maggiori, e un'emostasi efficace in oltre il 90% dei casi.

### **Gli alert migliorano la prescrizione della terapia quadrupla per l'insufficienza cardiaca: PROMPT-HF**

I medici che trattano pazienti con insufficienza cardiaca a frazione di eiezione ridotta (HFrEF) avevano maggiori probabilità di prescrivere una classe di farmaci aggiuntiva, tra le quattro classi raccomandate dalle linee guida, quando venivano sollecitati da un *alert* nella cartella clinica elettronica (EHR) del paziente.

Nello studio PROMPT-HF (Cluster-Randomized Pragmatic Trial Aimed at Improving Use of Guideline-Directed Medical Therapy in Outpatients With Heart Failure), i medici di più di 1.000 pazienti ambulatoriali con HFrEF sono stati randomizzati a ricevere suggerimenti nel-

la EHR o a non riceverne. A 30 giorni, a un numero maggiore di pazienti con un avviso nell'EHR rispetto a quelli senza (26% contro 19%) è stata prescritta un'ulteriore classe terapeutica: un betabloccante, un inibitore del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS), tra cui un inibitore dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACEI), un bloccante del recettore dell'angiotensina (ARB) o un inibitore del recettore dell'angiotensina-neprilisina (ARNI), un antagonista del recettore dei mineralcorticoidi (MRA) o un inibitore del cotrasportatore sodio-glucosio-2 (SGLT2i). I risultati del PROMPT-HF suggeriscono che questo strumento a basso costo può essere rapidamente integrato nell'EHR di sistemi sanitari integrati e portare a miglioramenti diffusi nella cura dei pazienti con insufficienza cardiaca.

### **Un'iniziativa dell'ACC migliora l'assistenza internazionale per lo STEMI**

I risultati della Global Heart Attack Treatment Initiative (GHATI) dell'American College of Cardiology (ACC), fina-

lizzata a migliorare le cure basate sulle linee guida e la sopravvivenza dei pazienti soprattutto nei Paesi a basso e medio reddito, sono incoraggianti.

Questo registro globale ha arruolato con successo pazienti affetti da infarto miocardico con innalzamento del segmento ST in Paesi che generalmente non hanno familiarità con le metriche di miglioramento della qualità. L'assistenza e la sopravvivenza sono migliorate in misura modesta da gennaio 2020 a dicembre 2021 in oltre 4.000 pazienti con infarto miocardico con STEMI, visitati in 39 siti di 18 Paesi.

Dal primo trimestre del 2020 all'ultimo trimestre del 2021, complessivamente, l'*endpoint* combinato delle proporzioni di pazienti con shock cardiogeno all'arrivo, arresto cardiaco prima dell'intervento, arresto cardiaco dopo l'intervento, frazione di eiezione ventricolare sinistra (LVEF) <40% e sopravvivenza fino alla dimissione ospedaliera è migliorato del 3,1%. Il 90% dei pazienti ha ricevuto una terapia di ri-perfusione (intervento coronarico percutaneo), l'85% ha effettuato una valutazione della LVEF e l'85% ha ricevuto una terapia medica basata sulle linee guida.

**NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI****EAS 2022****MANUELA CASULA**

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

*Nel mese di maggio 2022, si è tenuto il 90esimo meeting annuale dell'European Atherosclerosis Society (EAS), tornato in presenza, nella città di Milano, dopo due anni di edizione virtuale.*

**Guida EAS sui lipidi: iniziare a somministrare ai pazienti ad alto rischio un farmaco combinato**

I pazienti con dislipidemia ad altissimo rischio, che difficilmente raggiungeranno l'obiettivo con una statina, dovrebbero essere sottoposti a una terapia combinata statina-ezetimibe nella fase iniziale, piuttosto che disperdere tempo e risorse nella sperimentazione di una statina in monoterapia.

Queste raccomandazioni sono incluse in un documento che mira a offrire un modo pratico per attuare le linee guida 2019 della Società Europea di Cardiologia/EAS per la gestione delle dislipidemie, rimarcando concetti già presentati nella pubblicazione del 2019 ma non sufficientemente entrati a far parte della pratica comune.

