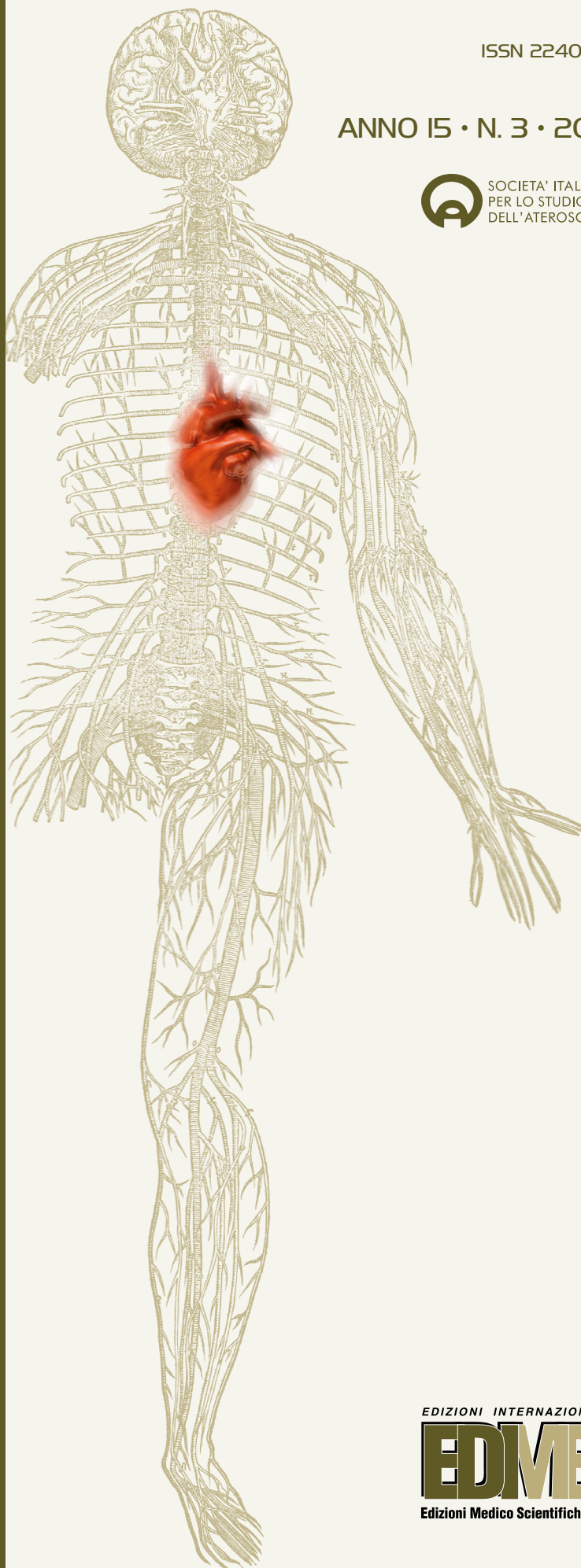




GIORNALE ITALIANO dell'ARTERIOSCLEROSI



ISSN 2240-4821

ANNO 15 • N. 3 • 2024



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)

Direttore scientifico
A.L. Catapano (Milano)

Editore
F. Angelico (Roma)

Vice Editori
M. Casula (Milano), D. Pastori (Roma)

Responsabili di area
Review e Linee Guida – P.E. Puddu (Roma)
Ricerca e Farmacologia – M. Gomarasci (Milano)
Studi Clinici – M. Pirro (Perugia)
Epidemiologia – S. Panico (Napoli)

Direttori emeriti
M. Averna, L. Cattin, G. Crepaldi
R. Fellin, E. Mannarino, E. Manzato
A. Mezzetti, G.F. Salvio, A. Ventura

Gruppo giovani SISA
F. Baratta (Roma), S. Lugari (Parma),
A. Giammanco (Palermo)

Comitato di Redazione
A. Baragetti (Milano)
C.M. Barbagallo (Palermo)
A. Belfiore (Bari)
F. Bonacina (Milano)
M. Bucci (Chieti)
M. Del Ben (Roma)
O. Guardamagna (Torino)
M.R. Mannarino (Perugia)
T. Montalcini (Catanzaro)
L. Pisciotto (Genova)
A. Poli (Milano)
T. Sampietro (Pisa)
R. Sarzani (Ancona)
P. Tarugi (Modena)
G.B. Vigna (Ferrara)
A. Zambon (Padova)

Segreteria editoriale
E. Loggia
R. Zecca
Via Balzaretti, 7 - 20133 Milano
E-mail: giornalearteriosclerosi@sisa.it; GIA@sisa.it

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

Anno 15 • N. 3 • 2024

SOMMARIO

■ CONSENSUS

- Documento di consenso sulla diagnosi e gestione della ipercolesterolemia familiare della Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi** 7 ▶
- Consensus document on diagnosis and management of familial hypercholesterolemia from the Italian Society for the Study of Atherosclerosis (SISA)**
P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, M. Arca, F. Angelico, M. Casula, A.B. Cefalù, L. D'erasmo, G. Fortunato, P. Perrone-Filardi, P. Rubba, P. Suppressa, M. Averna, A.L. Catapano

■ TERAPIA

- Dislipidemia e statine in pazienti con infezione da HIV-I: oltre l'effetto ipolipemizzante** 35 ▶
- Dyslipidaemia and statins in people living with HIV-I (PLWH): beyond the lipid-lowering effect**
M. Ridolfi, G. Gazzaniga, A. Lazzaro, T. Brogi, D. Pastori, I. Mezzaroma

■ MECCANISMI DI MALATTIA

- Vescicole extracellulari nel contesto dell'aterosclerosi** 50 ▶
- Extracellular vesicles in atherothrombosis**
M. Ruscica, A.S. Rizzuto, C. Macchi, I. Fichtner, S. Carugo, A. Corsini

■ FISIOPATOLOGIA

- I prodotti della glicazione avanzata (AGEs) come promotori di insulina resistenza** 60 ▶
- Advanced glycation end products (AGEs) as drivers of insulin resistance**
S. Angelini, F. Castaldo, R. Spaggiari, J.M. Sanz, D. Sergi, A. Passaro

■ FATTORI DI RISCHIO

- Fattori di rischio e meccanismi immuno-infiammatori che portano all'aterosclerosi: focus sul ruolo della disbiosi del microbiota orale** 75 ▶
- Risk factors and immune-inflammatory mechanisms that lead to atherosclerosis: focus on the role of dysbiosis in the oral microbiota**
M. Bucci, R.M. Ricciardi, A. Cipollone, D. D'ardes, M.C. Curia, F. Cipollone, P. Magni

■ NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI

- Notizie dall'European Atherosclerosis Society 2024** 89 ▶
- M. Casula*

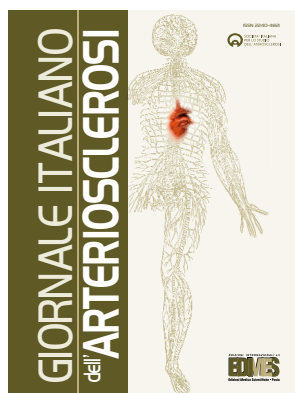
EDIZIONI INTERNAZIONALI srl

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

Alberico L. Catapano - *Presidente*
Carlo M. Barbagallo
Marco Bucci
Laura D'erasmo
Giuliana Fortunato
Luigi Gentile
Rossella Marcucci
Patrizia Suppressa
Maria Grazia Zenti
Marcello Arca - *Past President*
Matteo Pirro - *Segretario*

Presidenti

Sezioni Regionali SISA

Riccardo Sarzani (Adriatica)
Piero Portincasa (Appulo-Lucana)
Gabriella Iannuzzo (Campania)
Daniele Pastori (Lazio)
Alberto Corsini (Lombardia)
Katia Bonomo
(Piemonte-Liguria-Valle d'Aosta)
Mauro Mantega (Sardegna)
Angelo Baldassare Cefalu
(Siculo-Calabria)
Angelina Passaro (Tosco-Emiliana)
Marcello Rattazzi (Triveneto)
Massimo R. Mannarino (Umbria)



SOCIETÀ ITALIANA
PER LO STUDIO
DELL'ARTERIOSCLEROSI

Società Italiana per lo Studio dell'Arteriosclerosi

Viale Maresciallo Pilsudski, 118
00197 Roma

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

Direttore Responsabile: P. E. Zoncada

Norme editoriali

Pubblicità/Abbonamenti

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

Condizioni di abbonamento

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

Periodicità

Trimestrale

Scopi

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

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

TIPOLOGIA E STRUTTURA DEGLI ARTICOLI

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

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

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

Lavori originali

I lavori originali saranno sottoposti a processo di "peer review". La lunghezza del testo non deve superare

le 4.000 parole (esclusa la bibliografia) ma incluso l'abstract, con un massimo di 4 figure o tabelle.

Il frontespizio dovrà contenere:

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

Bibliografia

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

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

Rassegne

Il frontespizio dovrà contenere:

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

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

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

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

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

Glossario: È uno strumento di comunicazione fortemente raccomandato.

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

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

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

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

Casi clinici

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

Forum su Medicina, Scienza e Società

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

NOTE PER GLI AUTORI

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

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

PRESENTAZIONE DEL NUMERO

■ CONSENSUS

Documento di consenso sulla diagnosi e gestione della ipercolesterolemia familiare della Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi

Questo documento di consenso, sviluppato da parte di un gruppo di esperti della SISA fornisce linee guida per la diagnosi e trattamento dell'FH, patologia assai diffusa, ma sotto-diagnosticata e sotto-trattata. Il documento descrive l'epidemiologia dell'ipercolesterolemia familiare, le strategie di screening, le modalità di diagnosi molecolare e clinica e le raccomandazioni per la diagnosi e la valutazione clinica dell'FH eterozigote ed omozigote e la diagnosi e gestione clinica in popolazioni speciali. Infine, vengono descritte in modo dettagliato gli obiettivi terapeutici e le attuali opzioni terapeutiche sia nell' FH eterozigote che in quella omozigote. Il documento fornisce una guida pragmatica per migliorare la diagnosi precoce e pianificare terapie appropriate per ridurre il colesterolo LDL nell'FH ed è rivolto a tutti gli operatori sanitari che hanno in cura questi pazienti.

Consensus document on diagnosis and management of familial hypercholesterolemia from the Italian Society for the Study of Atherosclerosis (SISA)

This consensus document, developed by a group of SISA experts, provides guidelines for the diagnosis and management of FH, a widespread but underdiagnosed and undertreated disease. The document describes the epidemiology of familial hypercholesterolemia, screening strategies, molecular and clinical diagnostic modalities, and recommendations for the diagnosis and clinical evaluation of heterozygous and homozygous FH and the diagnosis and clinical management in special populations. Finally, the therapeutic targets and current treatment options in both heterozygous and homozygous FH are described in detail. The document provides pragmatic guidance to improve early diagnosis and plan appropriate therapies to lower LDL cholesterol in FH and is intended for all healthcare professionals who care for these patients.

Presentazione del numero

■ TERAPIA

Dislipidemia e statine in pazienti con infezione da HIV-1: oltre l'effetto ipolipemizzante

I pazienti con infezione da HIV-1 a causa dei progressi della terapia antiretrovirale hanno oggi una aspettativa di vita pressoché simile a quella dei soggetti non infetti e anche un simile rischio cardiovascolare. In particolare, nei soggetti con infezione da HIV è stata descritta la presenza di una dislipidemia mista legata in modo diretto o indiretto alla presenza del virus ed accentuata dall'assunzione di farmaci antivirali responsabili di effetti diretti sul metabolismo lipidico e sulla redistribuzione del grasso corporeo. La review esamina in dettaglio gli effetti delle differenti classi di farmaci antivirali sullo sviluppo della dislipidemia e sul profilo metabolico più in generale. Infine, viene ribadito il ruolo centrale della terapia con le statine e vengono descritti gli obiettivi e le strategie terapeutiche proposte dalle ultime linee guida sulla gestione della dislipidemia nei pazienti con infezione da HIV-1 e AIDS.

Dyslipidaemia and statins in people living with HIV-1 (PLWH): beyond the lipid-lowering effect

Patients with HIV-1 infection, due to the progress of antiretroviral therapy, now have a life expectancy almost like that of uninfected subjects and a similar cardiovascular risk. In subjects with HIV infection, the presence of a mixed dyslipidaemia has been described, directly or indirectly linked to the presence of the virus and accentuated by the intake of antiviral drugs responsible for direct effects on lipid metabolism and on the redistribution of body fat. The review examines in detail the effects of the different classes of antiviral drugs on the development of dyslipidaemia and on the metabolic profile more generally. Finally, the central role of statin therapy is reaffirmed and the objectives and therapeutic strategies proposed by the latest guidelines on the management of dyslipidaemias in patients with HIV-1 infection and AIDS are described.

■ MECCANISMI DI MALATTIA

Vescicole extracellulari nel contesto dell'aterosclerosi

Le vescicole extracellulari sono nano-particelle rilasciate nella maggior parte dei fluidi biologici da quasi tutti i tipi cellulari, sia in condizioni fisiologiche che di malattia. Esse svolgono un ruolo fondamentale nella comunicazione paracrina ed endocrina tra cellule. La rassegna descrive il loro ruolo sui principali processi fisiopatologici coinvolti nelle malattie cardiovascolari. Le vescicole extracellulari sono indicatori di danno cellulare o di malattia, ed anche effettori funzionali in alcuni processi fisiopatologici alla base della progressione del processo aterosclerotico. Esse emergono come promettenti biomarcatori di aterosclerosi subclinica e di malattia cardiovascolare a eziologia aterosclerotica.

Extracellular vesicles in atherothrombosis

Extracellular vesicles are nanoparticles released in biological fluids by almost all cell types, both in physiological and disease conditions. They play a fundamental role in paracrine and endocrine communication between cells. The review describes their role on the main pathophysiological processes involved in cardiovascular diseases. Extracellular vesicles are indicators of cellular damage or disease, and functional effectors in some pathophysiological processes underlying the progression of the atherosclerotic process. They emerge as promising biomarkers of subclinical atherosclerosis and cardiovascular disease of atherosclerotic aetiology.

Presentazione del numero

■ FISIOPATOLOGIA

I prodotti della glicazione avanzata (AGEs) come promotori di insulino resistenza

I prodotti della glicazione avanzata (AGEs) sono un gruppo eterogeneo di molecole formate dalla reazione non enzimatica tra uno zucchero riducente e un gruppo amminico libero. Gli AGE si formano tramite la reazione di Maillard durante la lavorazione industriale o la cottura dei cibi, e possono pertanto essere introdotti con la dieta e assorbiti nel tratto gastrointestinale. Gli AGEs possono anche essere prodotti in vivo in condizioni di insulino resistenza. L'articolo prende in considerazione i meccanismi biochimici alla base della loro formazione, la loro presenza negli alimenti crudi e cotti, il ruolo nell'infiammazione e lo stress ossidativo, le relazioni con l'insulino resistenza, la disponibilità biologica, le interazioni con il recettore specifico, e i meccanismi di detossificazione.

Advanced glycation end products (AGEs) as drivers of insulin resistance

Advanced glycation products (AGEs) are a heterogeneous group of molecules formed by the non-enzymatic reaction between a reducing sugar and a free amino group. AGEs are formed via the Maillard reaction during industrial processing or cooking of foods and can therefore be introduced through the diet and absorbed in the gastrointestinal tract. AGEs can also be produced in vivo under conditions of insulin resistance. The article takes into consideration the biochemical mechanisms underlying their formation, their presence in raw and processed foods, the role in inflammation and oxidative stress, the relationships with insulin resistance, the biological availability, the interactions with the specific receptor, and detoxification mechanisms.

■ FATTORI DI RISCHIO

Fattori di rischio e meccanismi immuno-infiammatori che portano all'aterosclerosi: focus sul ruolo della disbiosi del microbiota orale

La rassegna pone l'attenzione sul ruolo della disbiosi del microbiota orale, un nuovo possibile fattore di rischio non lipidico. Infatti, una vasta quantità di dati sperimentali e clinici mette in evidenza una stretta associazione fra disbiosi orale, infiammazione e rischio cardiovascolare mediata da meccanismi immuno-infiammatori responsabili dello sviluppo di disfunzione endoteliale e di invasione batterica diretta dell'endotelio. Gli autori sottolineano l'importanza di un approccio clinico multidisciplinare che veda una stretta collaborazione fra odontoiatri e clinici per la valutazione contemporanea dello stato di salute del cavo orale e della presenza di infiammazione cronica a basso grado nel contesto di future strategie di valutazione e riduzione del rischio cardiovascolare.

Risk factors and immune-inflammatory mechanisms that lead to atherosclerosis: focus on the role of dysbiosis in the oral microbiota

The review focuses on the role of oral microbiota dysbiosis, a new possible non-lipid risk factor. In fact, a large amount of experimental and clinical data highlights a close association between oral dysbiosis, inflammation and cardiovascular risk mediated by immuno-inflammatory mechanisms responsible for the development of endothelial dysfunction and direct bacterial invasion of the endothelium. The authors underline the importance of a multidisciplinary clinical approach that involves a close collaboration between dentists and clinicians for the simultaneous evaluation of the health status of the oral cavity and the presence of chronic low-grade inflammation in the context of future strategies for the evaluation and reduction of cardiovascular risk.

■ NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI

Notizie dall'European Atherosclerosis Society 2024



CONSENSUS

DOCUMENTO DI CONSENSO SULLA DIAGNOSI E GESTIONE DELLA IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE DELLA SOCIETÀ ITALIANA PER LO STUDIO DELL'ATEROSCLEROSI

Consensus document on diagnosis and management of familial hypercholesterolemia from the Italian Society for the Study of Atherosclerosis (SISA)

**PATRIZIA TARUGI¹, STEFANO BERTOLINI^{2†}, SEBASTIANO CALANDRA³, MARCELLO ARCA⁴,
FRANCESCO ANGELICO⁵, MANUELA CASULA^{6,7}, ANGELO B. CEFALÙ⁸, LAURA D'ERASMO⁴,
GIULIANA FORTUNATO⁹, PASQUALE PERRONE-FILARDI¹⁰, PAOLO RUBBA¹¹,
PATRIZIA SUPPRESSA¹², MAURIZIO AVERNA^{8,13}, ALBERICO L. CATAPANO^{14,15}**

¹Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena;

²Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova; ³Dipartimento di Scienze Biomediche,
Metaboliche e neuroscienze, Università di Modena and Reggio Emilia, Modena;

⁴Dipartimento di Medicina Traslazionale e di Precisione (DTPM), Università di Roma La Sapienza,
Policlinico Umberto I, Roma; ⁵Università di Roma La Sapienza, Policlinico Umberto I, Roma;

⁶Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DisFeB), Epidemiologia e Servizio di
Farmacologia Preventiva (SEFAP), Università di Milano; ⁷IRCCS Multimedica, Sesto San Giovanni, Milan;

⁸Dipartimento di Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna
e Specialistica di Eccellenza (PROMISE), Università di Palermo; ⁹Dipartimento di Medicina Molecolare
e Biotecnologie Mediche, Università Federico II di Napoli e CEINGE Biotecnologie avanzate

"Franco Salvatore", Napoli; ¹⁰Dipartimento di Scienze Biomediche avanzate, Università Federico II
di Napoli; ¹¹Dipartimento di Medicina Interna e Chirurgia, Università Federico II di Napoli;

¹²Dipartimento di Medicina Interna e Malattie Rare Centro "C. Frugoni", Università A. Moro di Bari;

¹³Istituto di Biofisica CNR, Palermo; ¹⁴Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,
Università di Milano; ¹⁵IRCCS Multimedica, Milano; [†]Deceduto durante la preparazione
del manoscritto

Indirizzo per la corrispondenza

Patrizia Tarugi
tarugi@unimore.it

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

SUMMARY

Aims. Familial Hypercholesterolemia (FH) is a genetic disorder of lipoprotein metabolism that causes an increased risk of premature atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD). Although early diagnosis and treatment of FH can significantly improve the cardiovascular prognosis, this disorder is underdiagnosed and under-treated. For these reasons the Italian Society for the Study of Atherosclerosis (SISA) assembled a Consensus Panel with the task to provide guidelines for FH diagnosis and treatment.

Data synthesis. Our guidelines include: i) an overview of the genetic complexity of FH and the role of candidate genes involved in LDL metabolism; ii) the prevalence of FH in the population; iii) the clinical criteria adopted for the diagnosis of FH; iv) the screening for ASCVD and the role of cardio-vascular imaging techniques; v) the role of molecular diagnosis in establishing the genetic bases of the disorder; vi) the current therapeutic options in both heterozygous and homozygous FH. Treatment strategies and targets are currently based on low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels, as the prognosis of FH largely depends on the magnitude of LDL-C reduction achieved by lipid-lowering therapies. Statins with or without ezetimibe are the mainstay of treatment. Addition of novel medications like PCSK9 inhibitors, ANGPTL3 inhibitors or lomitapide in homozygous FH results in a further reduction of LDL-C levels. LDL apheresis is indicated in FH patients with inadequate response to cholesterol-lowering therapies.

Conclusion. FH is a common, treatable genetic disorder and, although our understanding of this disease has improved, many challenges still remain with regard to its identification and management.

Key words: Familial hypercholesterolemia, epidemiology, clinical and molecular characteristics, atherosclerotic cardiovascular diseases, cholesterol lowering treatments.

Introduzione

La definizione di Ipercolesterolemia Familiare (FH) comprende i disordini a trasmissione semi-dominante o recessiva, precedentemente definiti come ipercolesterolemia autosomica dominante (ADH) e ipercolesterolemia autosomica recessiva (ARH). Indipendentemente del tipo di trasmissione, questi disordini sono caratterizzati da elevati livelli plasmatici di colesterolo trasportato dalle lipoproteine a bassa densità (LDL-C) fin dalla nascita, derivante da difetti nel meccanismo responsabile della rimozione epatica recettore-mediata delle LDL plasmatiche (1-4).

I geni coinvolti nell'ADH includono:

- 1) *LDLR* che codifica per il recettore LDL (LDLR) (ADH-1).
- 2) *APOB*, che codifica per l'apolipoproteina B-100 (apoB-100), il principale componente proteico delle LDL, responsabile del legame delle particelle LDL con LDLR (ADH-2).
- 3) *PCSK9*, che codifica per la Proproteina Convertasi Subtilisina/Kexina Tipo 9 (PCSK9),

una proteina che promuove la degradazione intracellulare del LDLR (ADH-3). L'ADH è causata da varianti con perdita di funzione (LOF) dei geni *LDLR* e *APOB* o da varianti con guadagno di funzione (GOF) del gene *PCSK9* (Tabella 1 e Figura 1) (1, 5).

L'ARH è dovuta a varianti LOF del gene *LDLRAP1* che codifica per la proteina adattatrice tipo 1 del recettore LDL, coinvolta nel reclutamento del LDLR nelle fossette rivestite di clatrina sulla membrana cellulare degli epatociti e la sua internalizzazione cellulare (Tabella 1 e Figura 1) (6).

La complessità molecolare dell'FH deriva dal fatto che le varianti causative nei geni candidati può essere presente in 1 allele (genotipo eterozigote) o in 2 alleli (genotipo omozigote). Inoltre, il genotipo omozigote può coinvolgere un solo gene candidato (forma monogenica) o due diversi geni candidati (forma digenica).

La caratterizzazione molecolare di un gran numero di pazienti con ADH ha dimostrato che più del 90% di essi hanno una variante LOF del gene *LDLR*. Più di 2500 varianti di questo gene

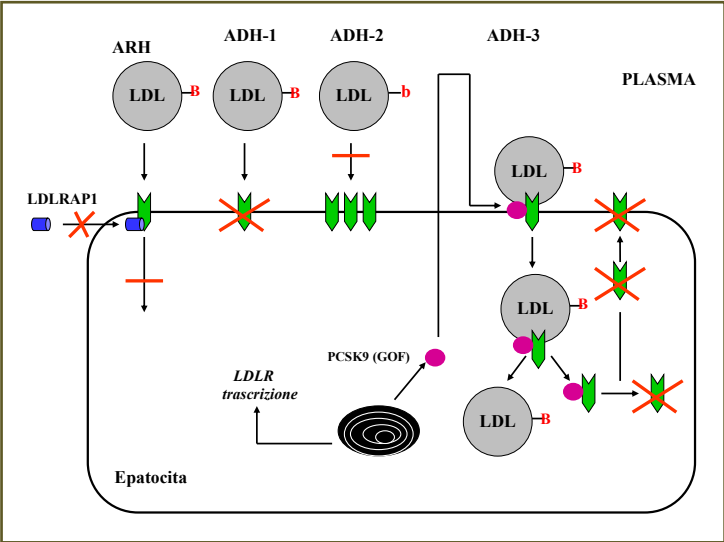


Figura I
Effetto delle varianti patogeneiche dei principali geni candidati nella ipercolesterolemia autosomica dominante (ADH) e nell'ipercolesterolemia autosomica recessiva (ARH).
L'ADH-1 è dovuta a varianti con perdita di funzione del gene LDLR che riducono/aboliscono l'attività del recettore LDL (LDLR). L'ADH-2 è dovuta a varianti con perdita di funzione del gene APOB che riducono il legame delle LDL al LDLR. L'ADH-3 è dovuta a varianti con guadagno di funzione (GOF) del gene PCSK9 che aumentano la capacità di PCSK9 di indurre la degradazione lisosomiale del LDLR internalizzato. ARH è dovuta a varianti con perdita di funzione del gene LDLRAP1 che riducono/aboliscono l'attività di una proteina adattatrice coinvolta nel posizionamento del LDLR sulle fossette rivestite della membrana plasmatica.

sono state riportate nelle banche dati disponibili. Varianti LOF del gene *APOB*, che bloccano il legame delle LDL con LDLR, sono state riscontrate nel 3-8% dei pazienti con FH. Meno dell'1% dei pazienti è portatore di una variante GOF del gene *PCSK9*, con conseguente aumento della degradazione lisosomiale del LDLR e un difetto nella cattura epatica delle LDL plasmatiche mediata dal recettore (1, 5). Diverse varianti LOF patogeneiche del gene

LDLRAP1 sono state riscontrate nei rari pazienti con ARH (6, 7).
Esistono altri disordini genetici del metabolismo del colesterolo che imitano il fenotipo FH come: la Sitosterolemia (varianti dei geni *ABCG5* o *ABCG8*) (8-10) e il Deficit di lipasi acida lisosomiale (varianti del gene *LIPA*) disordini caratterizzati da difetti del metabolismo del colesterolo non primariamente correlati alla funzione del LDLR (11). Solo pochi pazienti

Tabella I - Geni associati a cause monogeniche di elevati livelli plasmatici di LDL colesterolo.

	Geni	Cr.	Varianti Patogeneiche	Tipo di Variante	Modalità di Trasmissione	Prevalenza di varianti geniche nei pazienti FH
FH Classica	<i>LDLR</i>	19p13.2	> 2500	LOF	AD (ADH-1)	92-94%
	<i>APOB</i>	2p24.1	~ 16	LOF	AD (ADH-2)	<5%
	<i>PCSK9</i>	1p32.3	~ 32	GOF	AD (ADH-3)	<0.5%
	<i>LDLRAP1</i>	1p36.11	~ 25	LOF	AR (ARH)	<1%
FH Fenocopie	<i>APOE</i>	19q13.32	2	LOF	AD	<<<0.1%
	<i>ABCG5</i>	2p21	~ 45	LOF	AR (Sitosterolemia)	<<<1%
	<i>ABCG8</i>	2p21	~ 60	LOF	AR (Sitosterolemia)	<<1%
	<i>LIPA</i>	10q23.31	~ 100	LOF	AR (Deficit di Lipasi Acida Lisosomiale)	<1%

Cr: cromosoma, AD: autosomico dominante, ADH: ipercolesterolemia autosomica dominante, AR: autosomico recessivo; ARH: ipercolesterolemia autosomica recessiva, LOF: perdita di funzione, GOF: guadagno di funzione.

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

sono affetti da queste condizioni in quanto il fenotipo lipidico è presente solo negli omozigoti. Recentemente, pazienti con fenotipo FH-simile con trasmissione dominante sono stati trovati portatori di due varianti LOF estremamente rare del gene *APOE* (12, 13).

Infine, va sottolineato che una grande percentuale di soggetti adulti affetti da ipercolesterolemia primitiva non ha una alterazione facilmente identificabile nei geni candidati noti (soggetti designati con fenotipo positivo/genotipo negativo) (1, 5). È stato segnalato che una percentuale variabile di questi soggetti ha ereditato una combinazione di varianti genetiche comuni che aumentano il colesterolo LDL (ereditarietà poligenica) il cui effetto additivo risulterebbe in una “fenocopia” di FH (14-16).

Un'altra condizione genetica di ipercolesterolemia può essere correlata all'aumento della lipoproteina (a) (Lp(a)), una particella di dimensioni analoghe alle LDL legata covalentemente alla glicoproteina apo(a) (17-19).

Epidemiologia dell'ipercolesterolemia familiare

Storicamente, la prevalenza dell'FH eterozigote (HeFH) era considerata pari a 1 persona su 500, così come derivato matematicamente dalla prevalenza della più rara forma omozigote di FH rilevata nella popolazione di Londra (20). Negli ultimi dieci anni questa stima è stata ridefinita principalmente grazie agli studi sulla popolazione danese che hanno indicato che la prevalenza di FH era più elevata di quanto si pensasse in precedenza (21, 22). Successivamente, questi risultati sono stati confermati in altre popolazioni e ampie meta-analisi hanno determinato che la prevalenza globale di HeFH è 1 su circa 250-300 nella maggior parte delle popolazioni (23-25).

I dati sulla prevalenza in Italia sono scarsi, principalmente a causa della mancanza in Italia di programmi di screening sistematici nella popolazione generale. Alcune esperienze locali,

rispettivamente utilizzando un cut-off di LDL-C ≥ 190 mg/dl o i criteri Dutch Lipid Clinic Network (DLCN), hanno riportato stime che vanno dall'1,46% allo 0,18% nella popolazione generale (26-28) e dal 2,3% al 3,5% tra i pazienti trattati con statine (26, 29).

Le meta-analisi mostrano chiaramente come questa prevalenza sia più alta nei sottogruppi di soggetti con ASCVD prematura. Infatti, uno studio recente ha dimostrato che la prevalenza di HeFH è 20 volte maggiore tra i soggetti affetti da ASCVD prematura e 23 volte più elevata tra quelli con ipercolesterolemia grave (25). Di conseguenza, i dati dello studio POSTER su pazienti con ASCVD recente o sottoposti a procedure di rivascolarizzazione (30) e del registro START su pazienti con malattia coronarica stabile (CAD) hanno riportato una prevalenza di 1 su 20-40 (31).

Anche la prevalenza nella popolazione pediatrica è scarsamente documentata. Stime da meta-analisi sono paragonabili a quelle riscontrate negli adulti (0,28%-0,36%) (23). Esperienze derivate da alcuni programmi di screening sistematici riportano una prevalenza dello 0,1-0,3% (32, 33). Un'esperienza italiana di un programma di screening ha suggerito che il 17,2% di una coorte di bambini ipercolesterolemici non relati (TC $>90^{\circ}$ percentile), sulla base del fenotipo familiare, avrebbe potuto essere classificato come probabile HeFH, con conferma genetica ottenuta in circa la metà di questi bambini (34).