*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

Le linee guida stabiliscono la riduzione media dei livelli di colesterolo LDL che si può ottenere iniziando una terapia ad alta intensità e/o iniziando una terapia combinata. È perciò possibile, già all'avvio del trattamento, valutando la distanza dall'obiettivo, intuire se una statina da sola può aiutare a raggiungerlo.

**Un'analisi post hoc del trial TRANSLATE-TIMI 70 suggerisce una nuova possibile terapia per il controllo del colesterolo**

Una sottoanalisi di TRANSLATE-TIMI 70 ha mostrato che l'oligonucleotide antisense vupanorsen riduce sostanzialmente i livelli di lipoproteine a bassissima densità (VLDL) e di colesterolo *remnant* nei pazienti con lipidi elevati nonostante la terapia con statine.

Vupanorsen ha come bersaglio biologico la proteina epatica *angiopoietin-like protein 3* (ANGPTL3), che inibisce gli enzimi coinvolti nel metabolismo dei trigliceridi e del colesterolo.

TRANSLATE-TIMI 70 ha arruolato 286

adulti in terapia stabile con statine, che avevano un livello di trigliceridi compreso tra 150 mg/dL e 500 mg/dL e un livello di colesterolo non-HDL  $\geq$  100 mg/dL.

All'inizio dell'anno, i risultati dell'analisi principale del trial TRANSLATE-TIMI 70 hanno mostrato una riduzione dei livelli di ANGPTL3 compresa tra il 70% e il 95%, con conseguente riduzione dei livelli di trigliceridi e del colesterolo HDL in misura significativa ma non clinicamente rilevante per la riduzione del rischio cardiovascolare. Inoltre, sono emersi problemi di sicurezza sia per l'aumento degli enzimi epatici nei pazienti che assumevano il farmaco, che per un aumento del grasso epatico correlato alla dose. Di conseguenza, Pfizer ha annunciato l'interruzione del programma di sviluppo clinico.

Nel contesto del congresso, è stata però presentata un'analisi post-hoc dello studio di fase 2b, che dimostra come il farmaco riduca i livelli di colesterolo VLDL e *remnant* fino al 60%. Questi risultati sono strettamente legati all'abbassamento dei livelli di ANGPTL3, anche se sono stati ottenuti riduzioni sostanziali dei livelli di colesterolo anche con decrementi di ANGPTL3 inferiori a quelle massime, con migliori esiti in termini di sicurezza.

### **Risultati promettenti dall'uso di un anticorpo monoclonale nella dislipidemia mista**

Una singola dose di un anticorpo monoclonale contro un inibitore di un enzima coinvolto nella degradazione dei trigliceridi sembra abbassare sostanzialmente i livelli di trigliceridi e colesterolo.

LY3475766 è un anticorpo monoclonale contro il complesso (ANGPTL)3/8, un potente inibitore della lipoproteina lipasi, ed è stato testato in 48 soggetti con dislipidemia mista in uno studio di fase I a dose

crescente. L'anticorpo ha ridotto i livelli di trigliceridi fino al 70%, oltre a ridurre il colesterolo LDL fino al 37% e l'apolipoproteina B fino al 31%, e ad aumentare il colesterolo HDL fino al 26%. Inoltre, ha mostrato una buona tollerabilità e un profilo di sicurezza favorevole.

I ricercatori hanno affermato che LY3475766 può avere il potenziale di ridurre il rischio cardiovascolare nei pazienti ad alto rischio di malattia cardiovascolare aterosclerotica, in aggiunta alle cure standard ottimali. Destinatari di questa terapia potrebbero essere i soggetti con dislipidemia mista in quanto è probabile che traggano beneficio da questo agente, mirato sia alle LDL che ai trigliceridi, che è in grado di controllare le lipoproteine aterogene aumentando al contempo il colesterolo HDL.

### **Elevati livelli di Lp(a) non sono associati a un effetto protrombotico**

Contrariamente a quanto indicato da studi precedenti, un nuovo studio sembra suggerire l'assenza di un'associazione tra l'aumento delle concentrazioni di lipoproteina(a) e il rischio di successivi eventi trombotici a carico di vene o arterie.

Lo studio, un'analisi di randomizzazione mendeliana, ha correlato i livelli di Lp(a) e uno *score* di rischio genetico per Lp(a), valutati in quasi 500.000 partecipanti arruolati nell'UK Biobank, con gli eventi coronarici e tromboembolici venosi maggiori. I risultati hanno mostrato una forte associazione tra l'incidenza di eventi coronarici maggiori, tra cui infarto miocardico (MI), fatale o non fatale, o rivascolarizzazione coronarica, e l'aumento dei livelli di Lp(a) (aumento del rischio del 35% per ogni aumento di Lp(a) di 100 nmol/L) o dello score di rischio geneti-

co per Lp(a) (con un aumento del rischio del 47% e dell'89% per punteggi dello *score* di 1 o 2 rispetto allo 0). Tuttavia, non è stata trovata alcuna associazione tra i determinanti biochimici o genetici delle concentrazioni di Lp(a) e gli esiti di tromboembolismo venoso (TEV), siano questi trombosi venosa profonda (TVP) o embolia polmonare. Inoltre, il rischio associato alla Lp(a) non sembrava diminuire tra i soggetti con punteggi crescenti per due *score* genetici che sono stati implementati per mimare rispettivamente una terapia antiplastrinica e una terapia anti-trombina.

I risultati dimostrano che Lp(a) non ha un effetto protrombotico venoso o arterioso clinicamente significativo e che l'aumento del rischio di eventi coronarici difficilmente può essere ridotto da una terapia antiaggregante o antitrombotica. C'è quindi un urgente bisogno di terapie specificamente mirate a ridurre la Lp(a); per questo, si attendono i dati di farmaci mirati alla produzione di apolipoproteina(a) attualmente in fase di sviluppo.

### **Una riduzione aggiuntiva del colesterolo LDL può contrastare gli alti livelli di Lp(a)**

L'aumento del rischio di eventi cardiovascolari aterosclerotici causato da elevati livelli di lipoproteina(a) può potenzialmente essere compensato abbassando ulteriormente il colesterolo LDL a livelli specifici, con riduzioni tanto più marcate quanto più tempo si attende per iniziare il trattamento.

I risultati, derivati da un'analisi dei dati sui livelli di Lp(a) e colesterolo LDL e dello *score* di rischio genetico per Lp(a) in quasi 500.000 individui arruolati nell'UK Biobank, sono stati utilizzati per sviluppare una serie di obiettivi di trattamento per

la riduzione aggiuntiva dei livelli di colesterolo LDL sulla base dell'età dei soggetti, al fine di contrastare il rischio associato all'esposizione ad elevati livelli di Lp(a) nel corso della vita.

Un aumento dei livelli di Lp(a) è associato a un aumento log-lineare della malattia cardiovascolare aterosclerotica che è proporzionale all'entità assoluta, piuttosto che relativa, dell'aumento di Lp(a). La misurazione dei livelli di Lp(a) può affinare in modo sostanziale le stime individuali del rischio assoluto di malattia cardiovascolare aterosclerotica, e ciò può informare direttamente le decisioni terapeutiche sull'intensità della riduzione delle LDL o di altre modifiche dei fattori di rischio necessarie per superare l'aumento del rischio causato da Lp(a), in attesa di terapie specificamente mirate a ridurre i livelli di Lp(a), che diventano essenziali soprattutto quando la riduzione di LDL richiesta è troppo ampia da poter essere ottenuta con i farmaci a disposizione. Inoltre, i ricercatori hanno scoperto che l'entità dell'intensificazione della riduzione del colesterolo LDL necessaria per superare il rischio causato da livelli elevati di Lp(a) variava in base all'età in cui si inizia la terapia.

Oltre a produrre una versione tabellare dell'intensificazione della riduzione del colesterolo LDL necessaria per superare l'aumento del rischio cardiovascolare a diversi livelli di Lp(a), stratificati in base all'età, gli autori stanno sviluppando un'applicazione che consenta di realizzare ulteriormente la prevenzione personalizzata. L'applicazione visualizzerà il rischio di infarto miocardico o ictus nell'arco della vita di un individuo, con e senza l'inclusione dei livelli di Lp(a), e determinerà non solo la percentuale di aumento del rischio causato dalla Lp(a), ma anche la quantità di colesterolo LDL da ridurre per contrastare tale rischio.



## Potenziale ruolo terapeutico per i CETP inibitori con obicetrapib

L'aggiunta dell'inibitore della proteina di trasferimento degli esteri del colesterolo (CETP) alle statine ad alta intensità abbassa significativamente i livelli di colesterolo e aumenta sostanzialmente il numero di pazienti che raggiungono gli obiettivi di colesterolo, secondo i dati dello studio ROSE.