La forma omozigote di FH (HoFH), d'altro canto è molto più rara. Stime nella popolazione italiana hanno suggerito una prevalenza compresa tra 1:350.000 e 1:450.000 (8, 35). In Italia, è stata trovata una elevata prevalenza, circa 1:40.000, dell'ARH nell'isola di Sardegna (36), probabilmente causata da una combinazione di deriva genetica, consanguineità e isolamento geografico (37).

Le meta-analisi mostrano anche un'elevata variabilità delle stime di prevalenza, in parte dovuta alla differenza di localizzazione geografica ed etnica delle popolazioni incluse, ma per

lo più legata al criterio di definizione della malattia, che può essere diagnosticata su base clinica o genetica. Poiché la presenza di una variante patogena è stata descritta nel 30-80% degli individui clinicamente diagnosticati (38) e poiché la conoscenza delle basi genetiche della malattia è ancora in evoluzione (39), non è sorprendente che le stime della prevalenza di HeFH nella popolazione generale variano dallo 0,12% all'1,2% (prevalenza complessiva aggregata 0,40%) (24).

Epidemiologia dell'FH

La FH non è una malattia rara. È importante che medici, pediatri e specialisti siano consapevoli che l'HeFH si può riscontrare in:

- 1 su ~250-300 soggetti adulti
- 1 su 20-40 pazienti adulti con ipercolesterolemia (LDL-C >5,0 mmol/L, > 190 mg/dL) o con coronaropatia
- 1 su 6 pazienti pediatrici con ipercolesterolemia (colesterolo totale > 90° percentile, 4,9 mmol/L, 190 mg/dL)

In Italia, l'FH presenta un background genetico altamente eterogeneo. Tuttavia, diverse varianti patogeniche sono ricorrente in pazienti non relati, portando all'identificazione di più di dieci cluster LDLR, come ad esempio quello rappresentato dai portatori della variante c.1646G>A, p.(G549D) (FH Palermo-1), comprendente 78 famiglie distribuite prevalentemente nelle regioni meridionali dell'Italia continentale e in Sicilia; la variante c.662A>G, p.(D221G) (FH Padova-1), che include 97 famiglie apparentemente non relate per lo più distribuite nelle zone nord-orientali dell'Italia; la variante c.1415_1418dupACAT, p.(Q474Hfs*63) (FH Savona-1), comprendente 52 famiglie della regione Liguria (40); la variante c.1775G>A, p.(G592E) (FH Foggia-1), descritta in 40 famiglie del Sud Italia (41); la variante c.2312-3C>A, p.(A771_I796del) (FH Napoli-8), descritta in 39 famiglie della regione Campania (42).

Modalità di screening di FH

Nell'HeFH e HoFH, l'esposizione a livelli di LDL-C alti e molto alti inizia rispettivamente alla nascita ed i medici possono calcolare per ciascun paziente con FH il carico di LDL-C (anni di esposizione moltiplicati per il valore medio di LDL-C) (43). Le conseguenze cliniche di un carico di LDL-C così elevato sono:

- 1) l'accelerazione dell'aterogenesi e l'anticipazione degli eventi clinici cardiovascolari rispetto ai soggetti non-FH;
- 2) la necessità di identificare i pazienti FH, in particolare i bambini FH, per iniziare il più presto possibile, gli interventi terapeutici (44).

L'efficacia della prevenzione cardiovascolare nei soggetti affetti da FH dipende strettamente dalla tempistica della diagnosi: quanto prima viene diagnosticata al paziente, tanto prima è possibile iniziare il trattamento e migliore è la prognosi clinica. Per questo motivo sono stati proposti e implementati diversi approcci di screening (45, 46). Il più semplice ed il meno costoso (47), è lo screening a cascata, ovvero l'indagine sui parenti di primo grado di una persona con diagnosi di FH, soprattutto quando la diagnosi è confermata dai test genetici. Questo approccio gioca un ruolo fondamentale soprattutto in età pediatrica, poiché in questa fascia di età le caratteristiche cliniche della malattia sono spesso ancora scarsamente manifeste (48). Nella maggior parte dei casi, i soggetti FH vengono identificati attraverso uno screening opportunistico, spesso iniziando con il riscontro di valori elevati di colesterolo o in seguito allo sviluppo di un evento cardiovascolare in età precoce, soprattutto se accompagnato da una storia familiare di ipercolesterolemia o di eventi cardiovascolari. Il principale limite di questo approccio è la stretta dipendenza dalla sensibilità e consapevolezza del clinico, che si tratti di medico di medicina generale, pediatra, endocrinologo, cardiologo o altri (49, 50). I sistemi elettronici

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

di estrazione dati e i sistemi di allerta clinica, integrati nei sistemi informativi sanitari digitali, potrebbero essere utili nell'identificazione dei casi indice (26). Infine, un approccio possibile è lo screening sistematico in età prescolare o scolare. Questo approccio è sicuramente più dispendioso, ma è stato dimostrato essere economicamente vantaggioso (51), come confermato dall'esempio della Slovenia in Europa (52).

I risultati dell'implementazione di diverse strategie in diversi paesi suggeriscono che la combinazione di diversi approcci è probabilmente il modo più efficace per migliorare la diagnosi di FH. Tuttavia, le modalità di screening devono essere adattate per soddisfare i diversi contesti economici, sociali e sanitari.

Diagnosi molecolare dei pazienti FH

Analisi molecolare

Nonostante la diagnosi clinica possa identificare i pazienti con FH consentendo un trattamento immediato, la diagnosi molecolare è obbligatoria per:

- 1) confermare la diagnosi;
- 2) definire lo stato genetico;
- 3) avviare lo screening a cascata.

Il sequenziamento di nuova generazione

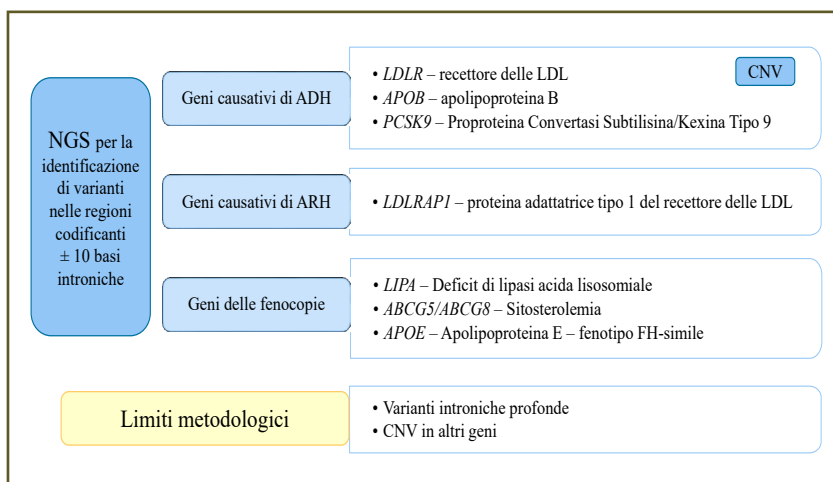
(NGS) ha migliorato l'analisi genetica dei pazienti con FH consentendo l'analisi di più geni contemporaneamente. Sono possibili due approcci NGS: uno basato su un pannello di geni specifici per FH e un altro basato sul sequenziamento dell'esoma che consente la sequenza delle regioni codificanti di tutti i geni concentrando l'analisi delle varianti sui geni causativi (53). NGS dovrebbe essere impostato in modo tale da consentire anche l'identificazione di varianti del numero di copie (CNV) almeno nel gene *LDLR* anche se in casi molto rari, le CNV negli altri geni causativi possono essere la causa patogenica dell'FH, come dimostrato nel caso della duplicazione dell'intero gene *PCSK9* (54). L'analisi genetica dell'FH e le limitazioni metodologiche sono riportate nella *Figura 2*.

A causa della parziale sovrapposizione fenotipica tra HeFH e HoFH, lo stato genetico dei pazienti dovrebbe essere accuratamente definito dallo stato delle varianti come segue:

- 1) in caso di presenza di 2 varianti diverse nello stesso gene, dovrebbe essere eseguita l'analisi della segregazione delle varianti per determinare se le 2 varianti sono presenti sullo stesso allele (variante eterozigote) o su alleli diversi (bialleliche noto anche come "varianti etero-composte");

Figura 2

Geni e approccio analitico per lo screening genetico dell'FH. Il sequenziamento di nuova generazione (NGS) dovrebbe essere impostato per rilevare piccole varianti nella regione codificante e nelle giunzioni esone-introne (almeno 10 basi introniche) dei geni indicati e varianti del numero di copie (CNV) almeno del gene *LDLR*. La CNV del gene *LDLR* potrebbe eventualmente essere valutata mediante MLPA (Multiplex ligation dependent probe amplification). (ADH, Ipercolesterolemia autosomica dominante; ARH, ipercolesterolemia autosomica recessiva).



2) in caso di riscontro di 2 copie di una stessa variante (HoFH “vero” o “semplice”), lo status di omozigote non può essere stabilito direttamente; in effetti, dovrebbe essere verificata l’assenza di CNV compresa nella regione della variante per escludere un possibile stato di omizigote/eterozigote composto. Se ciò non è possibile con i metodi utilizzati, dovrebbe essere eseguito uno studio di segregazione per verificare che la variante sia presente in entrambi i genitori del paziente.

Il punteggio poligenico per il colesterolo LDL elevato deve essere calcolato nei pazienti senza varianti rare nei geni candidati perché potrebbe rappresentare una base genetica dell’ipercolesterolemia in un gran numero di pazienti (55).

Valutazione della patogenicità

Una valutazione accurata della patogenicità è obbligatoria per definire correttamente il genotipo del paziente al fine di attribuire la patogenicità della variante solo in caso di evidenze scientifiche. Bisognerebbe valutare le varianti secondo le linee guida dell’American College of Medical Genetics (ACMG) considerando i suggerimenti specifici per l’FH come proposto da Chora et al. (56). Il consorzio ClinGen

ha inoltre migliorato la valutazione di patogenicità delle varianti del LDLR (57). Ad esempio, l’assegnazione di patogenicità relativa alla presenza di varianti nei database non si basa solo sull’assenza della variante, ma anche sulla sua presenza con una bassa frequenza, a causa dell’alta frequenza di FH.

I database contenenti varianti patogeniche (HGMD professional, ClinVar e LOVD) con relativa evidenza scientifica (studi funzionali specifici, cosegregazione della variante con il fenotipo, ecc.) devono essere consultati al fine di formulare una corretta valutazione. Recentemente, è stato creato un database di varianti del gene *LDLR* con attribuzione di patogenicità approvata dal gruppo di esperti ClinGen FH Variant Curation; tutte le varianti incluse sono state riviste dagli esperti e contrassegnate come approvate dalla FDA (https://www.clinicalgenome.org/affiliation/50004/#heading_documents).

Referto genetico

I referti genetici dovrebbero indicare chiaramente la metodologia utilizzata, i risultati ottenuti ed i commenti specifici su ogni singolo caso. La *tabella 2* elenca gli aspetti principali di cui tenere conto nella stesura del referto genetico di un paziente con FH.

Tabella 2 - Aspetti rilevanti per la diagnosi del paziente da evidenziare nel referto genetico.

Sezione	Note	Potenziati implicazioni per medici/laboratori
Metodi	La metodologia utilizzata dovrebbe essere descritta al fine di dedurre i limiti della procedura, ad esempio geni non analizzati, bassa copertura che impedisce il rilevamento di CNV, ecc. I limiti del metodo dovrebbero essere specificati anche nel referto genetico.	Permette di stabilire se è opportuno estendere lo screening genetico.
Risultati	Le varianti genetiche devono essere riportate secondo l’attuale nomenclatura ufficiale della Human Genome Variation Society (HGVS - http://varnomen.hgvs.org/).	Permette di identificare correttamente la variante per lo screening a cascata e per l’analisi delle varianti nei database.
	La valutazione della patogenicità dovrebbe essere riportata per comprendere il ruolo della variante nello sviluppo della malattia.	Permette di definire correttamente lo stato genetico del paziente.

Continua >>>

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

>>> Continua

Sezione	Note	Potenziali implicazioni per medici/laboratoristi
Risultati	La variante di significato incerto (VUS) dovrebbe essere segnalata poiché diverse varianti sono classificate come VUS a causa della mancanza di prove e studi futuri potrebbero rivelarne la patogenicità.	I pazienti con VUS potrebbero essere facilmente riclassificati come pazienti con varianti patogeniche.
	In caso di identificazione di due varianti diverse, se non è stato effettuato alcuno studio di cosegregazione, una considerazione precauzionale dovrà segnalare che le varianti identificate potrebbero essere presenti sia sullo stesso allele che su due alleli diversi, impedendo la corretta definizione del genotipo HeFH o HoFH	Permette di definire correttamente il genotipo del paziente come HeFH o HoFH.
	In caso di identificazione di una variante allo stato omozigote, se il metodo non ha consentito di verificare l'assenza di CNV o se non è stato eseguito alcuno studio di cosegregazione, una considerazione precauzionale dovrà riportare che il paziente potrebbe essere sia omozigote che eterozigote composto a causa di un eventuale CNV presente nella regione della variante.	L'identificazione di un allele con una delezione è importante per eseguire lo screening a cascata.
Conclusioni / commenti aggiuntivi	In caso di rilevamento di una variante patogena, si dovrebbe raccomandare lo screening dei familiari del paziente. In caso di varianti bialleliche (stato omozigote o eterozigote composto), dovrebbe essere chiaramente indicato che tutti i figli del paziente saranno HeFH obbligati.	Il referto genetico può indurre il paziente o il medico del paziente a eseguire l'analisi molecolare dei familiari, identificando così ulteriori pazienti con FH.
	In caso di pazienti senza varianti patogeniche, il referto deve indicare chiaramente che potrebbero essere presenti ulteriori varianti causative in relazione ai limiti del metodo utilizzato.	Permette di stabilire se è opportuno estendere lo screening genetico.

Correlazioni genotipo-fenotipo

L'identificazione di una variante patogena aiuta a stimare la valutazione del rischio cardiovascolare in quanto tra i pazienti con lo stesso livello di LDL-C, il rischio cardiovascolare è risultato più elevato nei portatori di una variante patogena rispetto ai non portatori (58). L'identificazione del tipo di variante e la corretta definizione dello stato genetico (HeFH o HoFH) può anche migliorare la stratificazione del rischio. I diversi aspetti della genetica FH e della loro correlazione con il fenotipo sono riportati nella *tabella 3* (40-41, 58, 60-66, 70).

Diagnosi clinica dell'ipercolesterolemia familiare

Esistono diversi criteri diagnostici clinici per definire la probabilità che un dato soggetto sia

affetto da FH. In particolare, devono essere considerati fondamentali per la diagnosi l'età in cui vengono rilevati per la prima volta elevati livelli di LDL-C (>5,0 mmol/L negli adulti e >3,5 mmol/L nei bambini; >190 mg/dL e >135 mg/dL rispettivamente), la presenza di xantomi tendinei, manifestazioni di ASCVD prematuro e una storia familiare positiva (1). Tutte le informazioni della storia clinica sono utili per costruire un punteggio (es. punteggio DLCN), che fornisce una panoramica della condizione di rischio cardiovascolare del paziente. Altri indici diagnostici possono essere utilizzati per la diagnosi clinica di FH oltre ai criteri DLCN, il sistema Simon Broome (67), e l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) (68). Secondo le linee guida ESC/EAS del 2019 per la gestione delle dislipidemie (63), è consigliato l'uso del punteggio DLCN per la diagnosi clinica di FH. I pazienti

Tabella 3 - Caratteristiche della genetica FH che influiscono sulla diagnosi e sulla gestione dei pazienti FH.

Correlazioni genotipo-fenotipo	Conseguenze cliniche
La presenza di una variante patogenica: 1) conferisce un aumento del rischio cardiovascolare (58,70); 2) è associato a livelli di LDL-C più elevati negli adulti e nei bambini (60-62).	I pazienti con una variante causativa di FH dovrebbero essere considerati ad alto rischio cardiovascolare secondo le linee guida EAS (63).
I pazienti con 2 varianti patogeniche (HoFH) mostrano un fenotipo più grave rispetto HeFH (60). Tuttavia, è possibile osservare una sovrapposizione dei livelli di LDL-C tra i pazienti con 2 varianti e i pazienti con una variante.	Basandosi solo sui livelli di LDL-C non è possibile effettuare una differenziazione precisa tra HeFH e HoFH. L'analisi molecolare consente di determinare lo stato genetico, consentendo di identificare gli HoFH che necessitano di terapie più aggressive.
Tra i diversi tipi di varianti, i pazienti con varianti nulle mostrano un fenotipo più grave rispetto ai pazienti con alleli difettosi. In alcuni casi, i pazienti HeFH con un allele nullo mostrano un fenotipo simile ai pazienti HoFH (58).	L'identificazione della variante causativa e del grado di compromissione proteica associata consente una valutazione prognostica del rischio cardiovascolare del paziente.
I pazienti con varianti patogeniche nel gene LDLR mostrano un fenotipo più grave rispetto ai pazienti con varianti patogeniche in altri geni (62).	
I pazienti con varianti causative dell'FH (FH monogenica) ed eterozigoti per varianti nei geni della fenocopia di FH (FH oligogenica) mostrano un fenotipo più grave rispetto all'FH monogenica (64).	La ricerca di varianti nelle fenocopie FH può aiutare a identificare i pazienti predisposti a sviluppare un'ipercolesterolemia più grave rispetto ai pazienti FH monogenici.
È stata osservata un'ampia variabilità dei fenotipi tra i pazienti che condividevano la stessa variante o lo stesso tipo di variante (41,60).	La presenza di una variante potrebbe portare a diversi livelli di LDL-C tra i pazienti che condividono la stessa variante nella famiglia.
È stata osservata una penetranza incompleta tra HeFH portatori di varianti APOB funzionalmente dimostrate essere causa di una diminuzione del legame delle LDL con LDLR (65).	All'interno di una famiglia, non tutti i membri con la stessa variante patogenica del gene APOB svilupperanno ipercolesterolemia.
La presenza dell'effetto fondatore in specifiche aree geografiche porta ad un'elevata prevalenza di specifiche varianti genetiche, spiegando anche un'alta frequenza di FH (40, 66).	Esiste un'alta probabilità di FH geneticamente determinata in regioni con un effetto fondatore di varianti causative di FH; ciò implica la necessità di un approccio più ampio di screening molecolare.

con diagnosi clinica definitiva di FH necessitano di una terapia ipolipemizzante intensiva poiché elevati livelli di LDL-C sono la causa fondamentale di un aumento del rischio cardiovascolare a prescindere dalla diagnosi genetica.

È stato riportato che il 60-80% dei pazienti con FH clinicamente “definita” risultano essere positivi alla diagnosi molecolare, mentre nei pazienti con FH “probabile” solo il 21-44% risultano essere positivi. Inoltre, il livello di LDL-C è “cruciale”, poiché la probabilità di trovare una variante causativa nei geni candidati FH è maggiore in presenza di livelli plasmatici di LDL-C estremamente elevati (1). Va sottolineato che

un fenotipo FH come definito dai criteri della diagnostica clinica attualmente utilizzata (ad esempio DLCN o Simon Broome) può avere diverse cause genetiche (monogenico/digenico, poligenico o multifattoriale). Per tenere conto di questa eterogeneità è stato proposto l'utilizzo del termine “sindrome FH” (69).

Raccomandazioni per la diagnosi e la valutazione clinica della Ipercolesterolemia Familiare Eterozigote
Valutazione clinica

Esistono diversi dati clinici che possono essere utili per sollevare il sospetto di FH. Sono

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

elencati nel RIQUADRO 2 e devono essere sempre parte dello screening clinico in un paziente con sospetta FH. Tuttavia, la presenza di altri importanti fattori di rischio cardiovascolare (diabete mellito, abitudine al fumo, ipertensione arteriosa) nonché l'esclusione delle iperlipidemie secondarie, devono essere presi in considerazione. In questo contesto, dovrebbero essere inclusi nel pannello lipidico di base di un paziente con FH i risultati biochimici di routine: il dosaggio di trigliceridi plasmatici (TG), di HDL-C, apoB e Lp(a).

Per definire meglio l'esposizione del paziente ad elevate concentrazioni di LDL-C è utile raccogliere informazioni sul grado di controllo dell'ipercolesterolemia negli ultimi anni in relazione agli interventi farmacologici ed ai cambiamenti nello stile di vita.

Ulteriori indagini dovrebbero coinvolgere i familiari del paziente per stabilire: i) i livelli di LDL-C; ii) la presenza di xantomi e di eventi cardiovascolari. L'età in cui si presentano le prime manifestazioni cliniche di malattie cardiovascolari dovrebbe essere registrata (RIQUADRO 2).

La presenza di xantomi dovrebbe essere ricercata sistematicamente nei pazienti con sospetta FH; anche il tipo di xantomi (tendini, cutanei planari o tuberosi) e la loro localizzazione (tendini di Achille, tendini estensori della mano, interdigitali, ginocchia, gomiti, altre sedi) devono essere descritti. Lo spessore del tendine di Achille deve essere valutato mediante palpazione, con la consapevolezza della disponibilità di sistemi ecografici, metodi molto sensibili per il rilevamento e utili per il follow-up dell'accumulo locale di colesterolo.

L'arco corneale è di interesse diagnostico nei pazienti più giovani, mentre in età avanzata (>70 anni) rappresenta un reperto clinico aspecifico, non necessariamente associato a ipercolesterolemia (RIQUADRO 2). La misurazione della pressione arteriosa dovrebbe essere necessariamente parte della valutazione cardiovascolare del paziente con FH. È necessario ese-

guire un elettrocardiogramma standard (ECG) per rilevare segni di sospetta ischemia miocardica, sebbene ci si aspetti che un ECG da sforzo sia più sensibile per rilevare l'ischemia. L'ecografia carotidea è diventata molto popolare a causa della sua non invasività, del costo relativamente basso e del riconosciuto potere predittivo per gli eventi cardiovascolari. È possibile eseguire la scansione carotidea bilaterale secondo una procedura standardizzata, che consente la misurazione dell'ispessimento intima-media delle arterie carotidi comuni (CIMT), biforcazione e arterie carotidi interne. L'identificazione di placche carotidee (aree di ispessimento localizzato >2,0 mm, con perdita di parallelismo delle interfacce ultrasonografiche) è

Work-up clinico nei pazienti con FH

Storia clinica

- Livelli di LDL-C (pazienti e familiari di primo grado) – Età di rilevamento di livelli elevati di LDL-C e tempo di esposizione (pazienti)
- Storia di livelli di LDL-C elevati (pazienti) - Storia del trattamento farmacologico
- Fumo di sigaretta, Pressione arteriosa, Diabete mellito
- Esclusione dell'ipercolesterolemia secondaria – Biochimica di routine – TG, HDL-C, ApoB, Lp(a)
- Xantomi (tipologia, sedi, età di rilevazione) e arco corneale (pazienti e familiari)
- Malattia cardiovascolare clinica (IM, ictus, PVD, aneurisma aortico) – Età del primo evento
- Utilizzo dei criteri DLCN

Esame clinico

- Xantomi (tipo e sede) e arco corneale (età della prima rilevazione)
- Pressione arteriosa, ECG, Ecocardiografia, Ecografia carotidea (ispessimento della intima-media, placca)
- Indagini strumentali, su indicazione del cardiologo

ApoB: apolipoproteina B; ECG: elettrocardiogramma; HDL-C: HDL colesterolo; LDL-C: LDL colesterolo; Lp(a): lipoproteina (a); IM: infarto miocardico; PVD: malattia vascolare periferica; TG: trigliceridi.

critica. La presenza di calcificazione della placca suggerisce una placca relativamente stabile, mentre le placche eculucenti sono quelle più soggette a complicanze trombotiche. L'ecocardiografia fa parte della valutazione cardiologica del paziente FH. Le anomalie della valvola aortica sono più specificamente correlate alla ipercolesterolemia. In generale, l'estensione e la gravità del danno cardiovascolare sono direttamente correlate all'ipercolesterolemia (gravità e anni di esposizione) e alla tipologia della variante patogenica causativa: allele negativo (allele nullo) o allele con attività funzionale residua (allele difettoso) (vedi oltre) (70).

Gestione del paziente FH

I pazienti con FH dovrebbero sottoporsi ad almeno una visita all'anno, anche in assenza di segni clinici di malattia cardiovascolare. I pazienti FH sintomatici dovrebbero essere valutati e seguiti da un cardiologo clinico. La diagnosi precoce e il controllo clinico delle complicanze cardiovascolari implicano comunicazione e colloquio con un cardiologo, che darà consigli anche su tipologia e frequenza delle indagini strumentali.

Lo stile di vita (dieta, esercizio fisico, abitudine al fumo) deve essere monitorato. A questo proposito, il supporto non medico sarebbe di grande valore, se disponibile. La consulenza sullo stile di vita, comprendente il cambiamento delle abitudini alimentari e l'attuazione di attività fisica, dovrebbe essere avviata il prima possibile. I medici dovrebbero essere consapevoli che l'abbassamento del colesterolo LDL dovuto agli interventi dietetici finalizzati a ridurre l'apporto di acidi grassi saturi e ad aumentare l'assunzione di fibre solubili è relativamente modesta nei pazienti con HeFH. La restrizione calorica è utile per ridurre il peso corporeo e i livelli plasmatici dei trigliceridi. Prove a sostegno del ruolo della dieta Mediterranea nella FH è limitata, ma sembrano suggerire un effetto favorevole nel ridurre il colesterolo LDL e i livelli di proteina C reattiva e di apoB. Inol-

tre, se integrata con steroli vegetali la dieta Mediterranea può ridurre il colesterolo LDL soprattutto nei bambini FH (71, 72). Limitazioni nell'esercizio fisico e dell'attività lavorativa dovrebbe essere discusse con il paziente, considerando anche la questione dell'eventuale percorso riabilitativo. Durante le visite di follow-up, deve essere studiata la risposta al farmaco e i possibili effetti collaterali del trattamento dovrebbero essere identificati e quindi discussi con il paziente.

Raccomandazioni per la diagnosi e la valutazione clinica della Ipercolesterolemia Familiare Omozigote

Diagnosi di HoFH

La forma omozigote di FH è una malattia genetica rara caratterizzata da livelli estremamente elevati di LDL-C e la comparsa di ASCVD prematura molto precocemente nella vita. È causata da varianti patogeniche bi-alleliche (73) che alterano la funzione di proteine chiave nella via metabolica del LDLR (6).

Secondo il Consensus Panel 2023 sulla FH della European Atherosclerosis Society (EAS), la diagnosi di HoFH può essere fatta sulla base di criteri genetici o clinici (74). Il Panel ha suggerito che l'HoFH deve essere sospettata se i livelli di LDL-C non trattati sono >10 mmol/L ($>\sim 400$ mg/dL), richiedendo una ulteriore valutazione, inclusa un'anamnesi medica e familiare dettagliata e/o test genetici. Dati pubblicati di recente hanno confermato che i livelli di LDL-C nei pazienti con HoFH possono sovrapporsi a quelli solitamente presenti in pazienti HeFH. In due studi, i pazienti con HoFH geneticamente confermata avevano livelli di LDL-C non trattato $<12,9$ mmol/L (<500 mg/dL) (75) con LDL-C compreso tra 4,4 e 27,2 mmol/L (da 170 a 1053 mg/dL). Tra i 125 pazienti omozigoti con ADH e 66 pazienti con ARH, caratterizzati in Italia (6), 56 ADH (45%) e 22 ARH (33%) non soddisfacevano i criteri diagnostici classici per l'HoFH. Inoltre, pazienti con HoFH geneticamente con-

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

fermata, trattati con agenti ipolipemizzanti tradizionali, possono presentare livelli di LDL-C in corso di trattamento <8 mmol/L (<300 mg/dL). Pertanto, la diagnosi di HoFH non dovrebbe essere esclusa basandosi esclusivamente sui livelli di LDL-C ma deve includere anche altri dati di supporto come la storia familiare, l'insorgenza precoce di ASCVD, la mancanza di risposta ai trattamenti per abbassare il colesterolo o evidenze genetico-molecolari.

Anche se non ci sono prove genetiche per la presenza di due varianti patogeniche, i soggetti con elevati livelli di LDL-C nell'intervallo di quelli presentati dai pazienti HoFH che mostrano xantomi tendinei e cutanei prima dei 10 anni, dovrebbero essere diagnosticati come HoFH. Vale la pena ricordare che gli xantomi sono presenti anche nella sitosterolemia (76), che può essere una fenocopia di HoFH così come nel deficit di lipasi acida lisosomiale, sebbene quest'ultimo disordine abbia altre caratteristiche cliniche differenti.

Tutti i pazienti con sospetta HoFH dovrebbero essere sottoposti a diagnosi molecolare, se disponibile. Questo è fondamentale per personalizzare la gestione terapeutica (vedi oltre) e lo screening a cascata per identificare ulteriori familiari con HoFH e HeFH.

Gestione clinica e proposta di screening per ASCVD in HoFH

Una volta sospettata una diagnosi di HoFH, è opportuno un consulto tra lo specialista dei lipidi e i pazienti che devono essere gestiti sotto la supervisione a lungo termine di un lipidologo. Alla diagnosi, ulteriori fattori di rischio cardiovascolare (ad esempio, pressione arteriosa, peso, dieta, esercizio fisico, fumo e consumo di alcol) dovrebbero essere valutati e riesaminati almeno due volte l'anno insieme alla valutazione della risposta al trattamento.

L'HoFH è caratterizzata da aterosclerosi accelerata, tipicamente localizzata alla radice aortica e negli osti delle coronarie, anche se altri vasi (arterie carotidi, aorta discendente, vasi

ileo-femorali e arterie renali) possono essere colpite (77, 78). Pertanto, tutti i pazienti HoFH, al momento della diagnosi, dovrebbero essere indirizzati alla valutazione della malattia coronarica e carotidea con indagini appropriate e complete (vedi oltre).

Molto recentemente, un ampio registro (HoFH International Clinical Collaborators -HICC) ha confermato che le manifestazioni più rilevanti di ASCVD o stenosi aortica alla diagnosi erano pari al 36% nei pazienti con HoFH. Inoltre, un terzo dei pazienti presentava una stenosi aortica sopra-valvolare che frequentemente aveva richiesto un intervento chirurgico. Questi risultati confermano la necessità di una diagnosi precoce e una tempestiva valutazione dell'ASCVD subclinica e conclamata in tutti i pazienti con HoFH, immediatamente dopo la diagnosi.

In primo luogo, nell'HoFH dovrebbero essere considerati test non invasivi per l'ischemia cardiaca asintomatica. Deve essere presa in considerazione l'angiografia coronarica con tomografia computerizzata (CTCA) ogni 5 anni o più frequentemente, se disponibile e clinicamente indicata. Tuttavia, è indicata l'angiografia coronarica invasiva in pazienti con sintomi clinici suggestivi di ischemia o disfunzione valvolare, o in presenza di segni di ischemia indicati da una valutazione cardiaca non invasiva. Sebbene l'ecocardiografia da stress possa non essere considerata il test di prima linea preferito (79), potrebbe essere utile quando il CTCA non è disponibile o non è possibile per motivi clinici. La valvola aortica e la radice aortica dovrebbero essere valutate mediante ecocardiografia sia alla presentazione che annualmente.

Diagnosi e gestione clinica in popolazioni speciali di FH

FH nelle donne fertili

È necessario affrontare tre questioni importanti per le donne con FH: a) contraccezione; b) gravidanza; c) allattamento al seno.

La contraccezione è raccomandata per le donne che assumono farmaci che abbassano il colesterolo LDL (ad eccezione di sequestranti degli acidi biliari) impiegati per il trattamento dell'FH a causa del loro potenziale effetto teratogeno (80). Tuttavia, i rischi e i benefici della contraccezione devono essere bilanciati individualmente. Il rischio trombotico associato ai metodi contraccettivi ormonali dovrebbe essere attentamente valutato e dovrebbero essere evitate le formulazioni combinate, in particolare quelle di terza generazione (81, 82). Quindi, sono raccomandati metodi contraccettivi non ormonali (vale a dire un dispositivo intrauterino non ormonale) o se questi non sono fattibili, si dovrebbero preferire i contraccettivi orali con il rischio trombotico più basso privilegiando contraccettivi a base di solo progesterone (80).

Per quanto riguarda la gravidanza, una consulenza preliminare deve essere considerata come un passaggio clinico cruciale sia per le donne HoFH che HeFH. Questa consulenza dovrebbe essere orientata ad aumentare la consapevolezza sui rischi e le aspettative di gravidanza, considerando anche gli effetti collaterali dei farmaci ipolipemizzanti. Inoltre, la consulenza per le donne con HoFH deve includere l'informazione che i loro figli avranno HeFH e, se il partner ha HeFH, il rischio per ogni neonato di nascere con HoFH è del 50%. A questo proposito, il partner di una donna FH dovrebbe sempre sottoporsi al test per la FH se è stato espresso il desiderio di una gravidanza. Per questi motivi, le donne FH dovrebbero essere informate che è necessario discutere della gravidanza per affrontarla a livello multidisciplinare con attento monitoraggio. In effetti, la gravidanza, in particolare nell'HoFH, è associata ad un ulteriore aumento del colesterolo LDL e le terapie ipolipemizzanti vengono solitamente interrotte con possibili ricadute sulla morbilità e mortalità cardiovascolare. Se una donna FH sta pianificando di concepire, è in genere consigliabile di sospendere la terapia con statine ed ezetimibe da uno a tre mesi prima del concepimento (83).

L'atteggiamento terapeutico ipolipemizzante nei confronti delle donne FH in gravidanza deve tener conto di diversi fattori. In primo luogo, il medico dovrebbe valutare la gravità della FH e verificare la gravità e la presenza di una malattia cardiovascolare preesistente che potrebbe esacerbarsi durante la gravidanza. Un'altra considerazione nasce dal fatto che diverse evidenze hanno rassicurato sulla sicurezza delle statine in corso gravidanza (84). Una terapia a base di statine dovrebbe essere proposta a donne selezionate con HoFH o con HeFH grave durante la gravidanza (85, 86) principalmente in quelle donne con ASCVD accertata. La sospensione della terapia con statine durante la gravidanza dovrebbe essere presa in considerazione soprattutto per le donne FH che sono state trattate in modo ottimale nelle prime fasi della vita, con un'aderenza continua e prolungata alla terapia ipolipemizzante prima della gravidanza che potrebbe prevenire complicanze legate alla gravidanza come la sindrome coronarica acuta (80). A questo proposito, le donne HeFH potrebbero essere più facilmente idonee all'interruzione del trattamento rispetto alle donne HoFH in funzione delle caratteristiche fenotipiche meno gravi della malattia.

Nelle donne con HoFH, può essere considerata nel corso della gravidanza, l'afèresi delle lipoproteine (LA) come trattamento di scelta (85, 86). In considerazione dei noti cambiamenti della volemia durante la gravidanza, il gradiente di pressione attraverso la valvola aortica e la radice aortica deve essere valutato mediante ecocardiografia in tutte le donne HoFH nella fase pre-concepimento e monitorato durante la gravidanza.

Per quanto riguarda l'allattamento al seno, le terapie ipolipemizzanti, ad eccezione dei sequestranti degli acidi biliari, devono essere interrotte durante l'allattamento. Non esistono linee guida definitive sulla gestione delle donne FH durante l'allattamento al seno, sebbene sia possibile una strategia di gestione duplex:

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

mantenere l'allattamento al seno posticipando il trattamento per FH o riprendere la terapia ipolipemizzante rinunciando all'allattamento al seno.

In ogni caso è auspicabile che la decisione sia condivisa tra la donna e il medico.

FH nei bambini

Nella popolazione pediatrica, la diagnosi di FH si basa sui valori di laboratorio, sull'anamnesi familiare dei pazienti, e su criteri clinici e genetici (RIQUADRO 3). L'identificazione precoce dei bambini FH rappresenta un fattore cruciale per raggiungere un'aspettativa di vita normale, nonché per ridurre il rischio di eventi precoci e di mortalità (52, 87). Tuttavia, il riscontro di manifestazioni cliniche tipiche dell'FH rappresenta un problema critico nei giovani HeFH, a causa del limitato periodo di esposizione a livelli elevati di LDL-C, che porta a un ritardo del coinvolgimento cardiovascolare. In effetti, i principali parametri biochimici e clinici impiegati nella diagnosi del fenotipo, come livelli elevati di LDL-C o rilevamento di malattia coronarica prematura, xantomi tendinei e/o arco corneale, mostrano una scarsa utilità clinica nei bambini molto piccoli (88). Xantomi e arco corneale si osservano raramente durante l'infanzia, ad eccezione delle forme più gravi di HoFH. Inoltre, i livelli di LDL-C mostrano tipicamente fluttuazioni rilevanti, ostacolando così l'identificazione di cut-off specifici per una diagnosi tempestiva (88, 89). La diagnosi basata sui criteri DLCN non è stata validata nei bambini e negli adolescenti (90). In presenza di livelli elevati di LDL-C dovrebbero essere esclusi quelli dovuti a cause secondarie, tra cui ipotiroidismo, sindrome nefrosica, colestasi, obesità, anoressia nervosa o dislipidemia indotta da farmaci. Un modo per migliorare il basso tasso diagnostico dell'FH nella maggior parte delle popolazioni europee consiste nell'implementazione dello screening dell'FH durante l'infanzia. Lo screening pediatrico FH è stato riconosciuto dal portale della Commissione Europea

per le migliori pratiche per la salute pubblica come una delle migliori pratiche nella prevenzione delle malattie non trasmissibili. Le immagini di aumentato CIMT e anormale dilatazione flusso-mediata sono stati segnalati in pazienti giovani con HeFH, e diversi studi hanno documentato un miglioramento di questi marcatori preclinici di aterosclerosi in seguito al trattamento ipolipemizzante. La riduzione del livello di LDL-C è l'obiettivo principale della terapia per prevenire un peggioramento dell'ASCVD.

I pazienti pediatrici con FH dovrebbero essere incoraggiati a mantenere l'aderenza anche alle modifiche dello stile di vita dopo l'inizio del trattamento farmacologico. Una dieta sana ricca di verdure, frutta, cereali integrali, pesce e prodotti a basso contenuto di grassi, insieme ad un'attività fisica sistematica dovrebbero essere suggeriti.

I bambini e gli adolescenti affetti da HoFH dovrebbero ricevere una consulenza da un cardiologo pediatra per una valutazione clinica e strumentale del carico di aterosclerosi mediante imaging non invasivo, come ad esempio CTCA ed ecografia carotidea, nonché test da sforzo o imaging cardiaco funzionale, come indicato dal quadro clinico. Durante il follow-up di bambini e adolescenti FH in corso di trattamento possono essere utilizzate anche tecniche di imaging cardiaco e vascolare non invasive per valutare l'effetto del trattamento ipolipemizzante.

La diagnosi prenatale sui prelievi dei villi coriali è possibile, su specifica richiesta della famiglia, in quei casi in cui la mutazione causativa sia stata precedentemente identificata in entrambi i genitori allo stato eterozigote (91, 92).

Tecniche di imaging per la valutazione dell'aterosclerosi subclinica nei pazienti HeFH e HoFH

I pazienti con FH presentano un rischio maggiore di ASCVD prematura (23, 93). Nei pazienti HoFH non trattati, lo sviluppo di

Quando sospettare l'FH nei bambini e cosa fare

- 1.1 Se un genitore ha una HeFH accertata, tutti i figli apparentemente sani del probando dovrebbero essere indirizzati ad uno screening adeguato ad accertare/escludere l'HeFH
- 1.2 In un bambino con ripetuti livelli anomali di LDL-C ($>3,5$ mmol/L; >135 mg/dL) dopo l'esclusione delle cause secondarie di ipercolesterolemia:
 - eseguire indagini cliniche e di laboratorio nei genitori
 - ricostruire la storia familiare,
 - prestare attenzione al raro scenario di una “mutazione de-novo” se i genitori sono negativi per la mutazione, o nel caso particolare del bambino adottato
- 1.3 Nei bambini con ripetuti livelli gravemente anomali di LDL-C ($>10,3$ mmol/L; >400 mg/dL) ed eventuale presenza di xantomatosi cutanea e/o tendinea:
 - sospettare la presenza di HoFH
 - analizzare il fenotipo biochimico nei genitori per confermare una trasmissione dominante (ADH) o trasmissione recessiva (ARH) o fenocopie (sitosterolemia o deficit di lipasi acida lisosomiale).
 - eseguire l'analisi genetica dei geni responsabili di ADH, ARH, sitosterolemia e deficit di lipasi acida lisosomiale.

ASCVD e/o malattia aortica (valvolare e sopra-valvolare) è di possibile riscontro già nella prima decade di vita (77). Infatti, è stato riportato che nei pazienti di età <16 anni, il 10% soffre di ASCVD clinica, il 40% presenta evidenze subcliniche di ASCVD e nel 40% malattia della valvola aortica (rigurgito o stenosi). Tra i 16 e i 30 anni, il 90% mostra ASCVD clinica. Eppure, uno studio sistematico del rapporto costo-efficacia delle tecniche di imaging cardiovascolare tradizionali e avanzate per rilevare l'ASCVD subclinica manca nei pazienti con HoFH o HeFH, e quindi le raccomandazioni possono essere formulate solo sulla base di un accordo consensuale. Stu-

di precedenti (77, 94) suggeriscono l'utilità dell'ecografia dello spessore medio-intimale carotideo, la quantificazione dei livelli di calcio nell'arteria coronaria (CAC) basata sulla tomografia computerizzata (CT)- e la valutazione dell'aterosclerosi nel sistema vascolare mediante risonanza magnetica in pazienti affetti da FH. Più recentemente, la CTCA è emersa come la modalità di imaging non invasiva più accurata per valutare aterosclerosi delle coronarie in pazienti sintomatici e asintomatici. È stato dimostrato che CAC è un marcatore surrogato per l'aterosclerosi, con il punteggio del calcio “punteggio Agatston” proporzionale al carico di placche aterosclerotiche e rischio cardiovascolare (93). Tuttavia, sono richiesti ulteriori studi prognostici per valutare il valore della TC cardiaca per quanto attiene la stratificazione dei soggetti che potrebbero avere un rischio basale superiore a quello della popolazione generale, come i pazienti con FH, e nessuna raccomandazione è riportata nelle attuali linee guida sull'uso di imaging avanzato non invasivo in pazienti FH asintomatici.

Le attuali linee guida classificano i pazienti HeFH senza altri fattori di rischio cardiovascolare come ad alto rischio di ASCVD e un valore target di LDL-C da raggiungere con la terapia <70 mg/dL. Pazienti con HeFH che hanno almeno un altro fattore di rischio cardiovascolare o che hanno avuto un evento cardiovascolare o hanno aterosclerosi subclinica, sono a rischio cardiovascolare molto elevato e il valore target di LDL-C è <55 mg/dL (95, 96). Di conseguenza, il riscontro di aterosclerosi subclinica ha acquisito una maggiore rilevanza al fine di effettuare un'accurata stratificazione del rischio ASCVD e di guidare la terapia, e dovrebbe essere considerato soprattutto nei pazienti HeFH asintomatici con una storia familiare di ASCVD prematura.

In conclusione, i pazienti con HoFH dovrebbero essere investigati al momento della diagnosi, anche se asintomatici, per rilevare ASCVD, malattia valvolare aortica e stenosi

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

aortica sopra-valvolare utilizzando CTCA ed ecocardiografia, mentre test funzionali (es. tecniche di imaging da stress) o preferibilmente tecniche CTCA anatomiche dovrebbero essere prese in considerazione per valutare l'ASCVD in pazienti con HeFH. Una Angiografia Coronarica (CT) iniziale è raccomandata per HoFH come suggerito nelle recenti linee guida EAS (74).

Trattamento dell'ipercolesterolemia familiare

Trattamento farmacologico dell'HeFH.

Lo scopo della terapia farmacologica dell'HeFH è quello di abbassare i livelli di LDL-C per diminuire il rischio cardiovascolare. Maggiore è la riduzione assoluta di LDL-C, maggiore è la riduzione del rischio cardiovascolare (97). Gli obiettivi del trattamento dovrebbero essere identificati dopo la valutazione del rischio totale di ASCVD.

Come indicato sopra, i pazienti con HeFH e ASCVD o con un altro fattore di rischio maggiore vengono classificati a rischio molto elevato ed è raccomandata una riduzione di LDL-C >50% rispetto ai valori basali e un target di LDL-C <1,4 mmol/L (<55 mg/dL); se il paziente ha manifestato un secondo evento vascolare entro 2 anni, si raccomanda un target di LDL-C <1,0

mmol/L (<40 mg/dL). Pazienti con HeFH senza ASCVD nota e senza altri fattori di rischio sono classificati come ad alto rischio e si raccomanda una riduzione di LDL-C >50% rispetto ai valori basali e un target di LDL-C <1,8 mmol/L (<70 mg/dL) (63).

I farmaci per abbassare il colesterolo devono essere assunti regolarmente e iniziati il prima possibile dopo la diagnosi di HeFH.

Le statine, oltre alle modifiche della dieta e dello stile di vita, sono i farmaci di prima scelta.

Altri farmaci includono ezetimibe, acido bempedoico, inibitori di PCSK9, sequestranti degli acidi biliari e inclisiran. La riduzione media del colesterolo LDL varia da ~ 30% con statine a intensità moderata al ~ 50% con statine ad alta intensità e ~ 85% con terapia di associazione con inibitore di PCSK9 associato a statine ad alta intensità più ezetimibe (Tabella 4). L'intensità della terapia dovrebbe essere stabilita al fine di raggiungere la riduzione raccomandata del colesterolo LDL in base al rischio stimato di ASCVD del paziente.

Il trattamento deve essere iniziato con una terapia con statine ad alta intensità (atorvastatina 40/80 mg, rosuvastatina 20/40mg). Nella maggior parte dei casi le statine dovrebbero essere assunte in combinazione con ezetimibe (98). Inibitori di PCSK9 (alirocumab (99) ed evolocumab (100)), assunti per via sottocuta-

Tabella 4 - Percentuale di riduzione dei livelli plasmatici di colesterolo LDL indotta da diversi trattamenti ipocolesterolemizzanti.

Trattamento farmacologico	% di riduzione di LDL-C
Statine di moderata intensità (atorvastatina 10-20 mg; rosuvastatina 5-10 mg; simvastatina 20-40 mg; pravastatina 40-80 mg)	30%
Statine ad alta intensità (atorvastatina 40-80 mg; rosuvastatina 20-40 mg)	50%
Statine ad alta intensità + ezetimibe 10 mg	65%
Inibitori di PCSK9 (alirocumab, evolocumab, sottocute ogni due settimane)	60%
Statine ad alta intensità + Inibitori di PCSK9	75%
Statine ad alta intensità + Inibitori di PCSK9 + ezetimibe 10 mg	80%
Acido bempedoico 180 mg	20%
Acido bempedoico 180 mg + ezetimibe 10 mg	40%

nea ogni due settimane e inclisiran (101) assunto ogni sei mesi, sono raccomandati nei pazienti con HeFH a rischio molto elevato quando l'obiettivo del trattamento non è stato raggiunto con la massima statina tollerata più ezetimibe (RIQUADRO 4). Inibitori di PCSK9 sono raccomandati anche nei pazienti che non tollerano le statine.

L'acido bempedoico è un nuovo farmaco non statinico che inibisce la biosintesi del colesterolo nella stessa via delle statine (102). Viene somministrato come profarmaco e viene convertito in farmaco attivo solo nel fegato e non nei muscoli. L'acido bempedoico, da solo o in combinazione con ezetimibe e inibitori di PCSK9, può rappresentare una valida alternativa nei pazienti intolleranti alle statine.

I sequestranti degli acidi biliari (colestiramina (103) e colesvelam) possono essere utilizzati come agenti di terza linea nei pazienti non a target per LDL-C e in quelli con intolleranza alle statine. Tuttavia, sono mal tollerati e hanno un'efficacia limitata sulla riduzione di LDL-C (104).

Inclisiran, un piccolo interfering RNA che riduce l'espressione intraepatica di PCSK9, è ora disponibile per il trattamento di pazienti non a target per LDL-C (105). Dopo una dose iniziale, il farmaco viene somministrato nuovamente per via sottocutanea dopo tre mesi, e poi due volte l'anno.

Il trattamento con statine ad alta intensità può essere associato a diversi effetti collaterali. In particolare, quelli più comunemente riportati sono gli eventi avversi muscolari (mialgie, debolezza muscolare, miosite). Tuttavia, la maggior parte dei pazienti intolleranti alle statine può tollerarle se riprese in un secondo momento e possibilmente con una statina differente da quella usata in precedenza (106). I veri pazienti intolleranti alle statine possono essere gestiti con terapie alternative compresi l'acido bempedoico e gli inibitori di PCSK9.

Il trattamento per abbassare il colesterolo deve essere attentamente monitorato per mi-

gliorare la compliance. Dati gli elevati livelli plasmatici di LDL-C al basale, pochi pazienti raggiungono il target di LDL-C (107). Paziente e medico dovrebbero rivalutare regolarmente la tolleranza ai farmaci e condividere i benefici del trattamento e del piano terapeutico.

Aspetti salienti del trattamento ipolipemizzante dell'HeFH

1. Valutare il rischio totale di ASCVD (alto o molto alto)
2. Identificare gli obiettivi del trattamento per il colesterolo LDL (<70 /<55 /<40 mg/dL e riduzione del 50%)
3. Condividere con il paziente gli obiettivi, i benefici e i possibili effetti collaterali della terapia e coinvolgerlo nel processo decisionale terapeutico
4. Incoraggiare uno stile di vita sano (alimentazione sana, cessazione del fumo, attività fisica)
5. Iniziare la terapia con statine ad alta intensità (atorvastatina 40/80 mg o rosuvastatina 20/40 mg) più ezetimibe 10 mg
6. Aggiungere l'inibitore di PCSK9 (alirocumab o evolocumab assunto per via sottocutanea ogni due settimane) se l'obiettivo del trattamento non viene raggiunto con la dose massima tollerata di statina più ezetimibe
7. Rivalutare regolarmente la tolleranza ai farmaci e valutare l'aderenza al trattamento
8. Discutere i risultati e fornire feedback positivi per raggiungere con successo gli obiettivi del trattamento

Trattamento farmacologico dell'HoFH

L'intervento sullo stile di vita e dose massima tollerata di una statina ad alta efficacia più ezetimibe sono i pilastri del trattamento (108, 109). In tali circostanze, è stato dimostrato che la riduzione del colesterolo LDL dipende in gran parte dall'attività residua del LDLR e le statine, da sole e in associazione con ezetimibe, sono state dimostrate ridurre il rischio di ASCVD nell'HoFH e dovrebbero essere iniziate al momento della diagnosi (48, 110).

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

I sequestranti degli acidi biliari sono in gran parte inefficaci e non sono raccomandati nell'HoFH (111).

Il trapianto di fegato, spesso abbinato al trapianto di cuore, è stato un'opzione per trattare l'HoFH. La maggior parte di questi pazienti necessitano ancora di terapie ipolipemizzanti post-trapianto e necessitano di terapia immunosoppressiva a lungo termine (112). Inoltre, è stata osservata la progressione della malattia della valvola aortica nonostante la procedura chirurgica (113). Pertanto, il trapianto di fegato dovrebbe essere considerato solo come ultima opzione quando i farmaci convenzionali o innovativi non sono disponibili.

L'afèresi delle lipoproteine (LA) è consigliata dall'età di 3 anni e non oltre gli 8 anni. LA è efficace nel ridurre in modo acuto LDL-C (55-70%) (114) con una riduzione media a lungo termine compresa tra il 21% e il 36% (115). Le principali limitazioni includono la disponibilità limitata in tutto il mondo e i costi, insieme all'elevato impatto sul carico sociale ed emotivo (ad esempio, livello di istruzione, problemi legati alla attività lavorativa) nei pazienti con HoFH trattati (116, 117). Sebbene mitigati, stenosi della valvola aortica e ASCVD continuano a progredire in un numero consistente di pazienti trattati con LA (118). Nonostante ciò, quando disponibile, LA dovrebbe essere offerta ai pazienti con HoFH, in particolare nella popolazione pediatrica e in gravidanza, possibilmente con frequenza settimanale.

La gestione di HoFH è progredita rapidamente negli ultimi dieci anni con la disponibilità di diversi farmaci innovativi.

Inibitori di PCSK9 (anticorpi monoclonali, PCSK9 mAb) somministrati a settimane alterne o mensilmente possono essere utilizzati nell'HoFH. La risposta agli inibitori di PCSK9 dipende in gran parte dall'attività residua di LDLR con efficacia nulla o scarsa nei pazienti portatori di due alleli nulli (alleli LDLR-NEG) o ARH (119, 120). Nel complesso, questi farmaci sono generalmente sicuri e sono associati a

una percentuale di riduzione di LDL-C fino al 30% (100, 121, 122). D'altra parte, il trattamento con inclisiran, un piccolo interfering RNA (siRNA) contro PCSK9, non ha ridotto i livelli di LDL-C nei pazienti con HoFH nonostante la sostanziale riduzione dei livelli di PCSK9 (123). L'uso degli inibitori di PCSK9 in aggiunta alle statine e all'ezetimibe dipende dalla diagnosi molecolare. Se il fenotipo lipidico o la diagnosi molecolare indicano LDLR-NEG o ARH, l'uso degli inibitori di PCSK9 sarà inefficace.

Lomitapide è una piccola molecola che inibisce la proteina microsomiale di trasferimento dei trigliceridi (MTTP) per ridurre la produzione delle lipoproteine a densità molto bassa (VLDL) e delle LDL agendo così in maniera indipendente dall'attività residua di LDLR. Lomitapide inibisce anche l'MTTP intestinale, riducendo così i chilomicroni e causando nel contempo un malassorbimento dei grassi. I risultati degli studi clinici hanno dimostrato che lomitapide riduce il colesterolo LDL del 40-70% in HoFH con un profilo di sicurezza e tolleranza accettabile (124) e quindi, dal 2013 lomitapide può essere utilizzato in Italia per trattare l'HoFH (125). Questi risultati sono stati confermati da dati ottenuti nel mondo reale (real world) (126-130) confermando i dati di efficacia e rassicurando sulla sicurezza a medio termine. Nonostante ciò, le principali limitazioni associate a questo farmaco sono il costo elevato e i potenziali allarmi a lungo termine sulla sicurezza a livello epatico. L'uso di lomitapide è raccomandato in tutti i pazienti HoFH come III linea di trattamento o come terapia di II linea nei pazienti HoFH LDLR-NEG e nei pazienti ARH. Questo farmaco deve essere utilizzato con il supporto di un dietista esperto per ridurre gli effetti collaterali associati alla steatorrea. In accordo con le disposizioni dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) (131), nei pazienti trattati la funzionalità epatica così come lo screening sistematico di steatoepatite/fibrosi o la progressione della malattia epatica devono essere strettamente monitorate.

La proteina angiopoietin-like 3 (ANGPTL3) si è rivelata molto attraente negli ultimi anni come bersaglio terapeutico poiché i portatori omozigoti di mutazioni LOF di ANGPTL3 sono caratterizzati da una marcata riduzione delle lipoproteine contenenti ApoB e ApoA1 e ridotto rischio di ASCVD (132-134). Evinacumab è un anticorpo monoclonale che inibisce ANGPTL3 (135) il cui utilizzo è stato recentemente testato in uno studio di Fase III (studio ELIPSE) che ha dimostrato che l'infusione di 15 mg/kg di peso corporeo una volta ogni 4 settimane è stata associata ad una riduzione del 47% di LDL-C indipendentemente dal genotipo dei pazienti

HoFH. Durante lo studio, non sono stati registrati effetti collaterali clinicamente rilevanti. Considerando i risultati eclatanti dello studio ELIPSE, l'uso di evinacumab è stato approvato da EMA e FDA e, più recentemente, da AIFA per il trattamento dei pazienti HoFH di età superiore ai 12 anni. L'uso dell'evinacumab è raccomandato in tutti gli HoFH come terapia di III linea o come terapia di II linea nei pazienti HoFH LDLR-NEG o ARH, come alternativa all'uso di lomitapide o in combinazione con esso. La scelta di utilizzare lomitapide o evinacumab può essere correlata alle preferenze del paziente (iniezione orale o endovenosa) e alle

Tabella 5 - Trattamenti per abbassare il colesterolo LDL, loro efficacia ed effetti collaterali nell'HoFH

	Nome	Meccanismo di azione	Via di somministrazione	Dosaggio	Effetto di riduzione di LDL-C	Eventi avversi	Bibliografia
LDLR dipendenti	Statine	↓ Biosintesi del colesterolo ↑ Attività del LDLR	Orale	Dosaggi variabili giornalieri	Variable effetto di riduzione di LDL-C in relazione alla attività residua di LDLR	Mialgia Miopatia Tossicità epatica	(136, 137)
	Ezetimibe	↓ Assorbimento del colesterolo ↑ Attività del LDLR	Orale	10 mg giornalieri	> 10% - 15% in aggiunta alle statine	Tossicità epatica	(141-143)
	Alirocumab-Evolocumab	↓ Degradazione del LDLR (anticorpi monoclonali)	Sottocutanea	75/150 mg-140 mg bimensile	21% - 35%	Reazioni nella sede di iniezione Sintomi simil-influenzali	(100, 121, 122, 144)
LDLR indipendenti	Lomitapide	↓ Attività della Microsomal triglyceride transfer protein ↓ Produzione LDL	Orale	Dosaggi variabili giornalieri	LDL-C (50%) ApoB (49%)	Steatosi epatica Disturbi gastrointestinali Alterata funzione epatica	[124, 126-128, 130, 145-150]
	Evinacumab	↓ ANGPTL3 ↑ Attività di lipase lipoproteica ↓ Secrezione VLDL	Sottocutanea	15 mg/kg mensile	LDL-C (43.4% - 49.1%)	Sintomi simil-influenzali	[134, 135, 151-156]
	Aferesi Lipoproteica	Rimozione di LDL in modo selettivo e non-selettivo	Trattamento extracorporeo di sangue in toto o plasma	Settimenale o bisettimanale	LDL-C (in acuto 55-70%; a lungo termine 21-36%) Lp(a): in acuto 55-70%	Ipotensione Anemia da deficit di ferro (a lungo termine)	[114, 115]

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

politiche di rimborso soprattutto per il trattamento combinato nonché alla tollerabilità del trattamento.

I dati del registro HICC hanno evidenziato che i pazienti con HoFH che non ricevono un'adeguata combinazione di terapie ipolipemizanti, presentano livelli più elevati di LDL-C durante il trattamento e una sopravvivenza libera da eventi cardiovascolari più breve (78). È raccomandato l'utilizzo di una combinazione di tutti gli strumenti terapeutici disponibili per raggiungere il target di LDL-C nell'HoFH e ridurre il carico di malattie cardiovascolari associato. La *tabella 5* fornisce una panoramica delle terapie ipolipemizanti disponibili per il trattamento dell'FH, classificate in due gruppi in base al meccanismo d'azione: farmaci LDLR dipendenti e LDLR indipendenti (100, 114-115, 121-124, 126-128, 130, 134-137, 141, 143-156).

Trattamento del paziente HeFH e HoFH in età pediatrica

Il cardine della farmacoterapia nei bambini e adolescenti HeFH è rappresentato dall'utilizzo delle statine (48) alla dose massima tollerata/appropriata all'età (157-158). Il trattamento farmacologico nell'HeFH è approvato per l'età ≥ 6 anni. Pravastatina e rosuvastatina sono approvate per l'uso nei bambini di età compresa rispettivamente di 8 e 6 anni. Poiché l'uso delle statine è controindicato in gravidanza e allattamento, un idoneo sistema di contraccezione è necessario per tutte le ragazze in età post-puberale in trattamento ipolipemizante. Un secondo farmaco da utilizzare è l'ezetimibe, che ha dimostrato di ridurre ulteriormente l'LDL-C del 15-20%, se aggiunto a statine ed è ben tollerato. L'aferesi delle lipoproteine è il principale trattamento raccomandato per i bambini HoFH, che solitamente rispondono poco alla farmacoterapia. LA dovrebbe essere avviata il prima possibile, iniziando anche prima degli 8 anni (nei casi più gravi, già dopo i 3 anni). Un singolo trattamento di aferesi può abbassare il colesterolo LDL del 55-70%, mentre la terapia a lungo termi-

ne ha dimostrato di portare a risultati positivi per quanto riguarda la regressione degli xantomi e delle placche aterosclerotiche ed il miglioramento della prognosi cardiovascolare (90, 159). Nei casi più gravi, si raccomanda una frequenza settimanale del trattamento.

Altre opzioni farmacologiche praticabili possono essere valutate prima di prendere in considerazione LA. Uno studio di fase 3 in aperto con evinacumab in pazienti pediatrici affetti da HoFH, ha dimostrato che l'opzione farmacologica è efficace e sicura nel ridurre il livello di LDL-C in questo difficile contesto clinico (160). Recentemente l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ha approvato l'uso di evinacumab per soggetti adolescenti (> 12 anni) con HoFH. Lomitapide può rappresentare un'altra opportunità per i bambini HoFH. Nello studio di Fase 3 APH-19 (NCT04681170) in corso, lomitapide ha dimostrato di ridurre significativamente i livelli di LDL-C nei pazienti pediatrici con HoFH e la sicurezza era coerente con il profilo noto del farmaco, senza che siano stati segnalati nuovi effetti collaterali (161).

Conclusioni

In Italia, come in altri paesi europei, la FH è ancora sotto-diagnosticata e/o identificata in età avanzata quando ASCVD si è già sviluppata. Questo documento di consenso SISA fornisce una guida pragmatica per migliorare la diagnosi precoce e pianificare terapie appropriate per ridurre il colesterolo LDL in questa condizione. Questo documento è rivolto non solo ai lipidologi ma anche ad altri medici (ad esempio medici di medicina generale, cardiologi, pediatri) per promuovere una migliore assistenza e migliorare la salute cardiovascolare dei pazienti FH.