Questi ultimi risultati rappresentano una sorta di inversione di tendenza per l'inibizione della CETP, dopo che una serie di risultati deludenti aveva portato molti ad escludere questa strategia. Ora, uno studio che ha confrontato due dosi di obicetrapib con placebo in 120 pazienti già in terapia con statine ad alta intensità ha dimostrato che il farmaco riduce significativamente il colesterolo LDL fino al 51% rispetto al basale e migliora molti altri parametri lipidici. Il farmaco è stato inoltre associato al raggiungimento di un obiettivo di colesterolo LDL tra 55 e 70 mg/dL da parte dell'82,5% dei pazienti, con buone evidenze di tollerabilità. Di conseguenza, questo farmaco potrebbe ovviamente essere una valida aggiunta per i pazienti ad alto rischio di malattie cardiovascolari aterosclerotiche che non raggiungono i livelli attuali delle raccomandazioni delle linee guida, nonostante l'uso di statine ad alta intensità.

Obicetrapib aveva precedentemente dimostrato una riduzione del colesterolo LDL del 45% rispetto a una terapia con o senza statine; lo studio ROSE si è proposto di esaminare il farmaco in aggiunta alla terapia con statine ad alta intensità. Tutti i pazienti dovevano assumere una dose stabile di statine 8 settimane prima dello screening, avere livelli di colesterolo LDL a digiuno superiori a 32,4 mg/dL, e dovevano essere privi di malattie cardiovascolari si-

gnificative, diabete mellito o ipertensione non controllata.

Rispetto al basale, l'aggiunta di obicetrapib 5 mg alla terapia con statine ad alta intensità ha ridotto i livelli di colesterolo LDL del 42%, mentre l'aggiunta di obicetrapib 10 mg è stata associata a riduzioni mediane del 51%. Entrambe le riduzioni erano significativamente maggiori rispetto alla riduzione del 7% con il placebo ( $p < 0,0001$  per entrambe). I pazienti che hanno assunto la dose più bassa di obicetrapib hanno anche registrato una riduzione dei livelli di apolipoproteina B, rispetto al basale, del 24%, che è aumentata al 30% con la dose più alta, rispetto al 3% del placebo. Le riduzioni dei livelli di colesterolo HDL sono state rispettivamente del 39%, 44% e 4%. I livelli di lipoproteina(a) sono diminuiti di una mediana del 33,8%, rispetto al basale, nei pazienti del gruppo obicetrapib 5 mg e del 56,5% in quelli del gruppo 10 mg; nel gruppo placebo, i livelli sono rimasti invariati. Anche i trigliceridi si sono ridotti di una mediana dell'11%, rispetto al basale, con obicetrapib 5 mg e dell'8% con obicetrapib 10 mg, mentre sono aumentati del 2% con il placebo. I livelli di colesterolo HDL sono invece aumentati di una media del 135%, rispetto al basale, con obicetrapib 5 mg e del 165% con obicetrapib 10 mg; i livelli sono invece diminuiti del 5% con il placebo.

Anche dal punto di vista della sicurezza, i risultati sono promettenti. Obicetrapib era associato a un tasso di eventi avversi complessivamente inferiore rispetto al placebo, pari rispettivamente al 32,5% con la dose di 5 mg, al 20,0% con la dose di 10 mg e al 47,5% con il placebo. In totale, si sono verificati solo due eventi avversi gravi, entrambi nel gruppo placebo, e un solo evento avverso che ha portato all'interruzione del trattamento, sempre nel gruppo placebo.

## I dati sugli inibitori di PCSK9 nel mondo reale e il problema dei rimborsi

I pazienti con ipercolesterolemia familiare (FH), in particolare quelli con FH eterozigote, ottengono riduzioni consistenti e prolungate dei livelli di colesterolo LDL con evolocumab (Repatha), come suggerito dai dati dell'analisi *real-world* HEYMANS. Tuttavia, i risultati ottenuti su oltre 800 pazienti con FH hanno mostrato che circa la metà di essi non era in terapia con statine al momento dell'assunzione del farmaco, pur avendo elevati livelli basali di colesterolo LDL (superiori a 160 mg/dL).