Ringraziamenti

Siamo molto grati alla Dott.ssa Federica Galimberti per la sua qualificata assistenza nella finalizzazione del manoscritto. Il lavoro di ALC è sostenuto in parte dal contributo Ricerca Cor-

rente all'IRCCS Multimedica dal Ministero Italiano della Salute

Dichiarazione di contributo

Francesco Angelico, Sebastiano Calandra, Manuela Casula, Angelo B. Cefalù, Laura D'Erasmo, Giuliana Fortunato, Pasquale Perrone-Filardi, Paolo Rubba, Patrizia Suppressa hanno contribuito in egual modo al manoscritto.

Finanziamenti

Questa ricerca non ha ricevuto alcun finanziamento specifico da parte di agenzie di finanziamento del settore pubblico, commerciale o settori no-profit.

Dichiarazione di conflitto di interessi

Gli autori non hanno nulla da dichiarare.

RIASSUNTO

Obiettivi. L'ipercolesterolemia familiare (FH) è una malattia genetica del metabolismo delle lipoproteine che causa un aumento del rischio di malattia cardiovascolare aterosclerotica prematura (ASCVD). Sebbene la diagnosi precoce e il trattamento dell'FH possano significativamente migliorare la prognosi cardiovascolare, questo disordine è sotto-diagnosticato e sotto-trattato. Per questi motivi la Società Italiana per lo Studio dell'Aterosclerosi (SISA) ha riunito un gruppo di esperti della SISA con il compito di fornire linee guida per la diagnosi e trattamento dell'FH. **Sintesi dei dati.** Le nostre linee guida includono: i) una panoramica della complessità genetica dell'FH e del ruolo dei geni candidati coinvolti nel metabolismo delle LDL; ii) la prevalenza dell' FH nella popolazione; iii) i criteri clinici adottati per la diagnosi di FH; iv) lo screening per ASCVD ed il ruolo delle tecniche di imaging cardiovascolare; v) il ruolo della diagnosi molecolare per stabilire le basi genetiche della malattia; vi) le attuali opzioni terapeutiche sia nell' FH eterozigote che in quella omozigote.

Le strategie di trattamento e i suoi obiettivi sono attualmente basati sui livelli del colesterolo delle lipoproteine a bassa densità (LDL-C), poiché la prognosi dell'FH dipende in gran parte dall'entità della riduzione del LDL-C ottenuta mediante terapie ipolipemizzanti.

Le statine con o senza ezetimibe sono il pilastro della terapia. L' aggiunta di nuovi farmaci come gli inibitori di PCSK9, gli inibitori di ANGPTL3 o la lomitapide nell'FH omozigote, determina un'ulteriore riduzione dei livelli di LDL-C. La LDL aferesi è indicata nei pazienti con FH con risposta inadeguata alle terapie ipocolesterolemizzanti.

Conclusione. L'FH è una malattia genetica comune e curabile, e sebbene la nostra comprensione di questa malattia sia migliorata, restano ancora molte sfide riguardo la sua identificazione e gestione.

Parole chiave: *Ipercolesterolemia familiare, epidemiologia, caratteristiche cliniche e molecolari, malattie cardiovascolari aterosclerotiche, terapie ipocolesterolemizzanti.*

Bibliografia

1. Defesche JC, Gidding SS, Harada-Shiba M, Hegele RA, Santos RD, Wierzbicki AS. Familial hypercholesterolaemia. Nat. Rev. Dis. Primers. 2017; 3: 17093.
2. Goldstein JL, Brown MS. A century of cholesterol and coronaries: from plaques to genes to statins. Cell. 2015; 161: 161-172.
3. Boren J, Chapman MJ, Krauss RM, Packard CJ, Bentzon JF, Binder CJ, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Eur. Heart J. 2020; 41: 2313-2330.
4. Goldstein JL, Brown MS. The LDL receptor. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2009; 29: 431-438.
5. Bertolini S, Pisciotta L, Rabacchi C, Cefalù AB, Noto D, Fasano T, et al. Spectrum of mutations and phenotypic expression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia identified in Italy. Atherosclerosis. 2013; 227: 342-348.
6. Bertolini S, Calandra S, Arca M, Averna M, Catapano AL, Tarugi P, et al. Homozygous familial hypercholesterolemia in Italy: Clinical and molecular features. Atherosclerosis. 2020; 312: 72-8.
7. D'Erasmo L, Di Costanzo A, Arca M. Autosomal recessive hypercholesterolemia: update for 2020. Curr Opin Lipidol. 2020; 31: 56-61.
8. Buonomo PS, Iughetti L, Pisciotta L, Rabacchi C, Pa-

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

- padia F, Bruzzi P, et al. Timely diagnosis of sitosterolemia by next generation sequencing in two children with severe hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2017; 262: 71-77.
9. Tada H, Nomura A, Ogura M, Ikewaki K, Ishigaki Y, Inagaki K, et al. Diagnosis and Management of Sitossterolemia. *J. Atheroscler. Thromb*. 2021; 28: 791-801.
10. Williams K, Segard A, Graf GA. Sitosterolemia: Twenty Years of Discovery of the Function of ABCG5 ABCG8. *Int. J. Mol. Sci*. 2021; 22: 2641.
11. Pisciotta L, Tozzi G, Travaglini L, Taurisano R, Lucchi T, Indolfi G, et al. Molecular and clinical characterization of a series of patients with childhood-onset lysosomal acid lipase deficiency. Retrospective investigations, follow-up and detection of two novel LIPA pathogenic variants. *Atherosclerosis*. 2017; 265: 124-132.
12. Awan Z, Choi HY, Stitzel N, Ruel I, Bamimore MA, Husa R, et al. APOE p.Leu167 del mutation in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2013; 231: 218-222.
13. Abou Khalil Y, Marmontel O, Ferrieres J, Paillard F, Yelnik C, Carreau V, et al. APOE Molecular Spectrum in a French Cohort with Primary Dyslipidemia. *Int. J. Mol. Sci*. 2022; 23: 5792.
14. Wang J, Dron JS, Ban MR, Robinson JF, McIntyre AD, Alazzam M, et al. Polygenic Versus Monogenic Causes of Hypercholesterolemia Ascertained Clinically. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2016; 36: 2439-2445.
15. Sharifi M, Futema M, Nair D, Humphries SE. Polygenic Hypercholesterolemia and Cardiovascular Disease Risk. *Curr. Cardiol. Rep*. 2019; 21: 43.
16. Jacob E, Hegele RA. Monogenic Versus Polygenic Forms of Hypercholesterolemia and Cardiovascular Risk: Are There Any Differences? *Curr. Atheroscler. Rep*. 2022; 24: 419-426.
17. Arsenault BJ, Kamstrup PR. Lipoprotein(a) and cardiovascular and valvular diseases: A genetic epidemiological perspective. *Atherosclerosis*. 2022; 349: 7-16.
18. Marco-Benedi V, Cenarro A, Laclaustra M, Larrea-Sebal A, Jarauta E, Lamiquiz-Moneo I, et al. Lipoprotein(a) in hereditary hypercholesterolemia: Influence of the genetic cause, defective gene and type of mutation. *Atherosclerosis*. 2022; 349: 211-218.
19. Langsted A, Nordestgaard BG. Lipoprotein(a) as Part of the Diagnosis of Clinical Familial Hypercholesterolemia. *Curr. Atheroscler. Rep*. 2022; 24: 289-296.
20. Brunham LR, Hegele RA. What Is the Prevalence of Familial Hypercholesterolemia? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2021; 41: 2629-2631.
21. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Familial hypercholesterolemia in the Danish general population: prevalence, coronary artery disease, and cholesterol-lowering medication. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2012; 97: 3956-3964.
22. Benn M, Watts GF, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Mutations causative of familial hypercholesterolemia: screening of 98 098 individuals from the Copenhagen General Population Study estimated a prevalence of 1 in 217. *Eur. Heart. J*. 2016; 37: 1384-1394.
23. Hu P, Dharmayat KI, Stevens CAT, Sharabiani MTA, Jones RS, Watts GF, et al. Prevalence of Familial Hypercholesterolemia Among the General Population and Patients With Atherosclerotic Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Circulation*. 2020; 141: 1742-1759.
24. Akioyamen LE, Genest J, Shan SD, Reel RL, Albaum JM, Chu A, et al. Estimating the prevalence of heterozygous familial hypercholesterolaemia: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2017; 7: e016461.
25. Beheshti SO, Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Worldwide Prevalence of Familial Hypercholesterolemia: Meta-Analyses of 11 Million Subjects. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2020; 75: 2553-2566.
26. Casula M, Catapano AL, Rossi Bernardi L, Visconti M, Aronica A. Detection of familial hypercholesterolemia in patients from a general practice database. *Atheroscler. Suppl*. 2017; 29: 25-30.
27. Guglielmi V, Bellia A, Pecchioli S, Medea G, Parretti D, Lauro D, et al. What is the actual epidemiology of familial hypercholesterolemia in Italy? Evidence from a National Primary Care Database. *Int. J. Cardiol*. 2016; 223: 701-705.
28. Fasano T, Trenti C, Negri EA, Guiducci V, Foracchia M, Bonelli E, et al. Search for familial hypercholesterolemia patients in an Italian community: A real-life retrospective study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis*. 2022; 32: 577-585.
29. Catapano AL, Lautsch D, Tokgozoglu L, Ferrieres J, Horack M, Farnier M, et al. Prevalence of potential familial hypercholesteremia (FH) in 54,811 statin-treated patients in clinical practice. *Atherosclerosis*. 2016; 252: 1-8.
30. Gulizia MM, Maggioni AP, Abrignani MG, Bilato C, Mangiacapra F, Sanchez FA, et al. Prevalence of familial hypercholesterolemia (FH) in Italian Patients with coronary artery disease: The POSTER study. *Atherosclerosis*. 2020; 308: 32-38.
31. De Luca L, Arca M, Temporelli PL, Colivicchi F, Gonzini L, Lucci D, et al. Prevalence and pharmacologic management of familial hypercholesterolemia in an unselected contemporary cohort of patients with stable coronary artery disease. *Clin. Cardiol*. 2018; 41: 1075-1083.
32. Wald DS, Bestwick JP, Morris JK, Whyte K, Jenkins L, Wald NJ. Child-Parent Familial Hypercholesterolemia Screening in Primary Care. *N. Engl. J. Med*. 2016; 375: 1628-1637.
33. Kaestner TL, Bento VF, Pazin DC, Baena CP, Olandoski M, Abreu GA, et al. Prevalence of high cholesterol levels suggestive of familial hypercholesterolemia in Brazilian adolescents: Data from the study

Documento di consenso sulla diagnosi e gestione della ipercolesterolemia familiare

- of cardiovascular risk in adolescents. *J. Clin. Lipidol.* 2018; 12: 403-408.
34. Campagna F, Martino F, Bifulco M, Montali A, Martino E, Morrone F, et al. Detection of familial hypercholesterolemia in a cohort of children with hypercholesterolemia: results of a family and DNA-based screening. *Atherosclerosis.* 2008; 196: 356-364.
35. Di Taranto MD, Giacobbe C, Buonaiuto A, Calcaterra I, Palma D, Maione G, et al. A Real-World Experience of Clinical, Biochemical and Genetic Assessment of Patients with Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *J. Clin. Med.* 2020; 9: 219.
36. Pisciotto L, Priore Oliva C, Pes GM, Di Scala L, Bellocchio A, Fresa R, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) and homozygous familial hypercholesterolemia (FH): a phenotypic comparison. *Atherosclerosis.* 2006; 188: 398-405.
37. Arca M, Zuliani G, Wilund K, Campagna F, Fellin R, Bertolini S, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia in Sardinia, Italy, and mutations in ARH: a clinical and molecular genetic analysis. *Lancet.* 2002; 359: 841-847.
38. Trinder M, Li X, DeCastro ML, Cermakova L, Sadananda S, Jackson LM, et al. Risk of Premature Atherosclerotic Disease in Patients With Monogenic Versus Polygenic Familial Hypercholesterolemia. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2019; 74: 512-522.
39. Vrablik M, Tichy L, Freiburger T, Blaha V, Satny M, Hubacek JA. Genetics of Familial Hypercholesterolemia: New Insights. *Front. Genet.* 2020; 11: 574474.
40. Bertolini S, Pisciotto L, Fasano T, Rabacchi C, Calandra S. The study of familial hypercholesterolemia in Italy: A narrative review. *Atheroscler. Suppl.* 2017; 29: 1-10.
41. Bertolini S, Cantafora A, Averna M, Cortese C, Motti C, Martini S, et al. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: E41-E52.
42. Liguori R, Bianco AM, Argiriou A, Pauciullo P, Giannino A, Rubba P, et al. LDL receptor cDNA sequence analysis in familial hypercholesterolemia patients: 5 novel mutations with high prevalence in families originating from southern Italy. *Hum. Mutat.* 2001; 17: 433.
43. Gallo A, Charriere S, Vimont A, Chapman MJ, Angoulvant D, Boccard F, et al. SAFEHEART risk-equation and cholesterol-year-score are powerful predictors of cardiovascular events in French patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2020; 306: 41-49.
44. Korneva V, Kuznetsova T, Julius U. The Role of Cumulative LDL Cholesterol in Cardiovascular Disease Development in Patients with Familial Hypercholesterolemia. *J. Pers. Med.* 2022; 12: 71.
45. Ibrahim S, Reeskamp LF, Stroes ESG, Watts G F. Advances, gaps and opportunities in the detection of familial hypercholesterolemia: overview of current and future screening and detection methods. *Curr. Opin. Lipidol.* 2020; 31: 347-355.
46. Jahn B, Santamaria J, Dieplinger H, Binder CJ, Ebenbichler C, Scholl-Bürgi S, et al. Familial hypercholesterolemia: A systematic review of modeling studies on screening interventions. *Atherosclerosis.* 2022; 355: 15-29.
47. Lázaro P, Pérez de Isla L, Watts GF, Alonso R, Norman R, Muñoz O, et al. Cost-effectiveness of a cascade screening program for the early detection of familial hypercholesterolemia. *J. Clin. Lipidol.* 2017; 11: 260-271.
48. Wiegman A, Gidding SS, Watts GF, Chapman MJ, Ginsberg HN, Cuchel M, et al. European Atherosclerosis Society Consensus Panel. Familial hypercholesterolaemia in children and adolescents: gaining decades of life by optimizing detection and treatment. *Eur. Heart J.* 2015; 36: 2425-2437.
49. Mirzaee S, Rashid HN, Tumur O, Nogic J, Verma K, Cameron JD, et al. Awareness of Familial Hypercholesterolemia Among Healthcare Providers Involved in the Management of Acute Coronary Syndrome in Victoria, Australia. *CJC Open.* 2019; 1: 168-172.
50. Bulsara C, Brett T, Radford J, Heal C, Gill G, Hespe CM, et al. Awareness of familial hypercholesterolaemia in Australian primary care: A qualitative descriptive study. *Aust. J. Gen. Pract.* 2021; 50: 634-640.
51. Meng R, Wei Q, Zhou J, Zhang B, Li C, Shen M. A systematic review of cost-effectiveness analysis of different screening strategies for familial hypercholesterolemia. *J. Clin. Lipidol.* 2024; 18: e21-e32.
52. Groselj U, Kovac J, Sustar U, Mlinaric M, Fras Z, Podkrajsek KT, Battelino T. Universal screening for familial hypercholesterolemia in children: The Slovenian model and literature review. *Atherosclerosis.* 2018; 277: 383-391.
53. Hegele RA, Ban MR, Cao H, McIntyre AD, Robinson JF, Wang J. Targeted next-generation sequencing in monogenic dyslipidemias. *Curr. Opin. Lipidol.* 2015; 26: 103-113.
54. Iacocca MA, Wang J, Sarkar S, Dron JS, Lagace T, McIntyre AD, et al. Whole-Genome Duplication of PCSK9 as a Novel Genetic Mechanism for Severe Familial Hypercholesterolemia. *Can. J. Cardiol.* 2018; 34: 1316-1324.
55. Natarajan P, Peloso GM, Zekavat SM, Montasser M, Ganna A, Chaffin M, et al. Deepcoverage whole genome sequences and blood lipids among 16,324 individuals. *Nat. Commun.* 2018; 9: 3391.
56. Chora JR, Medeiros AM, Alves AC, Bourbon M. Analysis of publicly available LDLR, APOB, and PCSK9 variants associated with familial hypercholesterolemia: application of ACMG guidelines and implications for familial hypercholesterolemia diagnosis. *Genet. Med.* 2018; 20: 591-598.

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

57. Chora JR, Iacocca MA, Tichy L, Wand H, Kurtz CL, Zimmermann H, et al. The Clinical Genome Resource (ClinGen) Familial Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel consensus guidelines for LDLR variant classification. *Genet. Med.* 2022; 24: 293-306.
58. Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, et al. Diagnostic Yield and Clinical Utility of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Patients With Severe Hypercholesterolemia. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016; 67: 2578-2589.
59. Di Taranto MD, Giacobbe C, Fortunato G. Familial hypercholesterolemia: A complex genetic disease with variable phenotypes. *Eur. J. Med. Genet.* 2020; 63: 103831.
60. Di Taranto MD, Giacobbe C, Palma D, Iannuzzo G, Gentile M, Calcaterra I, et al. Genetic spectrum of familial hypercholesterolemia and correlations with clinical expression: Implications for diagnosis improvement. *Clin. Genet.* 2021; 100: 529-541.
61. Di Taranto MD, de Falco R, Guardamagna O, Massini G, Giacobbe C, Auricchio R, et al. Lipid profile and genetic status in a familial hypercholesterolemia pediatric population: exploring the LDL/HDL ratio. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2019; 57: 1102-1110.
62. Futema M, Ramaswami U, Tichy L, Bogsrud MP, Holven KB, Roeters van Lennep J, et al. Comparison of the mutation spectrum and association with pre and post treatment lipid measures of children with heterozygous familial hypercholesterolaemia (FH) from eight European countries. *Atherosclerosis.* 2021; 319: 108-117.
63. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur. Heart J.* 2020; 41: 111-188.
64. Tada H, Okada H, Nomura A, Yashiro S, Nohara A, Ishigaki Y, et al. Rare and Deleterious Mutations in ABCG5/ABCG8 Genes Contribute to Mimicking and Worsening of Familial Hypercholesterolemia Phenotype. *Circ. J.* 2019; 83: 1917-1924.
65. Alves AC, Benito-Vicente A, Medeiros AM, Reeves K, Martin C, Bourbon M. Further evidence of novel APOB mutations as a cause of familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis.* 2018; 277: 448-456.
66. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, et al. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. *Eur. Heart J.* 2014; 35: 2146-2157.
67. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Risk of fatal coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. *BMJ.* 1991; 303: 893-896.
68. World Health Organization. Human Genetics Program. Familial hypercholesterolemia (FH): Report of a second WHO consultation. Geneva: 1999. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/66346>.
69. Masana L, Ibarretxe D, Rodríguez-Borjabad C, Plana N, Valdivielso P, Pedro-Botet J, et al. Expert group from the Spanish Arteriosclerosis Society. Toward a new clinical classification of patients with familial hypercholesterolemia: One perspective from Spain. *Atherosclerosis.* 2019; 287: 89-92.
70. Rubba P, Gentile M, Marotta G, Iannuzzi A, Sodano M, De Simone B, et al. Causative mutations and premature cardiovascular disease in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2017; 24: 1051-1059.
71. Antoniazzi L, Arroyo-Olivares R, Mata P, Santos RD. Association of dietary patterns and components with atherosclerosis risk biomarkers in familial hypercholesterolemia. *Curr. Opin. Lipidol.* 2022; 33: 89-94.
72. Massini G, Capra N, Buganza R, Nyffenegger A, de Sanctis L, Guardamagna O. Mediterranean Dietary Treatment in Hyperlipidemic Children: Should It Be an Option? *Nutrients.* 2022; 14: 1344.
73. Soutar AK, Naoumova RP. Mechanisms of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 2007; 4: 214-225.
74. Cuchel M, Raal FJ, Hegele RA, Al-Rasadi K, Arca M, Averna M, et al. 2023 Update on European Atherosclerosis Society Consensus Statement on Homozygous Familial Hypercholesterolaemia: new treatments and clinical guidance. *Eur. Heart J.* 2023; 44: 2277-2291.
75. Sjouke B, Kusters DM, Kindt I, Besseling J, Defesche JC, Sijbrands EJ, et al. Homozygous autosomal dominant hypercholesterolaemia in the Netherlands: prevalence, genotype-phenotype relationship, and clinical outcome. *Eur. Heart J.* 2015; 36: 560-565.
76. Park JH, Chung IH, Kim DH, Choi MH, Garg A, Yoo EG. Sitosterolemia presenting with severe hypercholesterolemia and intertriginous xanthomas in a breastfed infant: case report and brief review. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014; 99: 1512-1518.
77. Kolansky DM, Cuchel M, Clark BJ, Paridon S, McCrindle BW, Wiegers SE, et al. Longitudinal evaluation and assessment of cardiovascular disease in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol.* 2008; 102: 1438-1443.
78. Tromp TR, Hartgers ML, Hovingh GK, Vallejo-Vaz AJ, Ray KK, Soran H, et al. Worldwide experience of homozygous familial hypercholesterolaemia: retrospective cohort study. *Lancet.* 2022; 399: 719-728.
79. Picano E, Pellikka PA. Stress echo applications beyond coronary artery disease. *Eur. Heart J.* 2014; 35: 1033-1040.
80. Balla S, Ekpo EP, Wilemon KA, Knowles JW, Rodriguez F. Women Living with Familial Hypercholester-

Documento di consenso sulla diagnosi e gestione della ipercolesterolemia familiare

- olemia: Challenges and Considerations Surrounding Their Care. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2020; 22: 60.
81. Kovacs P. The risk of cardiovascular disease with second- and third-generation oral contraceptives. *Medscape Women Health.* 2002; 7: 3.
82. Vinogradova Y, Coupland C, Hippisley-Cox J. Use of combined oral contraceptives and risk of venous thromboembolism: nested case-control studies using the QResearch and CPRD databases. *BMJ.* 2015; 350: h2135.
83. Goldberg AC, Hopkins PN, Toth PP, Ballantyne CM, Rader DJ, Robinson JG, et al. Familial hypercholesterolemia: screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients: clinical guidance from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. *J. Clin. Lipidol.* 2011; 5(3 Suppl): S1-S8.
84. Botha TC, Pilcher GJ, Wolmarans K, Blom DJ, Raal FJ. Statins and other lipid-lowering therapy and pregnancy outcomes in homozygous familial hypercholesterolaemia: A retrospective review of 39 pregnancies. *Atherosclerosis.* 2018; 277: 502-507.
85. Blaha M, Lanska M, Blaha V, Boudys L, Zak P. Pregnancy in homozygous familial hypercholesterolemia—Importance of LDL-apheresis. *Atheroscler. Suppl.* 2015;18: 134-139.
86. Graham DF, Raal FJ. Management of familial hypercholesterolemia in pregnancy. *Curr. Opin. Lipidol.* 2021; 32: 370-377.
87. Nordestgaard BG, Chapman MJ, Humphries SE, Ginsberg HN, Masana L, Descamps OS, et al. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society. *Eur. Heart J.* 2013; 34: 3478-3490a.
88. Wiegman A. Lipid Screening, Action, and Follow-up in Children and Adolescents. *Curr. Cardiol. Rep.* 2018; 20: 80.
89. Lan NSR, Martin AC, Brett T, Watts GF, Bell DA. Improving the detection of familial hypercholesterolaemia. *Pathology.* 2019; 51: 213-221.
90. Cohen H, Stefanutti C, The Mighty Medic Satellite Research Group for Pediatric Dyslipidemia. Current Approach to the Diagnosis and Treatment of Heterozygote and Homozygous FH Children and Adolescents. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2021; 23: 30.
91. Ison HE, Clarke SL, Knowles JW. Familial Hypercholesterolemia. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, et al., editors. *GeneReviews (R)*. Seattle (WA) 1993.
92. Coviello DA, Bertolini S, Masturzo P, Ghisellini M, Tiozzo R, Zambelli F, et al. Chorionic DNA analysis for the prenatal diagnosis of familial hypercholesterolaemia. *Hum. Genet.* 1993; 92: 424-426.
93. Sharifi M, Rakhit RD, Humphries SE, Nair D. Cardiovascular risk stratification in familial hypercholesterolaemia. *Heart.* 2016; 102: 1003-1008.
94. El-Rassi I, Chehab G, Saliba Z, Alawe A, Jebara V. Fatal cardiac atherosclerosis in a child 10 years after liver transplantation: a case report and a review. *J. Clin. Lipidol.* 2011; 5: 329-332.
95. Bianconi V, Banach M, Pirro M, International Lipid Expert P. Why patients with familial hypercholesterolemia are at high cardiovascular risk? Beyond LDL-C levels. *Trends Cardiovasc. Med.* 2021; 31: 205-215.
96. Perrone-Filardi P, Achenbach S, Mohlenkamp S, Reiner Z, Sambuceti G, Schuijff JD, et al. Cardiac computed tomography and myocardial perfusion scintigraphy for risk stratification in asymptomatic individuals without known cardiovascular disease: a position statement of the Working Group on Nuclear Cardiology and Cardiac CT of the European Society of Cardiology. *Eur. Heart J.* 2011; 32: 1986-1993, 1993a, 1993b.
97. Silverman MG, Ference BA, Im K, Wiviott SD, Giugliano RP, Grundy SM, et al. Association Between Lowering LDL-C and Cardiovascular Risk Reduction Among Different Therapeutic Interventions: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA.* 2016;316: 1289-1297.
98. Hamilton-Craig I, Kostner K, Colquhoun D, Woodhouse S. Combination therapy of statin and ezetimibe for the treatment of familial hypercholesterolemia. *Vasc. Health Risk Manag.* 2010; 6: 1023-1037.
99. Kastelein JJ, Ginsberg HN, Langslet G, Hovingh GK, Ceska R, Dufour R, et al. ODYSSEY FH I and FH II: 78-week results with alirocumab treatment in 735 patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Eur. Heart J.* 2015; 36: 2996-3003.
100. Santos RD, Stein EA, Hovingh GK, Blom DJ, Soran H, Watts GF, et al. Long-Term Evolocumab in Patients with Familial Hypercholesterolemia. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2020; 75: 565-574.
101. Wright RS, Ray KK, Raal FJ, Kallend DG, Jaros M, Koenig W, et al. Pooled Patient-Level Analysis of Inclisiran Trials in Patients with Familial Hypercholesterolemia or Atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2021; 77: 1182-1193.
102. Ray KK, Bays HE, Catapano AL, Lalwani ND, Bloedon LT, Sterling LR, et al. Safety and Efficacy of Bempedoic Acid to Reduce LDL Cholesterol. *N. Engl. J. Med.* 2019; 380: 1022-1032.
103. Hashim SA, Vanitallie TB. Cholestyramine Resin Therapy for Hypercholesteremia: Clinical and Metabolic Studies. *JAMA.* 1965; 192: 289-293.
104. Lent-Schochet D, Jialal I. Antilipemic Agent Bile Acid Sequestrants. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2023.
105. Raal FJ, Kallend D, Ray KK, Turner T, Koenig W, Wright RS, et al. Inclisiran for the Treatment of Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382: 1520-1530.

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

106. Casula M, Gazzotti M, Bonaiti F, Olmastroni E, Arca M, Averna M, et al. Reported muscle symptoms during statin treatment amongst Italian dyslipidaemic patients in the real-life setting: the PROSISA Study. *J. Intern. Med.* 2021; 290: 116-128.
107. Collaboration EASFHS. Global perspective of familial hypercholesterolaemia: a crosssectional study from the EAS Familial Hypercholesterolaemia Studies Collaboration (FHSC). *Lancet.* 2021; 398: 1713-1725.
108. Phan BA, Dayspring TD, Toth PP. Ezetimibe therapy: mechanism of action and clinical update. *Vasc. Health Risk Manag.* 2012; 8: 415-427.
109. Ward NC, Watts GF, Eckel RH. Statin Toxicity. *Circ. Res.* 2019; 124: 328-350.
110. Raal FJ, Pilcher GJ, Panz VR, van Deventer HE, Brice BC, Blom DJ, et al. Reduction in mortality in subjects with homozygous familial hypercholesterolemia associated with advances in lipid-lowering therapy. *Circulation.* 2011; 124: 2202-2207.
111. Alder M, Bavishi A, Zumpf K, Peterson J, Stone NJ. A Meta-Analysis Assessing Additional LDL-C Reduction from Addition of a Bile Acid Sequestrant to Statin Therapy. *Am. J. Med.* 2020; 133: 1322-7.
112. Ishigaki Y, Kawagishi N, Hasegawa Y, Sawada S, Katagiri H, Satomi S, et al. Liver Transplantation for Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *J. Atheroscler. Thromb.* 2019; 26: 121-127.
113. Martinez M, Brodrie S, Griesemer A, Kato T, Harren P, Gordon B, et al. Effects of Liver Transplantation on Lipids and Cardiovascular Disease in Children with Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol.* 2016; 118: 504-510.
114. Pottle A, Thompson G, Barbir M, Bayly G, Cegla J, Cramb R, et al. Lipoprotein apheresis efficacy, challenges and outcomes: A descriptive analysis from the UK Lipoprotein Apheresis Registry, 1989-2017. *Atherosclerosis.* 2019; 290: 44-51.
115. Wang A, Richhariya A, Gandra SR, Calimlim B, Kim L, Quek RG, et al. Systematic Review of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Apheresis for the Treatment of Familial Hypercholesterolemia. *J. Am. Heart Assoc.* 2016; 5: e003294.
116. Collaboration EASFHS, Vallejo-Vaz AJ, De Marco M, Stevens CAT, Akram A, Freiburger T, et al. Overview of the current status of familial hypercholesterolaemia care in over 60 countries - The EAS Familial Hypercholesterolaemia Studies Collaboration (FHSC). *Atherosclerosis.* 2018; 277: 234-255.
117. Alothman L, Belanger AM, Ruel I, Brunham LR, Hales L, Genest J, et al. Health-related quality of life in homozygous familial hypercholesterolemia: A systematic review and metaanalysis. *J. Clin. Lipidol.* 2022; 16: 52-65.
118. Taylan C, Weber LT. An update on lipid apheresis for familial hypercholesterolemia. *Pediatr. Nephrol.* 2023; 38: 371-382.
119. Pirillo A, Catapano AL, Norata GD. Monoclonal Antibodies in the Management of Familial Hypercholesterolemia: Focus on PCSK9 and ANGPTL3 Inhibitors. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2021; 23: 79.
120. Thedrez A, Blom DJ, Ramin-Mangata S, Blanchard V, Croyal M, Chemello K, et al. Homozygous Familial Hypercholesterolemia Patients With Identical Mutations Variably Express the LDLR (Low-Density Lipoprotein Receptor): Implications for the Efficacy of Evolocumab. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2018; 38: 592-598.
121. Raal FJ, Honarpour N, Blom DJ, Hovingh GK, Xu F, Scott R, et al. Inhibition of PCSK9 with evolocumab in homozygous familial hypercholesterolaemia (TELSA Part B): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2015; 385: 341-350.
122. Blom DJ, Harada-Shiba M, Rubba P, Gaudet D, Kastelein JJP, Charnig MJ, et al. Efficacy and Safety of Alirocumab in Adults with Homozygous Familial Hypercholesterolemia: The ODYSSEY HoFH Trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2020; 76: 131-142.
123. Raal F, Durst R, Bi R, Talloczy Z, Maheux P, Lesogor A, Kastelein JJP, ORION-5 Study Investigators. Efficacy, Safety, and Tolerability of Inclisiran in Patients With Homozygous Familial Hypercholesterolemia: Results From the ORION-5 Randomized Clinical Trial. *Circulation.* 2024; 149: 354-362.
124. Alonso R, Cuevas A, Mata P. Lomitapide: a review of its clinical use, efficacy, and tolerability. *Core Evid.* 2019; 14: 19-30.
125. AIFA. Inserimento del medicinale per uso umano «lomitapide» nell'elenco dei medicinali erogabili a totale carico del Servizio Sanitario Nazionale ai sensi della legge 23 dicembre 1996, n. 648, per il trattamento della ipercolesterolemia familiare omozigote (HoFH). (Determina n. 745/2013). 2013.
126. D'Erasmo L, Steward K, Cefalu AB, Di Costanzo A, Boersma E, Bini S, et al. Efficacy and safety of lomitapide in homozygous familial hypercholesterolaemia: the pan-European retrospective observational study. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2022; 29: 832-841.
127. Underberg JA, Cannon CP, Larrey D, Makris L, Blom D, Phillips H. Long-term safety and efficacy of lomitapide in patients with homozygous familial hypercholesterolemia: Five-year data from the Lomitapide Observational Worldwide Evaluation Registry (LOWER). *J. Clin. Lipidol.* 2020; 14: 807-817.
128. D'Erasmo L, Gallo A, Cefalu AB, Di Costanzo A, Saheb S, Giammanco A, et al. Long-term efficacy of lipoprotein apheresis and lomitapide in the treatment of homozygous familial hypercholesterolemia (HoFH): a cross-national retrospective survey. *Orphanet J. Rare Dis.* 2021; 16: 381.
129. Sperlongano S, Gragnano F, Natale F, D'Erasmo L, Concilio C, Cesaro A, et al. Lomitapide in homozygous familial hypercholesterolemia: cardiology per-

Documento di consenso sulla diagnosi e gestione della ipercolesterolemia familiare

- spective from a single-center experience. *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. 2018; 19: 83-90.
130. D'Erasmo L, Cefalu AB, Noto D, Giammanco A, Averna M, Pintus P, et al. Efficacy of Lomitapide in the Treatment of Familial Homozygous Hypercholesterolemia: Results of a Real-World Clinical Experience in Italy. *Adv. Ther.* 2017; 34: 1200-1210.
131. AIFA. Nota Informativa Importante su Lojuxta (lomitapide). 2021.
132. Di Costanzo A, Di Leo E, Noto D, Cefalu AB, Minicocci I, Polito L, et al. Clinical and biochemical characteristics of individuals with low cholesterol syndromes: A comparison between familial hypobetalipoproteinemia and familial combined hypolipidemia. *J. Clin. Lipidol.* 2017; 11: 1234-1242.
133. Bini S, D'Erasmo L, Di Costanzo A, Minicocci I, Pecerce V, Arca M. The Interplay between Angiopoietin-Like Proteins and Adipose Tissue: Another Piece of the Relationship between Adiposopathy and Cardiometabolic Diseases? *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22: 742.
134. Arca M, D'Erasmo L, Minicocci I. Familial combined hypolipidemia: angiopoietin-like protein-3 deficiency. *Curr. Opin. Lipidol.* 2020; 31: 41-48.
135. Raal FJ, Rosenson RS, Reeskamp LF, Hovingh GK, Kastelein JJP, Rubba P, et al. Evinacumab for Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383: 711-720.
136. Bajaj A, Cuchel M. Advancements in the Treatment of Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *J. Atheroscler. Thromb.* 2022; 29: 1125-1135.
137. Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES, Zwinderman AH, Bots ML, Stalenhoef AF, et al. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 1431-1443.
138. Lagace TA. PCSK9 and LDLR degradation: regulatory mechanisms in circulation and in cells. *Curr. Opin. Lipidol.* 2014; 25: 387-393.
139. Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat. Genet.* 2005; 37: 161-165.
140. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH, Jr., Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 1264-1272.
141. Gagne C, Gaudet D, Bruckert E, Ezetimibe Study G. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with atorvastatin or simvastatin in patients with homozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation*. 2002; 105: 2469-2475.
142. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *J. Clin. Invest.* 2003; 111: 1795-1803.
143. Davidson MH. Ezetimibe: a novel option for lowering cholesterol. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 2003; 1: 11-21.
144. Cesaro A, Fimiani F, Gragnano F, Moscarella E, Schiavo A, Vergara A, et al. New Frontiers in the Treatment of Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *Heart Fail. Clin.* 2022; 18: 177-188.
145. Berberich AJ, Hegele RA. Lomitapide for the treatment of hypercholesterolemia. *Expert Opin. Pharmacother.* 2017; 18: 1261-1268.
146. Cuchel M, Bloedon LT, Szapary PO, Kolansky DM, Wolfe ML, Sarkis A, et al. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein in familial hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med.* 2007; 356: 148-156.
147. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H, Blom DJ, Marais AD, Hegele RA, et al. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2013; 381: 40-46.
148. Nohara A, Otsubo Y, Yanagi K, Yoshida M, Ikewaki K, Harada-Shiba M, et al. Safety and Efficacy of Lomitapide in Japanese Patients with Homozygous Familial Hypercholesterolemia (HoFH): Results from the AEGR-733-301 Long-Term Extension Study. *J. Atheroscler. Thromb.* 2019; 26: 368-377.
149. Blom DJ, Averna MR, Meagher EA, du Toit Theron H, Sirtori CR, Hegele RA, et al. Long-Term Efficacy and Safety of the Microsomal Triglyceride Transfer Protein Inhibitor Lomitapide in Patients With Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *Circulation*. 2017; 136: 332-335.
150. Kolovou G, Diakoumakou O, Kolovou V, Fountas E, Stratakis S, Zacharis E, et al. Microsomal triglyceride transfer protein inhibitor (lomitapide) efficacy in the treatment of patients with homozygous familial hypercholesterolemia. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2020; 27: 157-165.
151. 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.* 2010; 363: 2220-2227.
152. 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.* 2017; 377: 211-221.
153. Stitzel NO, Khera AV, Wang X, Bierhals AJ, Vourakis AC, Sperry AE, et al. ANGPTL3 Deficiency and Protection Against Coronary Artery Disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2017; 69: 2054-2063.
154. Wang Y, Gusarova V, Banfi S, Gromada J, Cohen JC, Hobbs HH. Inactivation of ANGPTL3 reduces hepatic VLDL-triglyceride secretion. *J. Lipid Res.* 2015; 56: 1296-1307.
155. Adam RC, Mintah IJ, Alexa-Braun CA, Shihanian LM, Lee JS, Banerjee P, et al. Angiopoietin-like protein 3 governs LDL-cholesterol levels through endothelial lipase-dependent VLDL clearance. *J. Lipid Res.* 2020; 61: 1271-1286.

P. Tarugi, S. Bertolini, S. Calandra, et al.

156. Reeskamp LF, Millar JS, Wu L, Jansen H, van Harskamp D, Schierbeek H, et al. ANGPTL3 Inhibition With Evinacumab Results in Faster Clearance of IDL and LDL apoB in Patients With Homozygous Familial Hypercholesterolemia-Brief Report. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2021; 41: 1753-1759.
157. Braamskamp M, Langslet G, McCrindle BW, Cassiman D, Francis GA, Gagne C, et al. Effect of Rosuvastatin on Carotid Intima-Media Thickness in Children with Heterozygous Familial Hypercholesterolemia: The CHARON Study (Hypercholesterolemia in Children and Adolescents Taking Rosuvastatin Open Label). *Circulation.* 2017; 136: 359-366.
158. Humphries SE, Cooper J, Dale P, Ramaswami U, Group FHPRS. The UK Paediatric Familial Hypercholesterolaemia Register: Statin-related safety and 1-year growth data. *J. Clin. Lipidol.* 2018; 12: 25-32.
159. Stefanutti C, Vivenzio A, Di Giacomo S, Mazzarella B, Bosco G, Berni A. Aorta and coronary angiographic follow-up of children with severe hypercholesterolemia treated with low density lipoprotein apheresis. *Transfusion.* 2009; 49: 1461-1470.
160. Wiegman A, Greber-Platzer S, Ali S, Reijman MD, Brinton EA, Charng MJ, et al. Evinacumab for Pediatric Patients with Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *Circulation.* 2024; 149: 343-353.
161. Masana L, Zambon A, Schmitt C, Taylan C, Driemeyer J, Cohen H, et al. Lomitapide for the treatment of paediatric homozygous familial hypercholesterolaemia patients - Results from the efficacy phase of the APH-19 study. *Atherosclerosis.* 2023; 379 (Supplement 1): S23-S24.

TERAPIA

DISLIPIDEMIA E STATINE IN PAZIENTI CON INFEZIONE DA HIV-I: OLTRE L'EFFETTO IPOLIPEMIZZANTE

Dyslipidaemia and statins in people living with HIV-I (PLWH): beyond the lipid-lowering effect

MARCO RIDOLFI¹, GIANLUCA GAZZANIGA², ALESSANDRO LAZZARO¹, TOMMASO BROGI³,
DANIELE PASTORI³, IVANO MEZZAROMA⁴

¹DAI Medicina Interna, Scienze Endocrino-metaboliche e Malattie Infettive, AOU Policlinico Umberto I, Roma;

²Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Scuola di Specializzazione
in Farmacologia e Tossicologia Clinica, Università degli Studi di Milano;

³Dipartimento di Scienze Cliniche, Internistiche, Anestesiologiche e Cardiovascolari,
Sapienza Università di Roma;

⁴Dipartimento di Medicina Traslazionale e di Precisione, Sapienza Università di Roma

SUMMARY

Due to the development of antiretroviral therapy, HIV-1 infection has been transformed into a chronic disease and now people living with HIV-1 (PLWH) have a life expectancy that is almost the same of the uninfected population. This led to the observation of several co-morbidities associated with the infection, first of all the increased incidence of cardiovascular events. In this regard, dyslipidemia represents one of the main risk factors, with a multifactorial pathogenesis. Its prevention and/or treatment represents one of the major challenges to ensuring optimal health for PLWH. The main guidelines for the management of antiretroviral therapy, adopting what has already been indicated in the general population by the various international Cardiology Societies, give precise indications on the prevention and treatment of this co-morbidity, underlining the central role of statin therapy. This class of drugs, in addition to the lipid-lowering effect, exerts numerous effects on vascular tissues and blood cells. At the endothelial level, for example, statins show an anti-inflammatory action, and exert an immunomodulatory action at the monocyte-macrophage level and on lymphocytes. These activities have suggested potential different uses of statin therapy beyond the treatment of dyslipidemia, such as in the setting of autoimmune or inflammatory diseases and in HIV-1 infection.

Keywords: HIV-1, dyslipidemia, statins, antiretroviral therapy, immune activation, chronic inflammation.

Indirizzo per la corrispondenza

Ivano Mezzaroma

ivano.mezzaroma@uniroma1.it

M. Ridolfi, G. Gazzaniga, A. Lazzaro, et al.

Infezione da HIV-1 e rischio cardiovascolare

La normalizzazione dell'aspettativa di vita delle persone affette da infezione da Virus dell'immunodeficienza Umana di tipo 1 (HIV-1) ha portato al progressivo riconoscimento di un aumentato rischio cardiovascolare nel corso della storia naturale dell'infezione (1).

Nella *Figura 1* sono schematizzati i principali fattori implicati nello sviluppo della co-morbidità cardiovascolare nelle persone affette da infezione da HIV-1 (PLWH) che verranno successivamente analizzati.

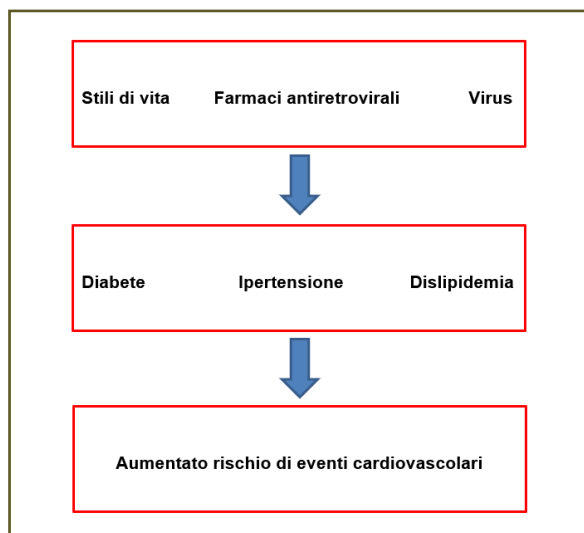


Figura 1 - Fattori implicati nell'aumento del rischio di eventi cardiovascolari in corso di infezione da HIV-1.

La dislipidemia in corso di infezione da HIV-1: ruolo del virus e della terapia

Le alterazioni dei livelli sierici di trigliceridi e colesterolo (dislipidemia) sono state descritte fin dai primi anni dell'epidemia di HIV-1. Sin dai primi anni è stato evidenziato un ruolo diretto e/o indiretto del virus stesso nello sviluppo di questo tipo di co-morbidità. Successivamente all'introduzione della terapia antiretrovirale, ed esponenzialmente dopo l'implementazione della stessa come terapia di combinazione di più classi di farmaci antiretrovirali, la descrizione degli effetti metabolici dei diversi principi attivi, sia sul metabolismo lipidico vero e proprio, sia clinicamente con la descrizione degli effetti di redistribuzione del grasso corporeo (lipoatrofia e lipodistrofia), di incremento del rischio di eventi cardiovascolari e, del tutto recentemente, con la descrizione di un eccesso di incremento del peso corporeo e di lipoaccumulo viscerale legato all'assunzione di alcuni farmaci antiretrovirali, hanno determinato la comparsa di un'ampia letteratura volta a descrivere l'incidenza ed i meccanismi patogenetici sottostanti a queste complicanze associate alla cronicizzazione dell'infezione da HIV-1.

Nella *Figura 2* è mostrato l'incremento nel tempo della letteratura scientifica sull'argomento ricercando "dyslipidemia and hiv" (estratto da PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Numerose alterazioni metaboliche sono sta-

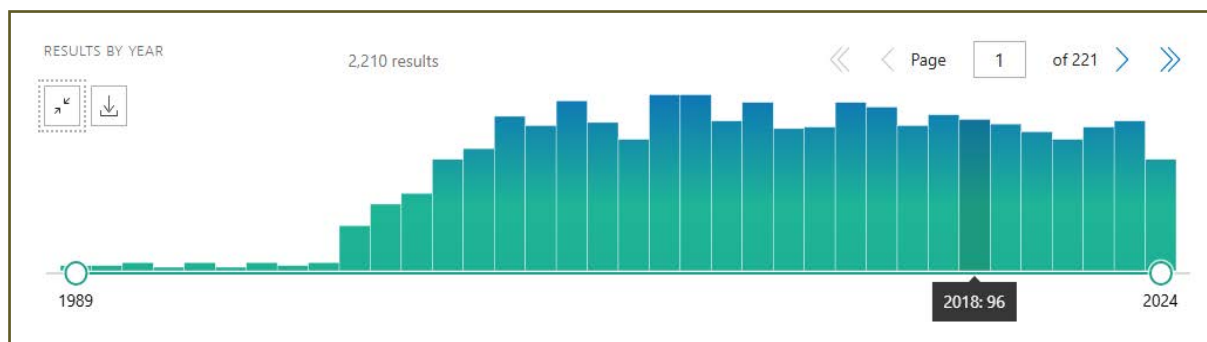


Figura 2 - Incremento della letteratura scientifica su dislipidemia e infezione da HIV-1.

Dislipidemia e statine in pazienti con infezione da HIV-1

te descritte in corso di infezione da HIV-1. L'infezione da parte del virus è associata ad un aumentato rischio di sviluppare obesità addominale, elevati livelli sierici di colesterolo LDL (LDL-c) e di trigliceridi (1, 2). L'alterato profilo metabolico lipidico, nella storia naturale dell'infezione da HIV-1, può essere spiegato dalla modulazione del metabolismo delle VLDL da parte di alcune citochine pro-infiammatorie (ad esempio Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α) e dalla ridotta clearance dei trigliceridi (3). Non è comunque chiaro il meccanismo attraverso il quale il virus provoca l'alterazione dell'assetto lipidico, in quanto sia l'infiammazione cronica presente nel corso dell'infezione, sia il virus stesso possono concorrere a questo. Una possibile spiegazione è l'inibizione dell'efflusso del colesterolo dai macrofagi (4), tramite l'alterazione del trasportatore ABCA1 (ATP binding cassette transporter A1 dependent cholesterol efflux).

A questo scenario si aggiunge il rischio di sviluppare dislipidemia per l'esposizione alla terapia antiretrovirale (ARV) (5) (HR 1.18, 95% CI 1.07-1.30). Sebbene l'utilizzo di terapie ipolipemizzanti tra le PLWH sia ampiamente sotto-dimensionato (< 25% dei pazienti in terapia) (6), nelle più importanti linee guida per la gestione dell'infezione da HIV-1 nei soggetti adulti [European AIDS Clinical Society (EACS) 2023 Guidelines, Version 12.0, ed in quelle del Department of Health and Human Services (DHHS), Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV, February 27, 2024] (7) <https://clinicalinfo.hiv.gov/sites/default/files/guidelines/documents/adult-adolescent-arv/guidelines-adult-adolescent-arv.pdf>) l'uso delle statine e la corretta gestione dei farmaci antiretrovirali sono fortemente raccomandati, soprattutto nei soggetti con rischio cardiovascolare a 10 anni maggiore o uguale del 10%.

L'associazione tra alterazioni del metabolismo lipidico e farmaci antiretrovirali sono emerse sin dai primi anni dopo l'introduzione della terapia (8); soprattutto per alcune moleco-

le non più indicate come prima linea nella maggior parte delle linee guida internazionali (es. indinavir, lopinavi-ritonavir) (9). Tra le classi farmaceutiche presenti nell'attuale pipeline farmacologica, alcune molecole possono essere associate a comparsa di dislipidemia, anche se l'effetto delle singole molecole presenta a questo riguardo variazioni interindividuali (10). L'utilizzo degli inibitori dell'integrasi (integrasi strand transfer inhibitors, INSTI) e degli inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTI) si associa in genere a minori effetti dislipidemici rispetto ad altre classi di farmaci.

Tra gli inibitori della proteasi (protease inhibitors, PI), le molecole che richiedono un dosaggio inferiore di booster con ritonavir (darunavir e/o atazanavir) tendono ad avere un profilo più favorevole rispetto ad altri farmaci della stessa classe (11). Ciononostante darunavir-ritonavir (unico PI a comparire come regime alternativo nelle ultime linee guida EACS, come terapia nel paziente naïve) non sembra essere neutrale sull'assetto lipidico tanto quanto il raltegravir (INSTI) (12).

La patogenesi della dislipidemia correlata agli inibitori della proteasi sembra essere dovuta all'omologia della regione catalitica della proteasi di HIV-1 con la regione di due proteine umane coinvolte nel metabolismo lipidico: cytoplasmic retinoic-acid binding protein type 1 (CRABP-1) and low density lipoprotein-receptor-related protein (LRP) (13). Questa omologia sembra risultare nell'inibizione dell'attività di queste proteine e quindi nella comparsa delle manifestazioni clinico-laboratoristiche che vanno dalla iperlipidemia alla alterata redistribuzione del grasso corporeo (lipodistrofia, lipatrofia e/o lipoaccumulo). Questi effetti metabolici sono stati in parte controllati da quando è stata introdotta una nuova molecola come booster per i PI, il cobicistat, il cui impatto sul metabolismo lipidico è sicuramente inferiore rispetto al ritonavir. È da ricordare, per i non ad-

M. Ridolfi, G. Gazzaniga, A. Lazzaro, et al.

detti alla terapia ARV, che l'uso del cosiddetto booster in associazione ai PI è necessario per diminuire il dosaggio dei farmaci (e quindi ridurre gli effetti collaterali), migliorarne l'assorbimento e la concentrazione ematica, ed in ultima analisi ridurre la frequenza di somministrazione (oggi possibile ogni 24 ore rispetto alle prime molecole di questa classe che la prevedevano ogni 4-6 ore).

Nell'ultimo decennio la scelta dei farmaci antiretrovirali di prima linea (ma anche per quanto riguarda lo switch terapeutico cosiddetto pro-attivo) si è spostata sull'implementazione dell'uso degli INSTI e sull'inibitore nucleotidico della trascrittasi inversa (nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTI) tenofovir alafenamide (TAF), in quanto queste molecole hanno un profilo metabolico più favorevole rispetto ai PI. Ciononostante, recenti studi di coorte hanno dimostrato come i regimi basati su INSTI siano associati ad un aumento del peso corporeo e ad un aumentato rischio di malattia cardiovascolare (diabete, ipertensione, steatosi epatica, iperglicemia) (14). Byonanebye DM et al hanno dimostrato come i soggetti arruolati in uno studio multicentrico di coorte (RESPOND), che assumevano terapia a base di INSTI, avevano un rischio inferiore di dislipidemia rispetto a chi assumeva PI, ma questo rischio era comunque più alto rispetto ai soggetti che erano sottoposti a regimi a base di NNRTI (15). In aggiunta, quando l'analisi veniva corretta per i diversi fattori confondenti, non si osservava una differenza significativa nell'occorrenza di eventi cardiovascolari tra le diverse classi di farmaci durante il follow up.

Nonostante la ben nota tossicità mitocondriale degli NRTI (causa tra le altre di acidosi lattica, neuropatia periferica sensitiva, pancreatite ed epatotossicità) le molecole attualmente utilizzate nella pratica clinica [tenofovir disoproxil-fumarato (TDF), lamivudina (3TC) ed emtricitabina (FTC)] non sembrano avere importanti effetti sul profilo lipidico.

La più recente formulazione di tenofovir

(TAF) sembra determinare un aumento di colesterolo totale, HDL-c e LDL-c rispetto al TDF (16). Il maggiore accumulo intracellulare del TAF rispetto al TDF potrebbe essere alla base delle alterazioni mitocondriali correlate all'aumento di peso nei soggetti che utilizzano TAF (17). Gli esteri fumarati sono potenti agonisti di GPR109A (recettore 2 dell'acido idrossicarbossilico), il quale inibisce la lipolisi nell'adipocita, diminuendo i livelli di LDL-c (18). Inoltre il TDF negli adipociti aumenta i livelli di PPAR- γ (recettore gamma attivato dai proliferatori dei perossisomi) e CCAAT/enhancer-binding proteins più del TAF, inibendo la proliferazione adipocitaria (19). TDF in combinazione con emtricitabina o lamivudina è stato associato ad un minore livello di colesterolo totale, LDL-c e trigliceridi comparato ad altri NRTI (20), tra cui abacavir (21); inoltre la co-formulazione TDF/FTC sembra avere un ruolo ipolipemizzante (anche se modesto) rispetto al placebo (22), infatti lo studio ACTG 5206 (23) ha dimostrato come nei pazienti virologicamente soppressi l'uso del TDF sia associato ad una riduzione dei livelli di LDL-c e dei trigliceridi.

In generale, tutti i farmaci, appartenenti alla classe degli INSTI, si associano a profili lipidici favorevoli. Raltegravir (INSTI di prima generazione) tra tutti gode di molti studi comparativi con molecole di altre classi (efavirenz e darunavir) che ne dimostrano tali effetti (12). In maniera simile a raltegravir, dolutegravir e bictegravir (INSTI di seconda generazione) non causano incremento significativo dei livelli lipidici in pazienti naive (24, 25).

I trial DRIVE-AHEAD e DRIVE-FORWARD (26) hanno recentemente dimostrato come il farmaco doravirina, una molecola appartenente alla classe degli NNRTI di terza generazione, rispetto ad efavirenz, determini minimi cambiamenti nei livelli di colesterolo, sottolineando l'eccellente profilo metabolico di questo farmaco particolarmente utile nel trattamento di PLWH che presentano alterazioni lipidiche ed incremento del peso corporeo.

Pertanto, nell'approccio alla terapia ARV, in accordo con quanto indicato nelle linee guida, è necessario valutare l'impatto dei farmaci sulla salute cardiovascolare e sull'assetto lipidico delle persone, sia nel soggetto naïve che nello switch, pro-attivo e non, tenendo anche in opportuna considerazione le possibili interazioni farmacologiche soprattutto in un contesto di polifarmacoterapia, evento questo sempre più frequente con l'invecchiamento della popolazione.

Ruolo delle linee guida per la gestione della dislipidemia e del rischio CV nei PLWH

LDL-c: obiettivi di terapia

Una corretta gestione del rischio cardiovascolare (CV) prevede un'adeguata valutazione del profilo lipidico. Questo dovrebbe essere valutato ogni anno nei soggetti a rischio CV alto o molto alto e ogni 3-5 anni nei soggetti con rischio moderato o basso.

L'aumento dei valori di colesterolo LDL (LDL-c) è direttamente proporzionale all'incremento del rischio CV, e viceversa. L'EACS ha rilasciato nell'ottobre 2023 l'ultimo aggiornamento delle linee guida sulla gestione dell'infezione da HIV-1 e AIDS, includendo anche una revisione dell'approccio al trattamento delle dislipidemie (7). Queste includono una sezione dedicata alla gestione del rischio CV, contenente indicazioni pratiche sull'approccio terapeutico alla dislipidemia, mutate sulle nuove linee guida per la gestione delle dislipidemie prodotte congiuntamente dall'European Society of Cardiology e dall'European Atherosclerotic Society (ESC/EAS) nel 2019 (27).

Per un corretto approccio terapeutico è necessaria una preliminare valutazione e stima del rischio CV globale, cui seguirà una stratificazione in classi di rischio: ad ogni classe di rischio (basso, moderato, alto, molto alto) è assegnato un differente obiettivo terapeutico di LDL-c. Seppure tale approccio metodologico che identifica soglie di rischio consenta una mi-

gliore identificazione dei pazienti a maggiore o minor rischio CV globale, è importante rammentare che questo rischio è un continuum e che la prescrizione di farmaci ipolipemizzanti non può essere basata sui soli valori offerti dai calcolatori di rischio CV specifico (LDL-c-relato), ma deve essere indirizzata da una valutazione personalizzata del rischio CV globale. A tal proposito è fondamentale riconoscere i fattori clinici ed anamnestici che consentono di individuare soggetti appartenenti a categorie di rischio alto e molto alto, per i quali non è necessario ricorrere all'utilizzo di calcolatori per la stima del rischio cardiovascolare.

Persone a *rischio molto alto* (almeno uno dei seguenti):

1. Documentata malattia cardiovascolare:
 - Diagnosi clinica (sindrome coronarica acuta, angina stabile, rivascolarizzazione coronarica, ictus, attacco ischemico transitorio e arteriopatia periferica);
 - e/o diagnosi radiologica (placche emodinamicamente significative a livello coronarico – rilevate tramite angiografia o TC coronarica – e/o carotideo).
2. Diabete mellito con:
 - almeno un danno d'organo bersaglio;
 - o almeno 3 fattori di rischio CV maggiori;
 - DM di tipo 1 di lunga durata (>20 anni).
3. Insufficienza renale grave (eGFR <30 ml/min/1.73m²).
4. Ipercolesterolemia familiare con malattia cardiovascolare aterosclerotica o almeno un fattore di rischio CV maggiore.

Persone a *rischio alto* (almeno uno dei seguenti):

1. Singolo fattore di rischio CV marcatamente elevato:
 - Colesterolo totale > 8 mmol/L.
 - LDL >4.9 mmol/L.
 - Pressione arteriosa ≥180/110 mmHg.
2. Diabete mellito, in assenza di danno d'organo, con:
 - Durata ≥10 anni;
 - o almeno un fattore di rischio CV.

M. Ridolfi, G. Gazzaniga, A. Lazzaro, et al.

3. Insufficienza renale moderata (eGFR <60 ml/min/1.73m²).
4. Ipercolesterolemia familiare senza altri fattori di rischio CV maggiori.

Ad ogni modo, l'obiettivo di LDL-c da raggiungere deve essere personalizzato sulla base della stima del rischio CV, indipendentemente dall'approccio terapeutico utilizzato. Di seguito i target da raggiungere in funzione del livello di rischio cardiovascolare globale stimato:

1. Rischio molto alto o prevenzione secondaria: un regime terapeutico che raggiunge una riduzione del LDL-c $\geq 50\%$ dal basale e un obiettivo di LDL-c <1,4 mmol/L (<55 mg/dL).
2. Rischio alto: un regime terapeutico che raggiunge una riduzione del LDL-c $\geq 50\%$ dal basale e un obiettivo di LDL-c <1,8 mmol/L (<70 mg/dL).
3. Rischio moderato: obiettivo di LDL-c <2,6 mmol/L (<100 mg/dL).
4. Basso rischio: obiettivo di LDL-c <3,0 mmol/L (<116 mg/dL).

Interventi terapeutici nelle PLWH

Il primo passo da intraprendere per ridurre il rischio CV nelle PLWH risiede nella modifica dello stile di vita: un ridotto apporto calorico, un maggiore esercizio fisico, la riduzione del peso corporeo e la cessazione del fumo tendono ad aumentare i livelli di HDL-c; il consumo di pesce, la riduzione delle calorie, dei grassi saturi e dell'assunzione di alcol riducono invece i livelli ematici di trigliceridi. Infine, la riduzione dell'assunzione di grassi saturi nella dieta migliora i livelli di LDL-c. Qualora tali interventi non dovessero risultare efficaci, è necessario valutare se un cambiamento della terapia anti-retrovirale possa contribuire a migliorare il profilo lipidico. Solo successivamente si prenderà in considerazione l'impegno di farmaci ipolipemizzanti. Gli inibitori competitivi dell'enzima HMG-CoA (3-Hydroxy-3Methyl-Glutaryl-Coenzima A) reduttasi, anche noti come statine, rappresentano la prima linea di terapia ipoli-

pemizzante. Molecole diverse presentano diverso potere ipolipemizzante in relazione alla loro abilità di ridurre i valori di LDL-c. Ad esempio, per atorvastatina, rosuvastatina e simvastatina è atteso un range di riduzione dei valori di LDL-c di circa 1.5-2 mmol/L (60-100 mg/dL); più basso invece il range atteso per fluvastatina e pravastatina (0.8-1.5 mmol/L corrispondente a 35-60 mg/dL). La pitavastatina alla dose di 4mg/die ha recentemente dimostrato efficacia nel ridurre l'incidenza di eventi CV maggiori nelle PLWH nel trial REPRIEVE (28), uno studio di fase 3 randomizzato e controllato con pitavastatina 4 mg al giorno vs placebo volto a valutare l'incidenza di malattia CV su base aterosclerotica nei soggetti in trattamento ART di età compresa tra 40 e 75 anni e a rischio basso-intermedio secondo le stime del rischio ASCVD (atherosclerotic cardiovascular disease) a 10 anni utilizzando il calcolatore di rischio dell'American Heart Association e dell'American College of Cardiology (AHA/ACC) del 2013 con soglie specifiche per LDL-c (29). I risultati dello studio REPRIEVE, insieme all'osservazione che i calcolatori di rischio CV progettati utilizzando dati dalla popolazione generale sottostimano costantemente il rischio CV tra le PLWH, hanno motivato l'EACS ad implementare delle interim guidelines (2024 <https://www.eacsociety.org/guidelines/interim-guidance/>) per la prevenzione primaria delle malattie cardiovascolari nelle PLWH di età ≥ 40 anni. In particolare, l'EACS raccomanda che il rischio CV a 10 anni venga stimato annualmente nelle PLWH di età ≥ 40 anni, utilizzando i calcolatori SCORE2 (per persone di età compresa tra 40 e 69 anni) o SCORE2-OP (per persone di età ≥ 70 anni) (30).