HEYMANS è uno studio di coorte osservazionale e multicentrico, condotto in 12 Paesi europei, che includeva gli adulti che avevano iniziato evolocumab come parte della gestione clinica dopo il 1° agosto 2015. Dei 1952 pazienti inclusi nell'attuale analisi ad interim, 801 erano affetti da FH: 766 con FH omozigote e 35 con FH eterozigote.

I ricercatori hanno evidenziato come il basso uso di statine nel loro studio e il rimborso siano strettamente legati. Essendo gli alti livelli di colesterolo LDL un requisito per il rimborso della terapia con antiPCSK9, è più probabile che pazienti con questo requisito siano soggetti intolleranti alle statine o comunque non già in trattamento.

In pratica, questo implica che molti dei pazienti che ricevono questi farmaci stanno effettivamente ricevendo una monoterapia. E se si considera una riduzione del colesterolo LDL di quasi il 60%, non per tutti è possibile raggiungere gli obiettivi, il che rafforza il punto che è necessaria una terapia combinata, idealmente statine, acido bempedoico e terapie dirette al PCSK9, in modo da ottenere una riduzione del 75%-80%.

## Il colesterolo *remnant* elevato è legato a un aumento di cinque volte della PAD

Livelli elevati di colesterolo *remnant* sono associati a un rischio sostanzialmente maggiore di sviluppare arteriopatia periferica (PAD), come suggerisce l'analisi di un'ampia coorte di popolazione sui dati di oltre 120.000 individui del Copenhagen General Population Study e del Copenhagen City Heart Study.

Il colesterolo residuo può essere calcolato semplicemente prendendo i livelli di colesterolo totale e sottraendo i livelli di colesterolo HDL e LDL. Dividendo gli individui in quartili di livelli di colesterolo residuo, quelli con i livelli più alti - almeno 60 mg/dL - non solo avevano un'incidenza significativamente maggiore di PAD rispetto a quelli con livelli inferiori a 20 mg/dL, con un *hazard ratio* da 2,0 (95% CI 1,5 - 2,7) per livelli tra 20 e 40 mg/dL a 3,1 (95% CI 2,1 - 4,4) per livelli tra 30 e 60 mg/dL, ma l'aumento del rischio con l'aumento dell'età era anche più marcato. Gli *hazard ratio* per l'arteriopatia periferica erano costantemente più alti di quelli per l'infarto miocardico e per l'ictus ischemico: per l'infarto miocardico, i risultati corrispondenti variavano da un *hazard ratio* di 1,8 (95% CI, 1,4 - 2,3) a 4,0 (95% CI, 2,7 - 5,8), mentre quelli per l'ictus ischemico variavano da 1,3 (95% CI, 1,1 - 1,6) a 2,0 (95% CI, 1,4 - 2,7).

## Predizione degli outcome cardiovascolari tramite la conta dei neutrofili

L'aumento del numero di neutrofili sembra essere associato in modo causale alla malattia coronarica (CAD) e all'infarto miocardico (MI), come suggerisce una nuova analisi che ha combinato dati osservazionali e genetici.

Lo studio ha inizialmente confermato l'associazione tra l'aumento del numero di neutrofili e la malattia coronarica, la malattia cerebrovascolare ischemica, l'ictus ischemico e la demenza vascolare in uno studio osservazionale di oltre 100.000 individui seguiti per oltre 9 anni. I ricercatori hanno quindi utilizzato una serie di *database* per condurre uno studio di randomizzazione mendeliana, da cui è emerso che ogni aumento unitario della conta dei neutrofili era associato a un aumento del 14% del rischio di CAD e del 22% del rischio di MI. Inoltre, è emerso che, mentre gli

agenti che riducono i lipidi non hanno un effetto significativo sul rapporto neutrofili/linfociti, il rapporto si riduce significativamente in terapia antinfiammatoria con canakinumab.

I neutrofili sono cellule mieloidi più comuni dei linfociti periferici e la loro misurazione è minimamente invasiva, poco costosa e molto affidabile. Questo li rende un biomarcatore ideale e semplice per diverse condizioni infiammatorie, tra cui l'aterosclerosi e altre forme di malattia cardiovascolare, sebbene non vi siano evidenze di un'associazione causale.