Quando la stima del rischio CV è $\geq 10\%$ la terapia con statine è indicata secondo le attuali linee guida EACS. I target sono quelli precedentemente indicati.

Quando la stima del rischio CV è compresa tra 5 e <10% si raccomanda una terapia con statine a intensità moderata, le opzioni includono:

Dislipidemia e statine in pazienti con infezione da HIV-1

pitavastatina 4 mg una volta al giorno, dove disponibile atorvastatina 20 mg una volta al giorno o rosuvastatina 10 mg una volta al giorno.

Quando la stima del rischio CV è <5% considerare una terapia con statine a intensità moderata (vedi opzioni sopra), dopo una valutazione dei rischi e benefici in accordo con la persona (Figura 3).

Relativamente al dosaggio da impiegare, è consigliabile partire con la dose minima efficace, e progressivamente aumentare fino al raggiungimento dell'obiettivo di LDL-c individuato, tenendo a mente che molecole diverse posseggono potenza diversa, per cui è possibile passare da una molecola di minore ad una di maggiore potenza al fine di mantenere dosaggi ridotti di statine prescritte. Bisogna tuttavia ricordare che le statine non sono esenti da interazioni farmacologiche con la terapia ARV, che è necessario tenere in considerazione al fine di massimizzarne l'efficacia e ridurne al minimo

gli effetti avversi (disturbi gastrointestinali, cefalea, miotossicità, fra i più frequenti). Gli NNR-TI ed i PI sono tra gli ARV più comunemente coinvolti in tale meccanismo di interazione.

La pitavastatina non presenta interazioni di rilievo con i farmaci ARV e per tale ragione potrebbe imporsi nel prossimo futuro come terapia ipolipemizzante orale d'elezione per le PLWH, soprattutto considerati i vantaggi quali la riduzione dell'attivazione immunitaria e dell'infiammazione presente a carico della parete arteriosa dimostrata in precedenti studi (31), un aumento più significativo dei livelli di HDL-c ed un minore impatto sui livelli glicemici.

Altre strategie di intervento farmacologico possono essere prese in considerazione nei casi di comprovata intolleranza alle statine (che quindi non possono essere utilizzate), o come terapia aggiuntiva alla terapia con statine già in corso, qualora questa non si dimostri sufficiente a raggiungere gli obiettivi di LDL-c

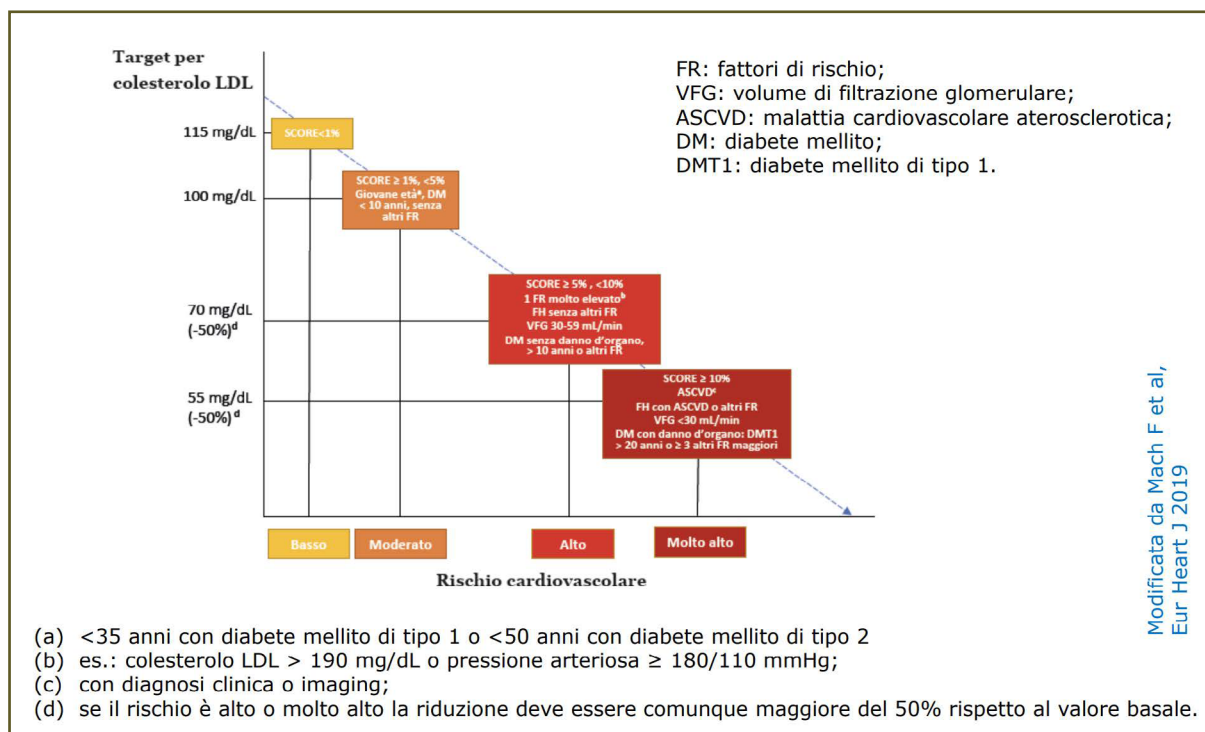


Figura 3 - Flow chart degli interventi terapeutici in base al rischio stimato di eventi CV.

M. Ridolfi, G. Gazzaniga, A. Lazzaro, et al.

individuali nonostante dosaggi massimali di statine.

In primo luogo è da considerarsi l'uso dell'ezetimibe, un inibitore dell'assorbimento intestinale del colesterolo, da solo o in associazione alle statine stesse, anche se questa molecola è dotata di un'azione ipolipemizzante ridotta rispetto alle statine: range atteso di riduzione di LDL-c di soli 0.2-0.5 mmol/L (12-20 mg/dL). Infine, per i soggetti ad alto rischio CV con intolleranza alle statine, interazioni farmacologiche tra statine ad alta intensità e terapia ARV, o in quelli che non riescono a raggiungere gli obiettivi di LDL-c con statine e/o ezetimibe, si dovrebbe considerare l'utilizzazione di un inibitore della proteina convertasi subtilisina/kexina di tipo 9 (PCSK-9), come gli anticorpi monoclonali evolocumab o alirocumab; o, in alternativa, un inibitore dell'ATP-citrato-liasi (ACLY), come acido bempedoico. Mentre quest'ultimo può provocare gotta e colelitiasi, non sono segnalati particolari effetti avversi comunemente riscontrabili con l'impiego degli anticorpi monoclonali evolocumab ed alirocumab. Inoltre, per evolocumab sono disponibili dati relativi al trattamento dei PLWH (32).

Ipertrigliceridemia: obiettivi di terapia ed interventi terapeutici

A differenza di quanto visto per i valori di colesterolo, non è chiaro quale sia il contributo indipendente dei trigliceridi al rischio CV. Non sono disponibili valori target per i trigliceridi: ciononostante, valori <1.7 mmol/L (150 mg/dL) sono associati a un minor rischio CV e, analogamente, valori superiori dovrebbero suggerire al clinico di indagare altri fattori di rischio CV (pressione arteriosa sistemica, glicemia, coagulazione, fumo, alimentazione, stile di vita, predisposizione genetica).

Il trattamento con statine è raccomandato come prima scelta farmacologica per ridurre il rischio di malattie CV negli individui ad alto rischio CV con ipertrigliceridemia >2,3

mmol/L (>200 mg/dL). La conferma dell'ipertrigliceridemia deve essere ottenuta mediante valutazione lipidica a digiuno. Trigliceridi molto elevati (>10 mmol/L o >900 mg/dL) aumentano il rischio di pancreatite, ed in tale contesto trovano indicazione i fibrati. Infine, l'icosapent etile, un estere puro dell'acido eicosapentaenoico (EPA) della famiglia degli omega-3, è indicato per ridurre il rischio CV come complemento alla terapia con statine nei pazienti a rischio molto elevato (post infarto miocardico e diabetici con un altro fattore di rischio CV) con trigliceridemia >1,7 mmol/L (150 mg/dL).

Aspetti molecolari ed effetto immunomodulante delle statine

È noto da tempo che le statine, oltre a inibire la HMG-CoA reduttasi, esercitano numerosi effetti sui tessuti vascolari e sulle cellule ematiche. La *Figura 4* sintetizza i principali effetti delle statine sull'endotelio, sulle piastrine e sulle cellule del sistema immunitario. A livello endoteliale, le statine mostrano un'azione antinfiammatoria, riducendo la produzione di specie reattive dell'ossigeno e l'attività pro-infiammatoria mediata dalla ciclossigenasi 2; parallelamente, migliorano il tono e l'omeostasi vascolare, diminuendo i livelli di endotelina 1 e inducendo la sintesi dell'ossido nitrico, favorendo così la vasodilatazione (33, 34).

A livello piastrinico, sono state osservate una riduzione della capacità di adesione e aggregazione, importanti nella patogenesi degli eventi CV, mediate dalla riduzione della produzione di trombossano A2 e del fattore piastrinico 4 (PF-4) (33).

In aggiunta, le statine esercitano rilevanti azioni antinfiammatorie sui leucociti; è stata evidenziata una riduzione del reclutamento dei macrofagi dovuta ad una ridotta produzione della chemochina MCP-1 e delle principali citochine pro-infiammatorie (IL-1, IL-6, IL-8, TNF). Ciò si traduce inoltre in una minore attivazione

Dislipidemia e statine in pazienti con infezione da HIV-1

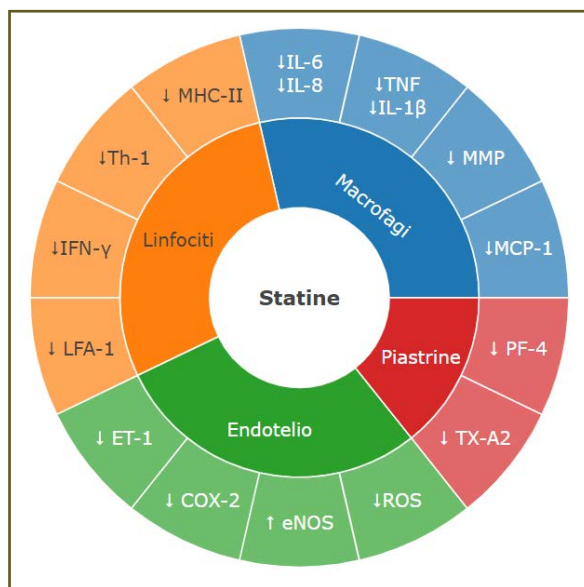


Figura 4 - Principali effetti delle statine in ambito vascolare e immunologico.

COX-2: Cicloossigenasi-2; eNOS: Ossido Nitrico Sintasi Endoteliale; ET-1: Endotelina-1; IFN-γ: Interferone gamma; IL-1β: Interleuchina 1 beta; IL-6: Interleuchina 6; IL-8: Interleuchina 8; LFA-1: Antigene Associato alla Funzione Linfocitaria 1; MHC-II: Complesso Maggiore di Istocompatibilità classe II; MCP-1: Proteina Chemioattraente dei Monociti-1; MMP: Metalloproteinasi di Matrice; PF-4: Fattore Piastrinico 4; ROS: Specie Reattive dell'Ossigeno; Th-1: Polarizzazione tipo 1; TNF: Fattore di Necrosi Tumorale; TX-A2: Trombossano A2.

macrofagica ed in una ridotta produzione di metalloproteinasi (34, 35).

Per quanto riguarda la linea linfoide, è stato osservato che le statine ostacolano una polarizzazione pro-infiammatoria di tipo 1, con conseguente riduzione della produzione di interferone gamma; questo processo è inoltre ulteriormente amplificato dalla down-regolazione delle molecole di adesione, come l'integrina LFA-1, e di molecole MHC di classe II (34, 36).

Tali attività hanno suggerito potenziali usi della terapia con statine che vanno oltre il classico trattamento delle dislipidemie, come ad esempio nel setting di malattie autoimmuni o infiammatorie (37, 38).

Oltre alla dislipidemia, un ruolo fisiopatolo-

gicamente importante nella genesi e progressione della malattia aterosclerotica è rappresentato dall'infiammazione, dall'attivazione immunitaria e dallo stress ossidativo, tutti fattori ampiamente indagati nell'infezione da HIV-1 (39). Tra i vari marcatori per la valutazione del rischio CV alcune linee guida menzionano il dosaggio della proteina C reattiva ad alta sensibilità (hsPCR), anche se questa valutazione viene suggerita in pazienti selezionati e non vi siano ancora valide stratificazioni e predizioni del rischio che ne tengano conto (40, 30). Nei pazienti con sindrome coronarica acuta inoltre, marcatori quali PCR, interleuchina (IL)-6 e IL-1 elevati sono stati visti essere correlati a prognosi intraospedaliere e a breve termine peggiori (41). Nella popolazione generale si è visto come le statine abbiano effetti antinfiammatori (42) e come questi riducano la progressione della malattia CV, al di là dei noti effetti ipolipemizzanti (43). A questo proposito importante risulta essere l'azione di alcune statine, quali l'atorvastatina, la pravastatina e la pitavastatina nella riduzione dello stress ossidativo, dell'adesione delle cellule immunitarie alla parete dell'endotelio e del reclutamento monocitario, con effetto di stabilizzazione della placca immunomediato (44). È stato inoltre osservato come l'utilizzo di alcune statine nella popolazione generale come prevenzione primaria degli eventi CV possa determinare tale beneficio anche grazie ai loro effetti antinfiammatori, risultando efficace soprattutto in coloro che presentavano bassi livelli di colesterolo ed alti livelli di PCR (45, 46). L'HIV-1 e la terapia ARV sono responsabili dell'aumentato stato infiammatorio osservato nei PLWH rispetto la popolazione generale (47) ed alcuni marcatori infiammatori, quali PCR, IL-6 e d-dimero sono stati associati a malattia CV anche in questa popolazione (48). È stato osservato come l'uso delle statine nei PLWH contribuisce alla riduzione della mortalità non solo da eventi CV, come mostrano i risultati ottenuti in una coorte di 1538 pazienti in cui l'utilizzo di questi farmaci si è dimostrato

M. Ridolfi, G. Gazzaniga, A. Lazzaro, et al.

essere associato a una riduzione della mortalità globale (49). Molte fonti dalla letteratura suggeriscono come questo effetto possa in parte derivare dall'azione immunomodulante di questa classe di farmaci.

Nel trial SATURN-HIV sono stati arruolati 147 pazienti in trattamento con farmaci ARV con livelli di LDL-c ≤ 130 mg/dL, rischio cardiovascolare a 10 anni $< 5\%$ e livelli di infiammazione elevati (PCRhs > 2 mg/dL) o indicatori di attivazione dei linfociti T (linfociti T CD8+ esprimenti fenotipo CD38+/HLA-DR+ $> 18\%$); successivamente i soggetti sono stati randomizzati ad assumere 10 mg di rosuvastatina al giorno o placebo e sono stati seguiti per 96 settimane. Lo studio ha mostrato come la progressione dell'IMT carotideo fosse ridotta nel braccio dei pazienti sotto statina, mostrando come l'effetto fosse quindi indipendente dall'azione ipolipemizzante del farmaco (50). Sempre lo stesso trial nei pazienti in terapia con statina sono stati documentati valori minori di CD14 solubile (sCD14), proteina questa indice di attivazione monocitaria e predittore indipendente di mortalità nei PLWH (51). Un trial italiano ha mostrato inoltre come l'utilizzazione della rosuvastatina in combinazione a terapia ARV è associato ad

una riduzione dei marcatori di infiammazione rispetto alla sola ARV (52). In una coorte di 1031 PLWH l'utilizzo di statine senza concomitante uso di aspirina è stato associato ad una riduzione dei valori di hsPCR, di IL-6 sierica e di sCD14 (53). Lo stesso studio ha indicato come le statine con proprietà lipofile fossero maggiormente associate alla riduzione dei marcatori infiammatori. Un trial condotto negli Stati Uniti e a Porto Rico su 252 PLWH in terapia ARV con dislipidemia ha mostrato come l'uso della pitavastatina rispetto alla pravastatina riduca maggiormente alcuni marcatori di attivazione e di infiammazione vascolare (sCD14, oxLDL e Lp-PLA2) (54). Anche l'atorvastatina ha dimostrato un importante ruolo immunomodulante nei PLWH: in alcuni studi è stata infatti osservata una riduzione dell'attivazione dei linfociti T CD8+ (55), una riduzione delle cellule esprimenti il CD38 (56), marker associato a progressione di malattia verso l'AIDS e alla morte (57). La *Tabella 1* riporta i dati di una recente meta-analisi che ha valutato l'impatto delle statine su diversi parametri immunologici (58).

Per quanto riguarda la conta dei linfociti T CD4+ al basale, venti studi hanno rilevato una differenza trascurabile e non significativa, con

Tabella 1

Marcatore	Numero Studi	N pazienti (Statine/ Non trattati)	Misura	Stima (IC 95%)	P value	Eterogeneità (I ²)
Conta Linfociti T CD4+ Baseline	20	886/906	SMD	-0.01 (-0.25, 0.23)	0.95	83%
Conta Linfociti T CD4+ al FU	3	57/55	SMD	-0.59 (-1.38, 0.19)	0.14	72%
Linfociti T CD8+CD38+HLA-DR+	5	72/75	SMD	1.10 (0.93, 1.28)	< 0.00001	0%
Linfociti T CD4+CD38+HLA-DR+	3	151/149	SMD	0.92 (0.32, 1.52)	0.003	81%
Rischio di <i>viral rebound</i>	16	826/852	RR	1.01 (0.98, 1.04)	0.65	0%
Colesterolo totale	9	200/203	SMD	-2.87 (-4.08, -1.65)	< 0.00001	95%

FU, Follow-up; IC, Intervallo di confidenza; RR: Rischio Relativo; SMD, differenza media standardizzata.

un'alta eterogeneità. Al follow-up, tre studi hanno riportato globalmente una differenza non significativa nella conta dei linfociti T CD4+. I linfociti T CD8+CD38+HLA-DR+ mostrano una differenza media standardizzata significativa in 5 studi (SMD 1.10, IC95% 0.93, 1.28), senza eterogeneità. Analogamente, per i linfociti T CD4+CD38+HLA-DR+, tre studi riportano una differenza significativa (SMD 0.92, IC95% 0.32, 1.52) con alta eterogeneità. Sedici studi hanno valutato l'effetto delle statine sul rischio di *viral rebound* nei pazienti con carica virale non rilevabile in terapia antiretrovirale: la stima complessiva dell'effetto non ha evidenziato un rischio significativo di *rebound*, suggerendo quindi l'assenza di effetto delle statine sul rischio di replicazione virale (RR 1.01, IC95% 0.98, 1.04). A conclusione, e come riferimento, nove studi, pur con un'alta eterogeneità, evidenziano una riduzione significativa (SMD -2.87 IC95% -4.08, -1.65) dei livelli di colesterolo totale.

È interessante notare che una successiva analisi per sottogruppi volta ad indagare le fonti dell'eterogeneità della conta dei linfociti T CD4+ al basale ha mostrato una SMD di -0.01 (IC 95%: -0.25, 0.21, $I^2 = 0\%$), con stime variabili fra -0.39 (IC95% -1.20, 0.42, uno studio) della pitavastatina e 0.06 (IC95% -0.50, 0.61, tre studi) dell'atorvastatina, suggerendo quindi un possibile effetto del tipo di molecola nello spiegare l'eterogeneità.

Similmente, l'analisi per sottogruppi sul colesterolo totale ha suggerito una riduzione dell'eterogeneità legata soprattutto al dosaggio di statina somministrata (2 mg di statine, SMD -3.32 (IC95% -4.63, 2.02, 1 studio); 40 mg di statine: SMD -3.48 (IC95% (-5.35, -1.62), 4 studi). A causa del ridotto numero di studi, non sono state eseguite analisi di sottogruppo per gli altri indici con elevata eterogeneità.

I risultati mostrano differenze statisticamente significative nei parametri immunitari solo per i linfociti T CD4+ e CD8+CD38+HLA-DR+; questi dati potrebbero essere spiegati come associati a una attivazione immunitaria indotta da

HIV-1 anche in presenza di un buon controllo dell'infezione con la terapia ARV (59).

Ciò comunque va interpretato nel contesto della nota attività immunomodulante delle statine: è stato dimostrato come esse inibiscono direttamente l'attivazione dei linfociti T mediata da MHC-II (60), oltre ad inibire il pathway di NF-kB e stimolare la produzione di ossido nitrico mediante induzione della ossido nitrico sintetasi (35).

Infine, la riduzione significativa dei livelli di colesterolo totale osservata, indipendentemente dal tipo di statina, conferma l'efficacia di questi farmaci nei PLWH e permette di concentrarsi sugli aspetti di sicurezza nella scelta della molecola. Infatti, alcune alternative come pitavastatina e fluvastatina presentano un minor rischio di interazioni farmacologiche in quanto metabolizzate dal citocromo CYP2C9, e non risentono quindi dell'inibizione del citocromo CYP3A4 mediata ad esempio dai PI. Similmente, sebbene la scelta della terapia antiretrovirale non debba essere guidata primariamente dal rischio di interazioni farmacologiche, è importante ricordare che per alcune classi, come gli INSTI o gli inibitori della fusione, non sono state riportate interazioni clinicamente significative con l'assunzione di statine (61). Tali aspetti sono da tenere in considerazione in quanto è stata riportata una gestione subottimale delle interazioni farmacologiche associate all'uso di statine, con rischio di ridotta esposizione, in quasi un terzo delle prescrizioni effettuate nelle PLWH (62).

Conclusioni

In conclusione, l'aumentato rischio di eventi cardiovascolari descritto nelle PLWH necessita di un approccio di tipo multidisciplinare, tenendo in opportuna considerazione i diversi fattori coinvolti in questo tipo di co-morbidità. La gestione della dislipidemia in questo contesto, rappresenta un momento fondamentale nella prevenzione del rischio CV e deve essere affronta-

M. Ridolfi, G. Gazzaniga, A. Lazzaro, et al.

ta in modo collegiale, con gli strumenti adeguati e “sartorializzati” sul singolo paziente considerando anche la storia terapeutica del paziente, i farmaci antiretrovirali utilizzati ed i trattamenti per le eventuali altre co-morbidità presenti. Le linee guida, sia HIV-1 specifiche sia quelle utilizzate nella popolazione generale, rappresentano un valido ed aggiornato strumento da considerare al riguardo. Certamente l'utilizzazione delle statine nella pratica clinica è di importanza

fondamentale, una volta ottenuta un'adeguata stratificazione del rischio CV, non solo per il loro effetto ipolipemizzante diretto, ma anche per il dimostrato impatto sui meccanismi dell'immuno-attivazione e sull'infiammazione cronica presente nella malattia da HIV-1.

Finanziamenti

Progetti Medi di Ateneo 2019 (Prof. Ivano Mezzaroma).

RIASSUNTO

L'infezione da HIV-1, grazie allo sviluppo della terapia antiretrovirale, oggi si è trasformata in una patologia di tipo cronico e le persone affette presentano un'aspettativa di vita pressoché sovrapponibile alla popolazione non infetta. Questo ha comportato l'osservazione di numerose co-morbidità associate all'infezione, prima tra tutte la maggiore incidenza di eventi cardiovascolari. A questo proposito la dislipidemia rappresenta uno dei principali fattori di rischio, con una patogenesi multifattoriale. La sua prevenzione e/o il suo trattamento rappresentano una delle maggiori sfide per garantire una salute ottimale alle persone con infezione da HIV-1. Le principali linee guida per la gestione della terapia antiretrovirale, mutuando quanto già indicato nella popolazione generale dalle diverse Società di Cardiologia internazionali, danno indicazioni precise sulla prevenzione e il trattamento di questa co-morbidità, sottolineando il ruolo centrale della terapia con le statine. Questa classe di farmaci, oltre all'effetto ipolipemizzante, esercita numerosi effetti sui tessuti vascolari e sulle cellule ematiche. A livello endoteliale per esempio le statine mostrano un'azione antinfiammatoria, ed esercitano una azione immunomodulante a livello monocito-macrofagico e sui linfociti. Tali attività hanno suggerito potenziali differenti usi della terapia con statine oltre al trattamento delle dislipidemie, come ad esempio nel setting di malattie autoimmuni o infiammatorie e nella infezione da HIV-1.

Parole chiave: *HIV-1, dislipidemia, statine, terapia antiretrovirale, immuno-attivazione, infiammazione cronica.*

Bibliografia

1. Zhu S, Wang W, He J, Duan W, Ma X, Guan H, et al. Higher cardiovascular disease risks in people living with HIV: A systematic review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2024; 14: 04078.
2. Gelpi M, Afzal S, Lundgren J, Ronit A, Roen A, Mocroft A, et al. Higher Risk of Abdominal Obesity, Elevated Low-Density Lipoprotein Cholesterol, and Hypertriglyceridemia, but not of Hypertension, in People Living With Human Immunodeficiency Virus (HIV): Results From the Copenhagen Comorbidity in HIV Infection Study. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018; 67 (4): 579-586.
3. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Shigenaga JK, Jensen P, Feingold KR. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1992; 74 (5): 1045-1052.
4. Mujawar Z, Rose H, Morrow MP, Pushkarsky T, Dubrovsky L, Mukhamedova N, et al. Human immunodeficiency virus impairs reverse cholesterol transport from macrophages. *PLoS Biol*. 2006; 4(11): e365.
5. Husain NE, Ahmed MH. Managing dyslipidemia in HIV/AIDS patients: challenges and solutions. *HIV AIDS (Auckl)*. 2015; 7: 1-10.
6. Rosenson RS, Colantonio LD, Burkholder GA, Chen L, Muntner P. Trends in Utilization of Statin Therapy and Contraindicated Statin Use in HIV-Infected Adults Treated With Antiretroviral Therapy From 2007 Through 2015. *Journal of the American Heart Association*. 2018; 7 (24): e010345.
7. Ambrosioni J, Levi L, Alagaratnam J, Van Bremen K, Mastrangelo A, Waalewijn H, et al. Major revision version 12.0 of the European AIDS Clinical Society guidelines 2023. *HIV medicine*. 2023; 24(11): 1126-1136.
8. Dube M, Fenton M. Lipid abnormalities. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2003; 36 (Suppl 2): S79-83.

Dislipidemia e statine in pazienti con infezione da HIV-1

9. Pujari SN, Dravid A, Naik E, Bhagat S, Tash K, Nadler JP, et al. Lipodystrophy and dyslipidemia among patients taking first-line, World Health Organization-recommended highly active antiretroviral therapy regimens in Western India. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2005; 39 (2): 199-202.
10. Fontas E, van Leth F, Sabin CA, Friis-Moller N, Rickenbach M, d'Arminio Monforte A, et al. Lipid profiles in HIV-infected patients receiving combination antiretroviral therapy: are different antiretroviral drugs associated with different lipid profiles? *The Journal of infectious diseases*. 2004; 189 (6): 1056-1074.
11. Mills AM, Nelson M, Jayaweera D, Ruxrungtham K, Cassetti I, Girard PM, et al. Once-daily darunavir/ritonavir vs. lopinavir/ritonavir in treatment-naïve, HIV-1-infected patients: 96-week analysis. *Aids*. 2009; 23 (13): 1679-1688.
12. Ofotokun I, Na LH, Landovitz RJ, Ribaud HJ, McCoskey GA, Godfrey C, et al. Comparison of the metabolic effects of ritonavir-boosted darunavir or atazanavir versus raltegravir, and the impact of ritonavir plasma exposure: ACTG 5257. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2015; 60 (12): 1842-1851.
13. Caramelli B, de Bernoche CY, Sartori AM, Sposito AC, Santos RD, Monachini MC, et al. Hyperlipidemia related to the use of HIV-protease inhibitors: natural history and results of treatment with fenofibrate. *Braz J Infect Dis*. 2001; 5 (6): 332-338.
14. Gandhi RT, Bedimo R, Hoy JF, Landovitz RJ, Smith DM, Eaton EF, et al. Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults: 2022 Recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *JAMA: the journal of the American Medical Association*. 2023; 329 (1): 63-84.
15. Byonanebye DM, Polizzotto MN, Maltez F, Rauch A, Grabmeier-Pfistershammer K, Wit F, et al. Associations between change in BMI and the risk of hypertension and dyslipidaemia in people receiving integrase strand-transfer inhibitors, tenofovir alafenamide, or both compared with other contemporary antiretroviral regimens: a multicentre, prospective observational study from the RESPOND consortium cohorts. *Lancet HIV*. 2024; 11 (5): e321-e332.
16. Sax PE, Zolopa A, Brar I, Elion R, Ortiz R, Post F, et al. Tenofovir alafenamide vs. tenofovir disoproxil fumarate in single tablet regimens for initial HIV-1 therapy: a randomized phase 2 study. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*. 2014; 67 (1): 52-58.
17. Gomez M, Seybold U, Roeder J, Harter G, Bogner JR. A retrospective analysis of weight changes in HIV-positive patients switching from a tenofovir disoproxil fumarate (TDF)- to a tenofovir alafenamide fumarate (TAF)-containing treatment regimen in one German university hospital in 2015-2017. *Infection*. 2019; 47 (1): 95-102.
18. Kauppinen KJ, Aho I, Sutinen J. Switching from tenofovir alafenamide to tenofovir disoproxil fumarate improves lipid profile and protects from weight gain. *Aids*. 2022; 36 (10): 1337-1344.
19. Perna A, Carleo MA, Mascolo S, Guida A, Contieri M, Sellitto C, et al. Adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells under tenofovir alafenamide, tenofovir disoproxil fumarate, and integrase strand transfer inhibitors selective challenge: an in-vitro model. *Aids*. 2023; 37 (4): 561-570.
20. Crane HM, Grunfeld C, Willig JH, Mugavero MJ, Van Rompaey S, Moore R, et al. Impact of NRTIs on lipid levels among a large HIV-infected cohort initiating antiretroviral therapy in clinical care. *Aids*. 2011; 25 (2): 185-195.
21. Campo R, DeJesus E, Bredeek UF, Henry K, Khanlou H, Logue K, et al. SWIFT: prospective 48-week study to evaluate efficacy and safety of switching to emtricitabine/tenofovir from lamivudine/abacavir in virologically suppressed HIV-1 infected patients on a boosted protease inhibitor containing antiretroviral regimen. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2013; 56 (11): 1637-1645.
22. Santos JR, Saumoy M, Curran A, Bravo I, Llibre JM, Navarro J, et al. The lipid-lowering effect of tenofovir/emtricitabine: a randomized, crossover, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2015; 61 (3): 403-408.
23. Tungsiripat M, Kitch D, Glesby MJ, Gupta SK, Mellors JW, Moran L, et al. A pilot study to determine the impact on dyslipidemia of adding tenofovir to stable background antiretroviral therapy: ACTG 5206. *Aids*. 2010; 24 (11): 1781-1784.
24. Raffi F, Rachlis A, Stellbrink HJ, Hardy WD, Torti C, Orkin C, et al. Once-daily dolutegravir versus raltegravir in antiretroviral-naïve adults with HIV-1 infection: 48 week results from the randomised, double-blind, non-inferiority SPRING-2 study. *Lancet*. 2013; 381 (9868): 735-743.
25. Gallant J, Lazzarin A, Mills A, Orkin C, Podzamczar D, Tebas P, et al. Bictegravir, emtricitabine, and tenofovir alafenamide versus dolutegravir, abacavir, and lamivudine for initial treatment of HIV-1 infection (GS-US-380-1489): a double-blind, multicentre, phase 3, randomised controlled non-inferiority trial. *Lancet*. 2017; 390 (10107): 2063-2072.
26. Orkin C, Molina JM, Cahn P, Lombaard J, Supparatpinyo K, Kumar S, et al. Safety and efficacy of doravirine as first-line therapy in adults with HIV-1: week 192 results from the open-label extensions of the DRIVE-FORWARD and DRIVE-AHEAD phase 3 trials. *Lancet HIV*. 2024; 11 (2): e75-e85.
27. 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. *European heart journal*. 2020; 41 (1): 111-188.
28. Grinspoon SK, Fitch KV, Zanni MV, Fichtenbaum CJ, Umbleja T, Aberg JA, et al. Pitavastatin to Prevent Cardiovascular Disease in HIV Infection. *The New England journal of medicine*. 2023; 389 (8): 687-699.
 29. Stone NJ, Robinson J, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Lloyd-Jones DM, Blum CB, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology* 2013.
 30. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies With the special contribution of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC). *European Heart Journal*. 2021; 42 (34): 3227-3337.
 31. Lu MT, Ribaldo H, Foldyna B, Zanni MV, Mayrhofer T, Karady J, et al. Effects of Pitavastatin on Coronary Artery Disease and Inflammatory Biomarkers in HIV: Mechanistic Substudy of the REPRIEVE Randomized Clinical Trial. *JAMA cardiology*. 2024; 9 (4): 323-334.
 32. Boccara F, Caramelli B, Calmy A, Kumar P, Lopez JAG, Bray S, et al. Long-term effects of evolocumab in participants with HIV and dyslipidemia: results from the open-label extension period. *Aids*. 2022; 36 (5): 675-682.
 33. Oesterle A, Laufs U, Liao JK. Pleiotropic Effects of Statins on the Cardiovascular System. *Circulation research*. 2017; 120 (1): 229-243.
 34. Koushki K, Shahbaz SK, Mashayekhi K, Sadeghi M, Zayeri ZD, Taba MY, et al. Anti-inflammatory Action of Statins in Cardiovascular Disease: the Role of Inflammasome and Toll-Like Receptor Pathways. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2021; 60 (2): 175-199.
 35. Mehraj V, Chen J, Routy JP. Effects of statins beyond lipid-lowering agents in ART-treated HIV infection. *Front Immunol*. 2024; 15: 1339338.
 36. Chamani S, Kooshkaki O, Moossavi M, Rastegar M, Soflaei SS, McCloskey AP, et al. The effects of statins on the function and differentiation of blood cells. *Arch Med Sci*. 2023; 19 (5): 1314-1326.
 37. Dehnavi S, Sohrabi N, Sadeghi M, Lansberg P, Banach M, Al-Rasadi K, et al. Statins and autoimmunity: State-of-the-art. *Pharmacol Ther*. 2020; 214: 107614.
 38. Merx MW, Liehn EA, Graf J, van de Sandt A, Schaltenbrand M, Schrader J, et al. Statin treatment after onset of sepsis in a murine model improves survival. *Circulation*. 2005; 112 (1): 117-124.
 39. Mazzuti L, Turriziani O, Mezzaroma I. The Many Faces of Immune Activation in HIV-1 Infection: A Multifactorial Interconnection. *Biomedicines*. 2023; 11 (1).
 40. 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.
 41. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002; 105 (9): 1135-1143.
 42. Jain MK, Ridker PM. Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nature reviews Drug discovery*. 2005; 4 (12): 977-987.
 43. Mihos CG, Pineda AM, Santana O. Cardiovascular effects of statins, beyond lipid-lowering properties. *Pharmacological research*. 2014; 88: 12-19.
 44. Ota H, Eto M, Kano MR, Kahyo T, Setou M, Ogawa S, et al. Induction of endothelial nitric oxide synthase, SIRT1, and catalase by statins inhibits endothelial senescence through the Akt pathway. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010; 30 (11): 2205-2211.
 45. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, et al. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *The New England journal of medicine*. 2001; 344 (26): 1959-1965.
 46. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, et al. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet (London, England)*. 2009; 373 (9670): 1175-1182.
 47. Mabhida SE, McHiza ZJ, Mokgalaboni K, Hanser S, Choshi J, Mokoena H, et al. High-sensitivity C-reactive protein among people living with HIV on highly active antiretroviral therapy: a systemic review and meta-analysis. *BMC infectious diseases*. 2024; 24 (1): 160.
 48. Vos AG, Idris NS, Barth RE, Klipstein-Grobusch K, Grobbee DE. Pro-Inflammatory Markers in Relation to Cardiovascular Disease in HIV Infection. A Systematic Review. *PloS one*. 2016; 11 (1): e0147484.
 49. Moore RD, Bartlett JG, Gallant JE. Association between use of HMG CoA reductase inhibitors and mortality in HIV-infected patients. *PloS one*. 2011; 6 (7): e21843.
 50. Longenecker CT, Sattar A, Gilkeson R, McComsey GA. Rosuvastatin slows progression of subclinical atherosclerosis in patients with treated HIV infection. *AIDS (London, England)*. 2016; 30 (14): 2195-2203.
 51. Sandler NG, Wand H, Roque A, Law M, Nason MC, Nixon DE, et al. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *The Journal of infectious diseases*. 2011; 203 (6): 780-790.

Dislipidemia e statine in pazienti con infezione da HIV-1

52. Calza L, Vanino E, Salvadori C, Manfredi R, Colangeli V, Cascavilla A, et al. Tenofovir/emtricitabine/efavirenz plus rosuvastatin decrease serum levels of inflammatory markers more than antiretroviral drugs alone in antiretroviral therapy-naïve HIV-infected patients. *HIV clinical trials*. 2014; 15 (1): 1-13.
53. Hussain SK, Golozar A, Widney DP, Rappocciolo G, Penugonda S, Bream JH, et al. Effect of Statin Use on Inflammation and Immune Activation Biomarkers in HIV-Infected Persons on Effective Antiretroviral Therapy. *AIDS research and human retroviruses*. 2021; 37 (5): 357-367.
54. Toribio M, Fitch KV, Sanchez L, Burdo TH, Williams KC, Sponseller CA, et al. Effects of pitavastatin and pravastatin on markers of immune activation and arterial inflammation in HIV. *AIDS (London, England)*. 2017; 31 (6): 797-806.
55. Overton ET, Sterrett S, Westfall AO, Kahan SM, Burkholder G, Zajac AJ, et al. Effects of atorvastatin and pravastatin on immune activation and T-cell function in antiretroviral therapy-suppressed HIV-1-infected patients. *AIDS (London, England)*. 2014; 28 (17): 2627-2631.
56. De Wit S, Delforge M, Necsoi CV, Clumeck N. Down-regulation of CD38 activation markers by atorvastatin in HIV patients with undetectable viral load. *AIDS (London, England)*. 2011; 25 (10): 1332-1333.
57. Liu Z, Cumberland WG, Hultin LE, Prince HE, Detels R, Giorgi JV. Elevated CD38 antigen expression on CD8+ T cells is a stronger marker for the risk of chronic HIV disease progression to AIDS and death in the Multicenter AIDS Cohort Study than CD4+ cell count, soluble immune activation markers, or combinations of HLA-DR and CD38 expression. *Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology: official publication of the International Retrovirology Association*. 1997; 16 (2): 83-92.
58. Mokgalaboni K, Phoswa WN, Yates S, Lebelo SL, Madiba S, Modjadji P. A Systematic Review and Meta-Analysis on the Impact of Statin Treatment in HIV Patients on Antiretroviral Therapy. *Int J Environ Res Public Health*. 2023; 20 (9).
59. Bourgeois C, Gorwood J, Olivo A, Le Pelletier L, Capeau J, Lambotte O, et al. Contribution of Adipose Tissue to the Chronic Immune Activation and Inflammation Associated With HIV Infection and Its Treatment. *Front Immunol*. 2021; 12: 670566.
60. Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, Mach F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. *Nature medicine*. 2000; 6 (12): 1399-1402.
61. Wiggins BS, Lamprecht DG, Jr., Page RL, 2nd, Saseen JJ. Recommendations for Managing Drug-Drug Interactions with Statins and HIV Medications. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2017; 17 (5): 375-389.
62. Courlet P, Livio F, Alves Saldanha S, Scherrer A, Battagay M, Cavassini M, et al. Real-life management of drug-drug interactions between antiretrovirals and statins. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2020; 75 (7): 1972-1980.

MECCANISMI DI MALATTIA

VESCICOLE EXTRACELLULARI NEL CONTESTO DELL'ATEROSCLEROSI

Extracellular vesicles in atherothrombosis

MASSIMILIANO RUSCICA^{1,2}, ALESSANDRA STEFANIA RIZZUTO³, CHIARA MACCHI²,
ISABELLA FICHTNER², STEFANO CARUGO^{1,3}, ALBERTO CORSINI²

¹Department of Cardio-Thoracic-Vascular Diseases - Foundation IRCCS Ca' Granda Ospedale
Maggiore Policlinico, Milan, Italy;

²Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences "Rodolfo Paoletti",
University of Milan, Italy;

³Department of Clinical Sciences and Community Health, Università degli Studi di Milano, Italy

SUMMARY

Extracellular vesicles (EVs) are a heterogeneous group of nanoparticles released by almost all cell types into most biological fluids, under both physiological and pathological conditions. Given their ability of transporting molecular content (including proteins, nucleic acids, lipids, and even whole and/or fragmented organelles) from a donor cell to a recipient cell, EVs not only play a key role in paracrine and endocrine intercellular communication, but also represent an important source of molecular information that would otherwise be difficult to obtain. These characteristics render EVs particularly interesting in the context of the pathophysiological processes of cardiovascular diseases. Indeed, numerous studies demonstrate how significant alterations of certain EV aspects, such as circulating concentration, size, and protein content, associate with specific features of disease, including, for example, severity. Consequently, EVs yield significant clinical potential as tools that may assist on a molecular level in the diagnosis and monitoring of various diseases. In addition to their potential diagnostic role, EVs also represent promising fingerprints in the clinical setting from a prognostic point of view. By monitoring the phenotypic characteristics of EVs, it is possible to assess the onset and progression of certain 'silent' diseases, such as for instance atherosclerosis. In certain cardiovascular settings, EVs also play regenerative and reparative roles. Extensive further studies and development of new technologies will be essential to establish EVs as practical tools for a routinely diagnostic clinical use.

Keywords: *Extracellular vesicles, atherosclerosis, PCSK9.*

Indirizzo per la corrispondenza

Massimiliano Ruscica
massimiliano.ruscica@unimi.it

Le vescicole extracellulari

Le vescicole extracellulari (VEs) sono una popolazione eterogenea di nano-particelle, con dimensioni comprese tra 50 e 1000 nm, delimitate da un doppio strato fosfolipidico e prive di nucleo. Si trovano nei fluidi biologici (sangue, urina, saliva, latte materno) e vengono rilasciate da parte di quasi tutti i tipi cellulari. Originariamente, si credeva che queste nanoparticelle fossero esclusivamente un mezzo utilizzato dalle cellule per eliminare i loro 'rifiuti molecolari', tuttavia ad oggi è ampiamente riconosciuto il loro ruolo in una vasta gamma di processi fisiologici e patologici. Le VEs svolgono un ruolo fondamentale nella comunicazione intercellulare grazie alla capacità di trasferire il loro contenuto molecolare (tra cui proteine, acidi nucleici, lipidi, e persino organuli interi e/o frammentati) da una cellula donatrice a una ricevente (1). Con la pubblicazione nel 2023 delle linee guida dell'International Society of Extracellular Vesicles, si raccomanda di adottare con cautela la suddivisione delle VEs in diverse sottoclassi, basate su specifiche caratteristiche, come la dimensione, la modalità di rilascio e il contenuto molecolare. L'utilizzo di "termini tecnici", come VEs "piccole" e "grandi", dovrebbe avvenire solo se supportato da prove sperimentali che dimostrino effettivamente le dimensioni. Ad esempio, le VEs "piccole" hanno dimensioni inferiori a 100 o 200 nm, mentre le "grandi" superano i 200 nm di diametro. Quindi con la nuova nomenclatura è sconsigliato utilizzare la dicitura "esosomi", che identificava le VEs in base alle ridotte dimensioni (circa 40 nm - 160 nm) e alla modalità di rilascio (da parte di corpi multivescicolari). Allo stesso tempo è da evitare la definizione di 'microvescicola', che era invece il termine utilizzato per definire le VEs rilasciate per gemmazione da parte della membrana plasmatica, e caratterizzate da dimensioni comprese tra gli 0,1 μ m e 1 μ m. Questo cambiamento è dovuto a una sovrapposizione

dimensionale tra le due popolazioni, insieme alla mancanza di marcatori specifici in grado di distinguere le vie di rilascio (2).

Le VEs trasportano al loro interno un carico ricco di informazioni biologiche che riflettono lo stato fisiologico o patologico della cellula da cui originano. Questa caratteristica le rende importanti strumenti per la diagnosi e il monitoraggio di diverse patologie, fornendo una misura indiretta dello stato di salute dei tessuti e degli organi. Un'altra caratteristica delle VEs è la stabilità del loro contenuto molecolare. Il loro lume idrofilo, racchiuso da un doppio strato fosfolipidico, protegge il carico biomolecolare dalla degradazione enzimatica, soprattutto a livello circolatorio, garantendone la stabilità nel tempo. La quantità e la composizione del contenuto biomolecolare delle VEs sono influenzate dalle condizioni delle cellule che le rilasciano e dagli stimoli che ne regolano il rilascio, che possono essere di natura fisiologica e/o patologica (3). Tra le numerose molecole bioattive trasportate dalle VEs, i microRNA (miRNA) sono quelli più studiati, soprattutto nell'ambito delle biopsie liquide. Nonostante le concentrazioni dei miRNA all'interno delle VEs siano basse, sembrerebbe siano sufficienti a influenzare determinate vie cellulari. Questo concetto diventa rilevante se si considera l'associazione tra i pattern di espressione dei miRNA delle VEs e alcune patologie cardiache (4). Per esempio, nel contesto della fibrillazione atriale, è stato osservato che le VEs trasportano un contenuto alterato di RNA non codificante (ad esempio, i livelli di miR-210-3p e miR-324-3p, entrambi coinvolti nella fibrosi atriale, sono rispettivamente aumentati e ridotti in soggetti con fibrillazione atriale) (5). Per quanto riguarda il contenuto proteico delle VEs, che può risiedere all'interno del lume, esso svolge un ruolo funzionale e potenzialmente clinico. L'analisi dei profili proteici delle VEs, che fornisce informazioni sulla loro origine cellulare, è sempre più utilizzata per esplorare l'insor-

M. Ruscica, A.S. Rizzuto, C. Macchi, et al.

genza e la progressione delle malattie. Riflettendo i cambiamenti cellulari che avvengono in diverse fasi di una patologia, le proteine trasportate dalle VEs sostengono ulteriormente la plausibilità dell'utilizzo di queste particelle biologiche nel contesto clinico (6). La possibilità di caratterizzare il proteoma delle VEs è dovuta in gran parte alle recenti innovazioni nelle tecniche basate sulla spettrometria di massa, che consentono una fenotipizzazione sempre più approfondita del contenuto proteico delle VEs (7).

Le VEs sono composte da lipidi di membrana organizzati in una struttura a doppio strato fosfolipidico. Diversi studi hanno evidenziato il colesterolo come il lipide più abbondante nelle VEs, costituendo uno degli elementi principali della membrana sia esterna che interna. Anche la fosfatidilserina è stata identificata come un lipide tipicamente ritrovato nella struttura delle VEs, in particolare con un ruolo funzionale nei meccanismi di segnalazione.

Inoltre, le VEs sono arricchite di diverse specie lipidiche bioattive contenute nel loro lume vescicolare (8).

Come descritto in precedenza, le VEs vengono rilasciate nella maggior parte dei fluidi biologici da parte di tutti i tipi cellulari. Questo aspetto rende le VEs degli strumenti accessibili in grado di fornire informazioni di tipo molecolare inerenti distretti tissutali e organi che potrebbero risultare difficili da ottenere senza ricorrere a procedure invasive come la biopsia. Tuttavia, l'applicazione clinica delle VEs è stata ostacolata principalmente a causa delle tecniche di isolamento che sono eterogenee, dispendiose, e che non consentono una purificazione totalmente priva di altri "contaminanti biologici", quali proteine sieriche o lipoproteine che spesso rappresentano elementi confondenti e non consentono una buona riproducibilità tra i diversi studi (9). Come riassunto in *Tabella 1*, l'isolamento delle VEs può essere condotto utilizzando diverse tecniche basate su proprietà

Tabella 1 - Principali metodiche per l'isolamento delle vescicole extracellulari.

Metodo di isolamento	Descrizione del metodo	Vantaggi e svantaggi
Ultracentrifugazione differenziale (10)	Metodo basato sulle differenze del coefficiente di sedimentazione delle particelle (che a sua volta dipende dalla dimensione e densità delle particelle).	Questo metodo ha il vantaggio di essere economico, tuttavia può comportare danni alle vescicole e la contaminazione da HDL.
Ultracentrifugazione a gradiente di densità (11)	Tecnica che separa le VEs in base alla loro densità, sfruttando gradienti di densità come sucrosio o iodixanolo.	È un metodo in grado di rimuovere contaminazioni proteiche dal preparato di VEs, tuttavia è una tecnica laboriosa e non garantisce l'assenza di contaminazione da lipoproteine.
Cromatografia (12)	Metodo che consiste nell'impiego di resine o colonne specifiche per separare le VEs in base alle loro dimensioni, carica o altre proprietà chimiche.	Questo metodo è caratterizzato da un'elevata efficienza e purezza, ma richiede attrezzature specializzate e comporta costi elevati.
Filtrazione (13)	Procedura di isolamento che implica il passaggio del campione attraverso filtri con pori di dimensioni specifiche per isolare le VEs in base alle loro dimensioni.	Tecnica semplice e rapida, tuttavia comporta il rischio di una bassa resa finale, senza garantire l'assenza da contaminazioni.
Immunoaffinità (14)	Metodo basato sulla formazione di un legame specifico tra gli antigeni presenti sulle VEs e degli anticorpi immobilizzati su una matrice solida.	Metodo altamente specifico che garantisce purezza delle VEs, tuttavia costoso e può comportare una bassa resa finale.

Vescicole extracellulari nel contesto dell'aterosclerosi

biofisiche e biochimiche delle VEs stesse, come dimensioni, densità ed esposizione di specifici antigeni. La scelta del metodo di isolamento dipende dalla fonte biologica delle VEs e dall'obiettivo dello studio, come l'analisi proteomica o genomica. Uno dei metodi più comuni di isolamento è l'ultracentrifugazione differenziale che, attraverso una serie di centrifugazioni a velocità crescente, separa le VEs in base alle loro dimensioni e densità (10). Un'altra tecnica è l'ultracentrifugazione a gradiente di densità, che sfrutta gradienti di densità come sucrosio o iodixanolo per separare le VEs in base alla loro densità. Questo metodo offre una migliore separazione e purezza delle VEs, ma richiede tempi più lunghi e attrezzature dedicate (11). Un ulteriore metodo è la cromatografia, che utilizza resine o colonne specifiche per separare le VEs in base alle loro dimensioni, carica o altre proprietà chimiche. Questo metodo è caratterizzato da un'elevata efficienza e purezza, ma richiede attrezzature specializzate e comporta costi elevati (12). La filtrazione è una procedura di isolamento che implica il passaggio del campione attraverso filtri con pori di dimensioni specifiche per isolare le VEs in base alle loro dimensioni. Questa tecnica è semplice e rapida, ma comporta il rischio di una bassa resa così come di contaminazioni (13). È possibile isolare le VEs per immunoaffinità, metodo che si basa sul legame specifico tra gli antigeni presenti sulle VEs e degli anticorpi immobilizzati su una matrice solida. È un metodo altamente specifico che garantisce purezza delle VEs, anche se risulta molto costoso e la concentrazione finale delle VEs potrebbe essere bassa (14).

Le vescicole extracellulari nel contesto delle malattie cardiovascolari a eziologia aterosclerotica

Il ruolo delle VEs nella comunicazione tra cellule, la loro capacità di trasportare molecole che riflettono il loro distretto di origine e il fatto

che le loro concentrazioni nei fluidi biologici siano il risultato di un equilibrio altamente controllato tra rilascio e assorbimento da parte delle cellule 'donatrici' e 'riceventi', sono tutte caratteristiche che rendono le VEs particolarmente interessanti nell'ambito dei processi fisiopatologici. Oltre al loro potenziale ruolo diagnostico, le VEs rappresentano strumenti promettenti in ambito clinico anche da un punto vista prognostico. Monitorando le caratteristiche fenotipiche delle VEs è possibile valutare l'insorgenza e la progressione di determinate patologie 'silenti', come ad esempio l'aterosclerosi (*Figura 1*). Questo processo è una malattia infiammatoria cronica caratterizzata dalla formazione di lesioni nella tonaca intima della parete arteriosa. Queste lesioni sono caratterizzate dall'accumulo e dalla trasformazione di lipidi e cellule di vario tipo (infiammatorie, muscolari, endoteliali), che contribuiscono alla progressione della patologia attraverso la creazione di una complessa rete di comunicazione intercel-

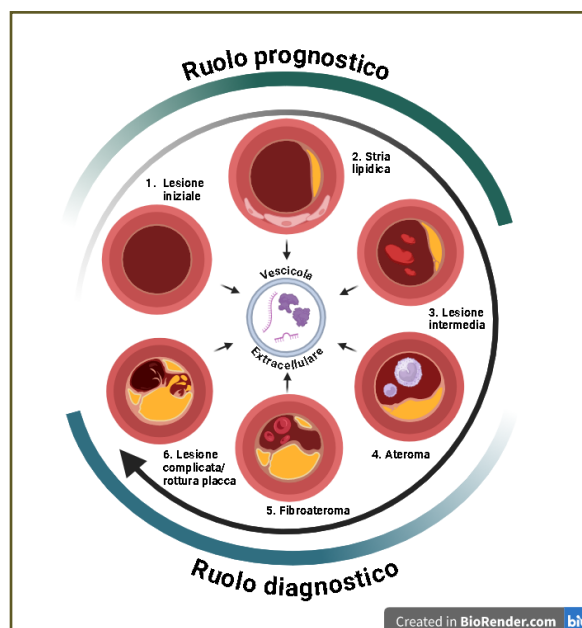


Figura 1 - Schema riassuntivo del possibile ruolo diagnostico e prognostico delle vescicole extracellulari nella progressione del processo aterosclerotico.

M. Ruscica, A.S. Rizzuto, C. Macchi, et al.

lulare (15). Infatti, le cellule all'interno della lesione influenzano altri tipi cellulari adiacenti in maniera paracrina, secernendo una vasta gamma di molecole bioattive, spesso attraverso le stesse VEs, aggravando ulteriormente il carico complessivo della lesione e portando a fenomeni quali disfunzione endoteliale, stress ossidativo e attivazione piastrinica (16, 17). Nonostante i progressi compiuti nel trattamento e gestione delle malattie cardiovascolari aterosclerotiche, grazie all'implementazione di misure preventive e terapie basate sui fattori di rischio, la stratificazione del rischio individuale rimane una sfida complessa. Con gli attuali modelli di stratificazione, l'elevata eterogeneità dei fenotipi e del rischio residuo tra i pazienti rende difficile una valutazione accurata del rischio cardiovascolare (18). Pertanto, vi è la necessità di nuovi marcatori che riflettano il reale "burden" delle malattie cardiovascolari aterosclerotiche e che aiutino a spiegare la fisiopatologia di tale contesto clinico.

Ad esempio, sono state osservate associazioni tra i livelli circolanti di VEs e l'entità delle lesioni angiografiche e della calcificazione vascolare (19). In pazienti con sindrome coronarica acuta è stato riscontrato un aumento di determinate 'sottopopolazioni' di VEs circolanti rispetto a soggetti sani; tali cambiamenti si associavano con la rottura della placca aterosclerotica (20, 21). In pazienti che sono stati sottoposti a intervento coronarico percutaneo primario (pPCI), in seguito a infarto miocardico di tipo STEMI (sopra-slivellamento del tratto ST), si è osservato un aumento del rilascio di VEs di derivazione eritrocitaria. Ciò sostiene il possibile ruolo delle VEs di derivazione eritrocitaria come marcatori acuti di trombosi. Da un punto di vista meccanicistico, altre sottopopolazioni di VEs circolanti e il loro stato di attivazione sono stati analizzati durante l'evoluzione temporale dello STEMI. In particolare, nelle 72 ore post-STEMI si osserva un aumento delle concentrazioni di VEs di derivazione leucocitari, a riflettere l'accezione infiammato-

ria di questo quadro clinico (22, 23). In pazienti STEMI è stato inoltre osservato che, rispetto a pazienti con sindrome coronarica cronica, vi sono delle differenze significative in termini di numero di VEs, dimensione e contenuto proteico, con un'incrementata espressione delle proteine GPIIb e le caderine, sottolineando la presenza di una iper-reattività piastrinica e di una disfunzione endoteliale (24).

Da un punto vista prognostico, la valutazione dello stato della parete vascolare attraverso le VEs potrebbe costituire una strategia nella prevenzione primaria della malattia aterosclerotica vascolare in pazienti asintomatici con aterosclerosi subclinica. Ad esempio, le VEs rilasciate dalle cellule endoteliali riflettono, attraverso la loro composizione molecolare, la presenza di una disfunzione endoteliale, evento decisivo nell'insorgenza dell'aterosclerosi. Difatti è stata osservata un'alterazione significativa nella concentrazione di VEs derivate da cellule endoteliali e da leucociti in un gruppo di pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare (FH), nonostante questi fossero asintomatici e sottoposti a terapia ipolipemizzante. Gli stessi pazienti presentavano anche delle placche aterosclerotiche ricche di contenuto lipidico (25). Pazienti ad alto rischio di eventi cardiovascolari con aterosclerosi sub-clinica mostrano un elevato numero di VEs circolanti rilasciate da piastrine che trasportavano marcatori di attivazione piastrinica e del fattore tissutale. L'analisi di questo 'sottotipo' di VEs può migliorare l'accuratezza dei modelli di valutazione di rischio cardiovascolare nell'ambito dello studio dell'aterosclerosi subclinica (26). Pertanto, un aumentato livello circolante di VEs rilasciate da cellule infiammatorie e da piastrine può rappresentare un indicatore notevole di rischio aterosclerotico, confermando anche l'interazione tra infiammazione e trombosi. In un ulteriore studio, in pazienti con cardiopatia coronarica sottoposti a intervento di bypass aorto-coronarico, è stato valutato il profilo preoperatorio delle VEs circolanti in termini di numero, origi-

ne cellulare e fenotipo procoagulante. È emerso come il pattern preoperatorio delle VEs fosse stato un predittore indipendente di occlusione del graft nei pazienti sottoposti a bypass aorto-coronarico e che uno score cumulativo di VEs fosse stato in grado di stratificare tale rischio negli stessi pazienti. In questo caso specifico, poiché il profilo delle VEs rifletteva un'attivazione piastrinica in corso, si presuppone che i pazienti con uno score elevato di VEs avrebbero potuto beneficiare di una terapia antiplastrinica personalizzata (27).

Nell'ambito della relazione tra VEs e meccanismi correlati allo sviluppo e progressione dell'aterosclerosi, la proproteina convertasi subtilisina/kexina di tipo 9 (PCSK9) ricopre un ruolo non secondario. Infatti, tralasciando il ben noto ruolo di PCSK9 quale principale regolatore della colesterolemia LDL, la proteina PCSK9 è implicata anche in modo diretto nello sviluppo della placca aterosclerotica. PCSK9 può favorire direttamente il processo infiammatorio nelle lesioni aterosclerotiche, promuovendo l'infiltrazione di monociti nella placca e favorendo i macrofagi a secernere citochine infiammatorie (28). Da un punto di vista molecolare, nelle cellule dendritiche della placca, PCSK9 regola l'espressione del miR-27a che è coinvolto nel metabolismo dei lipidi (29). Uno studio epidemiologico condotto su 936 soggetti affetti da obesità (Indice di Massa Corporea = $33,3 \pm 5,6$ Kg/m²) e lieve ipercolesterolemia (LDL = $131,6 \pm 36,4$ mg/dL) ha dimostrato come la proteina PCSK9 potesse favorire non solo il rilascio di VEs derivate da componenti aterosclerotiche (come piastrine, endotelio, monociti/macrociti e neutrofili), ma anche di VEs arricchite in miRNA correlati al processo aterosclerotico (hsa-miR-362, hsa-miR-150, hsa-miR-1244, hsa-miR-520b-3p e hsa-miR-638). In particolare, grazie all'utilizzo di un diagramma di Venn è stato possibile identificare come potenzialmente questi miRNA fossero in grado di regolare l'espressione genica del recettore delle LDL, del toll-like receptor 4 (TLR4) e il recet-

tore degli estrogeni, tutte componenti correlate al processo aterosclerotico (30).

In uno studio meccanicistico effettuato *in vitro* su alcuni elementi chiave nell'ambito della fisiopatologia dell'aterosclerosi, è stato dimostrato come le VEs rilasciate da cellule muscolari lisce vascolari (VSMC) sovra-esprimenti PCSK9 (VSMC^{PCSK9}) fossero in grado di influenzare le cellule riceventi (endoteliali, monociti e macrofagi) inducendo un fenotipo 'pro-aterogeno'. Infatti, le VEs rilasciate dalle VSMC^{PCSK9}, rispetto a quelle rilasciate dalle VSMC native, quando utilizzate per trattare le cellule riceventi, favorivano un aumento della produzione di molecole di adesione, nelle cellule endoteliali, di citochine pro-infiammatorie, nei monociti e un'aumentata capacità di captare particelle di LDL ossidate nei macrofagi (31) (Figura 2).

In tale ambito è importante non solo sottolineare l'effetto diretto protrombotico di PCSK9 a livello piastrinico (32, 33), ma anche come il trattamento delle cellule mononucleate con PCSK9 avesse stimolato il rilascio di VEs con un fenotipo pro-coagulante (34).

L'interazione tra PCSK9 e VEs è stata studiata anche a livello della calcificazione delle cellule muscolari lisce. Per raggiungere tale obiettivo, sono stati utilizzati sia un modello murino (ratti iperuremici) che uno *in vitro* (VSMC^{PCSK9}). Nonostante le concentrazioni intracellulari di PCSK9 svolgano un'azione diretta sulla calcificazione vascolare, è stato anche osservato che, in condizioni di elevate concentrazioni di fosfato, una condizione che mima una situazione di calcificazione, le VSMC^{PCSK9} tendevano a rilasciare un'aumentata quantità di VEs, eterogenee nella loro origine e composizione. In aggiunta, queste VEs trasportavano al loro interno un'aumentata quantità di calcio e fosfatasi alcalina, fattori che contribuiscono ulteriormente al fenomeno di calcificazione (35).

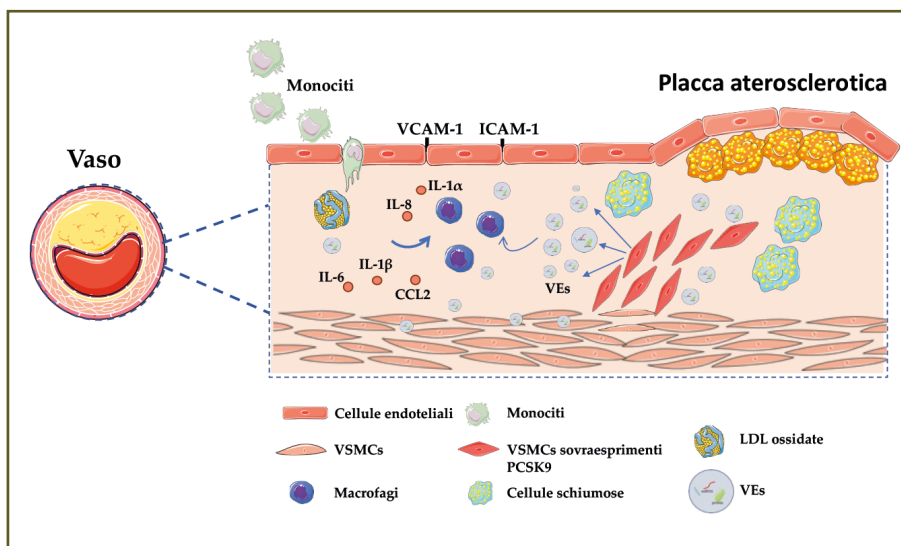
Infine, non va trascurato il concetto che le VEs svolgono anche ruoli rigenerativi e riparatori nel contesto cardiovascolare. Il tessuto adi-

M. Ruscica, A.S. Rizzuto, C. Macchi, et al.

Figura 2

Rappresentazione schematica di un possibile ruolo delle vescicole extracellulari nei processi molecolari dell'aterosclerosi.

Legenda. La sovraespressione della proteina convertasi subtilisina/kexina di tipo 9 (PCSK9) nelle cellule muscolari lisce (VSMC) favorisce il rilascio di vescicole extracellulari in grado di aumentare i processi infiammatori a livello delle componenti cellulari della placca aterosclerotica.



poso epicardico (EAT) funge da fonte di cellule stromali mesenchimali, una popolazione di cellule progenitrici multipotenti che promuovono la rigenerazione cardiaca in seguito a danno ischemico (36). In un modello di ratto soggetto a danno ischemico seguito da riperfusione, sono state somministrate VEs isolate da cellule stromali mesenchimali adipose. Questa somministrazione ha determinato una riduzione significativa della dimensione dell'infarto del miocardio, insieme a una diminuzione dei livelli circolanti di troponina cardiaca I e lattato deidrogenasi (37). Inoltre, nel contesto di un danno ischemico, è stato osservato che le VEs rilasciate dalle cellule staminali dell'EAT sono in grado di 'riprogrammare' i fibroblasti cardiaci maturi residenti, che subiscono uno 'switch' fenotipico verso quello di cardiomiociti, trasformandosi in elementi costituenti il miocardio stesso (38). L'EAT è fenotipicamente un tessuto adiposo bruno durante le prime fasi della vita e, nonostante aumenti la presenza di adipociti bianchi con l'età, tende a mantenere le caratteristiche brune. Le VEs derivate da questo EAT bruno svolgono un ruolo cruciale nella cardioprotezione. Veicolando al cuore i miRNA miR-125b-5p, miR-128-3p e miR-30d-5p, le VEs sono

in grado di sopprimere l'attivazione di vie proapoptotiche in un modello murino di lesione da ischemia/riperfusione del miocardio (39).

Conclusioni

Anche se molti passi devono ancora essere fatti al fine di superare i gap inerenti la standardizzazione nei metodi di isolamento e la caratterizzazione delle VEs, queste particelle emergono come promettenti biomarcatori di aterosclerosi subclinica e di malattia cardiovascolare a eziologia aterosclerotica. Infatti, nell'ambito della medicina di precisione, le VEs sono da considerarsi, a tutti gli effetti, delle "biopsie liquide". Nello specifico ambito cardiovascolare, le VEs non sono solo semplici indicatori di danno cellulare o indicatori di uno stato di malattia, ma sono anche da considerarsi effettori funzionali in alcuni processi alla base della progressione del processo aterosclerotico, quali l'infiammazione, la trombosi e la neoangiogenesi. Certamente per definire il collegamento tra le VEs e l'aterotrombosi sarà necessario implementare nuove tecnologie, come i modelli "vesSEL-on-chip", l'imaging in tempo reale e gli approcci omici.

Vescicole extracellulari nel contesto dell'aterosclerosi

RIASSUNTO

Le vescicole extracellulari (VEs) sono una popolazione eterogenea di nano-particelle rilasciate nella maggior parte dei fluidi biologici da quasi tutti i tipi cellulari, sia in condizioni fisiologiche che di malattia. Essendo in grado di trasportare un contenuto molecolare (tra cui proteine, acidi nucleici, e persino organuli interi e/o frammentati) da una cellula donatrice a una ricevente, le VEs non solo svolgono un ruolo fondamentale nella comunicazione paracrina ed endocrina tra cellule, ma rappresentano una fonte importante di informazioni di tipo molecolare. Queste caratteristiche rendono le VEs particolarmente interessanti nell'ambito dei processi fisiopatologici in ambito cardiovascolare. Difatti, alterazioni significative nella quantità, nella dimensione e nel contenuto proteico potrebbero associarsi con specifiche caratteristiche fisiopatologiche, tra cui, ad esempio, la severità del grado di danno endoteliale. Di conseguenza, le VEs godono di un potenziale clinico di notevole importanza e rappresentano un'impronta molecolare specifica utile sia in termini diagnostici che prognostici. Monitorando le caratteristiche delle VEs è possibile valutare l'insorgenza e l'andamento di determinate patologie 'silenti', come ad esempio l'aterosclerosi. In determinati contesti cardiovascolari, le VEs svolgono anche ruoli rigenerativi e riparatori. Ovviamente saranno necessari ulteriori studi e l'applicazione di nuove tecnologie per far sì che le VEs possano essere considerate veri e propri strumenti sia di diagnosi che di prognosi nell'ambito delle patologie a eziologia aterosclerotica.

Parole Chiave: *Vescicole extracellulari, aterosclerosi, PCSK9.*

Bibliografia

1. Yates AG, Pink RC, Erdbrügger U, et al. In sickness and in health: The functional role of extracellular vesicles in physiology and pathology in vivo: Part I: Health and Normal Physiology: Part I: Health and Normal Physiology. *J Extracell Vesicles*. 2022 Jan; 11 (1): e12151. doi: 10.1002/jev2.12151.
2. Welsh JA, Goberdhan DCI, O'Driscoll L, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *J Extracell Vesicles*. 2024 Feb; 13 (2): e12404. doi: 10.1002/jev2.12404. Erratum in: *J Extracell Vesicles*. 2024 May; 13 (5): e12451.
3. Badimon L, Suades R, Vilella-Figuerola A, et al. Liquid Biopsies: Microvesicles in Cardiovascular Disease. *Antioxid Redox Signal*. 2020 Sep 20; 33 (9): 645-662. doi: 10.1089/ars.2019.7922. Epub 2019 Dec 17.
4. O'Brien K, Breyne K, Ughetto S, et al. RNA delivery by extracellular vesicles in mammalian cells and its applications. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2020 Oct; 21 (10): 585-606. doi: 10.1038/s41580-020-0251-y. Epub 2020 May 26.
5. Limpitkul W.B., Garcia-Contreras M., and Das S. The emerging role of extracellular vesicle RNAs as mediators of cardiometabolic diseases: from pathophysiology to clinical Applications. *Current Opinion in Physiology* 2024, 40: 100764 doi: 10.1016/j.cophys.2024.100764. Epub 2024 May 31.
6. Kowal J, Arras G, Colombo M, et al. Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Feb 23; 113 (8): E968-77. doi: 10.1073/pnas.1521230113. Epub 2016 Feb 8.
7. Mallia A, Gianazza E, Zoanni B, et al. Proteomics of Extracellular Vesicles: Update on Their Composition, Biological Roles and Potential Use as Diagnostic Tools in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases. *Diagnostics (Basel)*. 2020 Oct 19; 10 (10): 843. doi: 10.3390/diagnostics10100843.
8. Pfrieger FW, Vitale N. Cholesterol and the journey of extracellular vesicles. *J Lipid Res*. 2018 Dec; 59 (12): 2255-2261. doi: 10.1194/jlr.R084210. Epub 2018 Apr 20.
9. Lozano-Andrés E, Enciso-Martínez A, Gijssbers A, et al. Physical association of low density lipoprotein particles and extracellular vesicles unveiled by single particle analysis. *J Extracell Vesicles*. 2023 Nov; 12 (11): e12376. doi: 10.1002/jev2.12376.
10. Momen-Heravi F, Balaj L, Alian S, et al. Current methods for the isolation of extracellular vesicles. *Biol Chem*. 2013 Oct; 394 (10): 1253-1262. doi: 10.1515/hsz-2013-0141.
11. Brennan K, Martin K, FitzGerald SP, et al. A comparison of methods for the isolation and separation of extracellular vesicles from protein and lipid particles in human serum. *Sci Rep*. 2020 Jan 23; 10 (1): 1039. doi: 10.1038/s41598-020-57497-7.
12. Monguió-Tortajada M, Gálvez-Montón C, Bayes-Genis A, et al. Extracellular vesicle isolation methods: rising impact of size-exclusion chromatography. *Cell Mol Life Sci*. 2019 Jun; 76(12):2369-2382. doi: 10.1007/s00018-019-03071-y. Epub 2019 Mar 19.
13. Liangsupree T, Multia E, Riekkola ML. Modern isolation and separation techniques for extracellular vesicles. *J Chromatogr A*. 2021 Jan 11;1636:461773. doi: 10.1016/j.chroma.2020.461773. Epub 2020 Dec 3. PMID: 33316564.

14. Oksvold MP, Neurauter A, Pedersen KW. Magnetic bead-based isolation of exosomes. *Methods Mol Biol.* 2015; 1218: 465-81. doi: 10.1007/978-1-4939-1538-5_27.
15. Björkegren JLM, Lusis AJ. Atherosclerosis: Recent developments. *Cell.* 2022 May 12; 185 (10): 1630-1645. doi: 10.1016/j.cell.2022.04.004. Epub 2022 May 2.
16. Davidson SM, Boulanger CM, Aikawa E, et al. Methods for the identification and characterization of extracellular vesicles in cardiovascular studies: from exosomes to microvesicles. *Cardiovasc Res.* 2023 Mar 17; 119 (1): 45-63. doi: 10.1093/cvr/cvac031.
17. Konkoth A, Saraswat R, Dubrou C, et al. Multifaceted role of extracellular vesicles in atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2021 Feb; 319: 121-131. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2020.11.006. Epub 2020 Nov 11.
18. Timmis A, Vardas P, Townsend N, et al. European Society of Cardiology: cardiovascular disease statistics 2021. *Eur Heart J.* 2022 Feb 22; 43 (8): 716-799. doi: 10.1093/eurheartj/ehab892. Erratum in: *Eur Heart J.* 2022 Feb 04.
19. Chiva-Blanch G, Padró T, Alonso R, et al. Liquid Biopsy of Extracellular Microvesicles Maps Coronary Calcification and Atherosclerotic Plaque in Asymptomatic Patients With Familial Hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2019 May; 39 (5): 945-955. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.312414.
20. Montoro-García S, Shantsila E, Tapp LD, et al. Small-size circulating microparticles in acute coronary syndromes: relevance to fibrinolytic status, reparative markers and outcomes. *Atherosclerosis.* 2013 Apr; 227(2):313-22. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.01.028. Epub 2013 Jan 29.
21. Badimon L, Padro T, Arderiu G, et al. Extracellular vesicles in atherothrombosis: From biomarkers and precision medicine to therapeutic targets. *Immunol Rev.* 2022 Nov; 312(1):6-19. doi: 10.1111/imr.13127. Epub 2022 Aug 22.
22. Suades R, Padró T, Vilahur G, et al. Growing thrombi release increased levels of CD235a(+) microparticles and decreased levels of activated platelet-derived microparticles. Validation in ST-elevation myocardial infarction patients. *J Thromb Haemost.* 2015 Oct; 13 (10): 1776-1786. doi: 10.1111/jth.13065. Epub 2015 Sep 2.
23. Suades R, Padró T, Crespo J, et al. Circulating micro-particle signature in coronary and peripheral blood of ST elevation myocardial infarction patients in relation to pain-to-PCI elapsed time. *Int J Cardiol.* 2016 Jan 1; 202: 378-387. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.09.011. Epub 2015 Sep 12.
24. Zarà M, Campodonico J, Cosentino N, et al. Plasma Exosome Profile in ST-Elevation Myocardial Infarction Patients with and without Out-of-Hospital Cardiac Arrest. *Int J Mol Sci.* 2021 Jul 28; 22 (15): 8065. doi: 10.3390/ijms22158065.
25. Caballero P, Alonso R, Rosado P, et al. Detection of subclinical atherosclerosis in familial hypercholesterolemia using non-invasive imaging modalities. *Atherosclerosis.* 2012 Jun; 222 (2): 468-472. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.02.043. Epub 2012 Mar 7.
26. Suades R, Padró T, Alonso R, et al. High levels of TSP1+/CD142+ platelet-derived microparticles characterise young patients with high cardiovascular risk and subclinical atherosclerosis. *Thromb Haemost.* 2015 Nov 25; 114 (6): 1310-1321. doi: 10.1160/TH15-04-0325. Epub 2015 Jul 16.
27. Camera M, Brambilla M, Canzano P, et al. Association of Microvesicles With Graft Patency in Patients Undergoing CABG Surgery. *J Am Coll Cardiol.* 2020 Jun 9; 75 (22): 2819-2832. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.073.
28. Macchi C, Ferri N, Sirtori CR, et al. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9: A View beyond the Canonical Cholesterol-Lowering Impact. *Am J Pathol.* 2021 Aug; 191 (8): 1385-1397. doi: 10.1016/j.ajpath.2021.04.016. Epub 2021 May 19.
29. Liu A, Frostegård J. PCSK9 plays a novel immunological role in oxidized LDL-induced dendritic cell maturation and activation of T cells from human blood and atherosclerotic plaque. *J Intern Med.* 2018 Apr 4. doi: 10.1111/joim.12758. Epub ahead of print.
30. Macchi C, Greco MF, Favero C, et al. Associations Among PCSK9 Levels, Atherosclerosis-Derived Extracellular Vesicles, and Their miRNA Content in Adults With Obesity. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Jan 7; 8: 785250. doi: 10.3389/fcvm.2021.785250.
31. Greco MF, Rizzuto AS, Zarà M, et al. PCSK9 Confers Inflammatory Properties to Extracellular Vesicles Released by Vascular Smooth Muscle Cells. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 28; 23 (21): 13065. doi: 10.3390/ijms232113065.
32. Camera M, Rossetti L, Barbieri SS, et al. PCSK9 as a Positive Modulator of Platelet Activation. *J Am Coll Cardiol.* 2018 Feb 27; 71 (8): 952-954. doi: 10.1016/j.jacc.2017.11.069.
33. Qi Z, Hu L, Zhang J, et al. PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9) Enhances Platelet Activation, Thrombosis, and Myocardial Infarct Expansion by Binding to Platelet CD36. *Circulation.* 2021 Jan 5; 143(1):45-61. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046290. Epub 2020 Sep 29. Erratum in: *Circulation.* 2021 Jan 5; 143 (1): e4. doi: 10.1161/CIR.0000000000000948.
34. Scalise V, Lombardi S, Sanguinetti C, et al. A novel prothrombotic role of proprotein convertase subtilisin kexin 9: the generation of procoagulant extracellular vesicles by human mononuclear cells. *Mol Biol Rep.* 2022 May; 49 (5): 4129-4134. doi: 10.1007/s11033-022-07433-x. Epub 2022 Apr 12.
35. Lupo MG, Bressan A, Donato M, et al. PCSK9 promotes arterial medial calcification. *Atherosclerosis.* 2022 Apr; 346: 86-97. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2022.01.015. Epub 2022 Jan 22.

Vescicole extracellulari nel contesto dell'aterosclerosi

36. Lambert C, Arderiu G, Bejar MT, et al. Stem cells from human cardiac adipose tissue depots show different gene expression and functional capacities. *Stem Cell Res Ther.* 2019 Nov 29; 10 (1): 361. doi: 10.1186/s13287-019-1460-1.
37. Cui X, He Z, Liang Z, et al. Exosomes From Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells Protect the Myocardium Against Ischemia/Reperfusion Injury Through Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2017 Oct; 70 (4): 225-231. doi: 10.1097/FJC.0000000000000507.
38. Thankam FG, Sedighim S, Kuan R, et al. Ischemia challenged epicardial adipose tissue stem cells-derived extracellular vesicles alter the gene expression of cardiac fibroblasts to cardiomyocyte like phenotype. *Transl Res.* 2023 Apr; 254: 54-67. doi: 10.1016/j.trsl.2022.10.004. Epub 2022 Oct 21.
39. Zhao H, Chen X, Hu G, et al. Small Extracellular Vesicles From Brown Adipose Tissue Mediate Exercise Cardioprotection. *Circ Res.* 2022 May 13; 130 (10): 1490-1506. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.320458. Epub 2022 Apr 7.

FISIOPATOLOGIA

I PRODOTTI DELLA GLICAZIONE AVANZATA (AGEs) COME PROMOTORI DI INSULINO RESISTENZA

Advanced Glycation End Products (AGEs) as drivers of insulin resistance

SHARON ANGELINI¹, FABIOLA CASTALDO¹, RICCARDO SPAGGIARI¹,
JUANA MARIA SANZ², DOMENICO SERGI¹, ANGELINA PASSARO¹

¹Department of Translational Medicine, University of Ferrara, Italy;

²Department of Chemical, Pharmaceutical and Agricultural Sciences, University of Ferrara, Italy

SUMMARY

Advanced Glycation End-products (AGEs) are a heterogeneous group of molecules, which arise from the non-enzymatic reaction between a reducing sugar and the free amino groups of proteins, lipids and nucleic acids. Although, AGEs can be formed endogenously, particularly in response to hyperglycaemia, they can also be consumed through the diet and absorbed in the gastrointestinal tract. Indeed, AGEs are produced via the Maillard reaction during food processing or cooking, particularly as a consequence of the exposure of foods rich in sugars, proteins and lipids to dry heat. Thus, these glycotoxins are typically abundant in the highly processed foods, which characterize the Western diet and may represent one of the mediators through which this dietary pattern exerts its detrimental effects on cardiometabolic health. In keeping with this, the consumption of AGEs has been associated with the development on insulin resistance in clinical trials and confirmed in cell models in which exposure to AGEs hampered insulin signaling. From a mechanistic perspective, the effects of AGEs on insulin resistance may rely on the activation of pro-inflammatory pathways and the induction of oxidative stress, with the activation of these mechanisms being triggered by the interaction between AGEs and their cognate receptor: the receptor for AGEs (RAGE). In spite of AGEs being associated with insulin resistance and being able to activate pathways known to hamper insulin signaling, their role in promoting insulin resistance remains controversial. In light of this, further studies are warranted in order to address the discrepancies between different studies on this topic. Nevertheless, despite these gaps in the literature, limiting the intake of AGEs, by lowering the consumption of highly processed foods, may still represent a promising nutritional strategy to improve insulin sensitivity and cardiometabolic health.

Key words: AGEs, insulin resistance, diet, highly processed foods.

Indirizzi per la corrispondenza

Domenico Sergi: domenico.sergi@unife.it
Angelina Passaro: angelina.passaro@unife.it

Qualità della dieta e salute metabolica

La qualità della dieta, determinata sia dall'introito calorico in relazione ai fabbisogni che dalla qualità dei nutrienti introdotti, gioca un ruolo fondamentale nel promuovere l'obesità e le comorbidità ad essa associate. In particolare, gli acidi grassi saturi a catena lunga (Long Chain Saturated Fatty Acids, LCSFA) e zuccheri raffinati abbondanti in alimenti altamente processati e tipici della Dieta Occidentale (Western Diet, WD), rappresentano i principali attori in grado di promuovere l'obesità e ledere la salute metabolica (1). A ulteriore supporto di ciò, questi nutrienti sono stati dimostrati essere in grado di compromettere il sistema neuroendocrino responsabile della regolazione dell'omeostasi energetica localizzato a livello ipotalamico (2) anche se questi aspetti sono stati prevalentemente investigati su modelli animali (3). Ciò nonostante, la dieta non rappresenta l'unica discriminante alla base dello sviluppo dell'obesità e del deterioramento della salute cardiometabolica. Infatti, anche l'inattività fisica contribuisce al bilancio energetico positivo a lungo termine che, a sua volta, rappresenta la base patogenetica dell'obesità (4).

L'obesità non va semplicemente considerata come un mero eccesso ponderale, ma l'eccessiva deposizione energetica sotto forma di trigliceridi a livello del tessuto adiposo, soprattutto a livello viscerale, costituisce un nesso patogenetico chiave tra l'obesità e le sue comorbidità incluso il diabete mellito di tipo 2 (Type 2 Diabetes, T2D) (5), le malattie cardiovascolari (6), la malattia epatica steatotica associata a disfunzione metabolica (Metabolic dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease, MASLD) (7), alcune tipologie di cancro (8) e, come emerso da recenti evidenze scientifiche, anche patologie neurodegenerative (9). Uno tra i principali fattori che sottende allo sviluppo delle comorbidità dell'obesità è l'insulino resistenza (10). L'insulino resistenza è definita come una ridotta capacità dei tessuti di rispondere agli effetti

metabolici di questo ormone e rappresenta la base patogenetica del T2D e della sindrome metabolica (11). Alla luce di ciò, l'insulino resistenza è un fattore cardine nel modulare il rischio cardiovascolare.

Come già accennato, il consumo di alimenti altamente processati e con elevata densità energetica, insieme all'inattività fisica non solo sono alla base della patogenesi dell'obesità, ma rappresentano anche gli elementi principali in grado di alterare la sensibilità insulinica e la salute cardiometabolica. A tal proposito, mentre la WD espleta effetti deleteri sulla salute cardiometabolica, la Dieta Mediterranea (Mediterranean Diet, MD) è stata ampiamente descritta per i suoi effetti positivi nel contrastare lo sviluppo delle patologie metaboliche e cardiovascolari. La MD prevede il consumo di alimenti di origine vegetale e di produzione locale, olio d'oliva come principale fonte di grassi, carboidrati complessi non raffinati e un ridotto consumo di carne rossa e processata sostituita da proteine vegetali e prodotti ittici. L'aderenza alla MD fornisce, inoltre, una combinazione di nutraceutici, come polifenoli e acidi grassi omega-3, che hanno dimostrato di avere proprietà benefiche sulla salute metabolica (12), in particolare mimano alcuni degli effetti della restrizione calorica con conseguente miglioramento della biogenesi mitocondriale e della loro capacità e riduzione dell'infiammazione cronica di basso grado (13). Al contrario, la WD è caratterizzata da un consumo eccessivo di cibi altamente processati, zuccheri raffinati (14) e LCSFA (15), che molti studi descrivono come i principali promotori di disfunzione del tessuto adiposo, infiammazione cronica di basso grado e resistenza insulinica. Mentre l'effetto di questi nutrienti sulla salute metabolica è stato ampiamente definito, gli alimenti altamente processati e tipici della WD contengono altre molecole in grado di espletare effetti deleteri sulla salute cardiometabolica. Tra questi vi è un gruppo di composti noto come prodotti finali della glicazione avanzata (Advanced Glyca-

S. Angelini, F. Castaldo, R. Spaggiari, et al.

tion End-products, AGEs), di cui la WD è ricca. Nonostante gli AGEs non forniscano di per sé energia, numerose evidenze sottolineano la loro implicazione nella modulazione dei pathway molecolari connessi ad infiammazione ed insulino resistenza (16), pertanto essi rappresentano un ulteriore tassello che lega la WD al deterioramento della salute cardiometabolica.

I composti della glicazione avanzata (AGEs)

Gli AGEs sono un gruppo di composti eterogenei che includono addotti proteici, lipidici e del DNA, e che sono stati implicati nella patogenesi di numerose patologie croniche, tra cui il T2D, le malattie cardiovascolari, renali e neurodegenerative, così come nella patogenesi dell'obesità (17). Gli AGEs sono stati descritti per la prima volta all'inizio del diciottesimo secolo come un gruppo di composti ottenuti attraverso una reazione di imbrunimento non enzimatico, nota anche come reazione di Maillard. La reazione di Maillard è una reazione a più stadi che coinvolge zuccheri riducenti (con un gruppo carbossilico incline all'ossidazione) e il gruppo amminico libero di proteine, lipidi e basi azotate del DNA. Gli AGEs, tuttavia, possono essere prodotti anche endogenamente attraverso una reazione spontanea che ha luogo in risposta ad iperglicemia cronica. La formazione endogena di AGEs consiste nella glicazione di proteine soprattutto strutturali con una lunga emivita come il collagene, la vitronectina e la laminina; pertanto, questo processo può essere descritto sia come il risultato che la causa dei processi di invecchiamento (18). Inoltre, un'elevata formazione endogena di AGEs può portare al cross-linking (18, 19) delle proteine della matrice extracellulare, le quali sono promotrici della senescenza cellulare e sono associate ad una ridotta longevità (20). Alla luce di ciò, la compromissione del controllo glicemico protratta nel tempo induce un aumento della sinte-

si endogena di prodotti della glicazione avanzata come l'emoglobina glicata (HbA1c), usata come marker per la diagnosi di diabete (21). Il pool endogeno di AGEs è implementato da quelli introdotti con la dieta anche alla luce del fatto che questi ultimi possono essere assorbiti nel tratto gastrointestinale. Infatti, gli alimenti ricchi in zuccheri, proteine e grassi, tipici della WD, sono particolarmente inclini a subire la reazione di Maillard durante la lavorazione industriale o la cottura, soprattutto nel caso dell'utilizzo di calore secco con temperature superiori ai 140° C. Alla luce di ciò e data la capacità degli AGEs di indurre infiammazione e aumentare la produzione di specie reattive dell'ossigeno (Reactive Oxygen Species, ROS), essi rappresentano ulteriori mediatori attraverso i quali la WD promuove il deterioramento della salute cardiometabolica promuovendo, in particolar modo, resistenza insulinica (22).

Formazione degli AGEs

Come già accennato, gli AGEs sono prodotti attraverso una reazione di imbrunimento non enzimatico o reazione di Maillard, che può essere riassunta in tre fasi secondo la classificazione di Hodge (23):

1. Formazione di basi di Schiff (o prodotti di glicazione precoce): la condensazione tra il gruppo carbossilico e il gruppo amminico libero di proteine o lipidi o gli acidi nucleici porta alla formazione di basi di Schiff. Questa reazione è rapida e reversibile.
2. Riarrangiamento di Amadori (o Prodotti di glicazione intermedi): la base di Schiff subisce un riarrangiamento di Amadori, un processo reversibile, che porta alla formazione di molecole più stabili note come composti di Amadori. L'HbA1c è un esempio di sintesi endogena di composti di Amadori.
3. Riarrangiamento dei composti di Amadori (o prodotti finali della glicazione avanzata): i composti di Amadori subiscono ulteriori modifiche, attraverso vie ossidative o non ossidative, per produrre prodotti finali della glica-

I prodotti della Glicazione Avanzata (AGEs) come promotori di insulino resistenza

zione avanzata come la Nε-(carbrossimetil) lisina (Carbossi Metil Lisina, CML), la Nε-(carbossietil) lisina (CEL), la pentosidina, la pirallina, il GOLD (dimeri di glicosil-lisina), DOLD (dimeri di lisina 3-deossiglucosone), pentosidina e glucosopane (22).

Anche se glucosio e fruttosio, così come altri zuccheri riducenti, svolgono un ruolo fondamentale nella formazione degli AGEs, gli stessi hanno scarse proprietà glicanti se confrontati con i dicarbonili, come il metilgliosale (24). I dicarbonili, anche chiamati α-ossaldeidi, sono un gruppo di composti, che includono molecole come il metilgliosale, il glicosale e il 3-deossiglucosone ottenuti attraverso la reazione di Maillard per degradazione del glucosio o delle basi di Schiff nella glicazione precoce o dai composti di Amadori come la fruttosammina (25).

A livello endogeno, i composti dicarbonilici possono anche essere prodotti attraverso vie alternative, come ad esempio la degradazione del glucosio o la via dei polioli, una pathway particolarmente attiva nel caso dell'iperglicemia cronica tipica del diabete, la quale contribuisce indirettamente alla formazione degli AGEs. Durante l'iperglicemia, infatti, vi è un aumento del livello di glucosio intracellulare che viene convogliato verso la via dei polioli. Il primo step di questa via consiste nella conversione del glucosio in sorbitolo, mediata dall'enzima aldoso-reduttasi. Il sorbitolo viene poi convertito in fruttosio dalla sorbitolo-deidrogenasi, la quale necessita dalla presenza del cofattore NAD⁺ per la sua attività. Pertanto, un'eccessiva attivazione della via dei polioli comporta la deplezione di NAD⁺, con conseguente inibizione dell'enzima glicolitico gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi. Una diminuzione dell'attività di quest'ultimo porta ad un rallentamento della glicolisi, con conseguente accumulo dei suoi intermedi come fruttosio e trioso fosfato, i quali danno origine a molecole altamente reattive, tra cui fruttosio-3-fosfato e derivati dicarbonilici, glicosale, metilgliosale e 3-de-

ossiglucosone, che interagiscono con proteine intracellulari ed extracellulari per formare AGEs (26, 27). Alle pathway endogene che contribuiscono alla formazione di AGEs si aggiunge la perossidazione lipidica. Infatti, i prodotti della perossidazione degli acidi grassi polinsaturi, come il malondialdeide e il metilgliosale, contengono carbonili che possono reagire con i gruppi amminici delle proteine per formare gli AGEs.

I composti carbonilici sono quindi ottenuti costantemente durante il metabolismo cellulare ma sono efficacemente detossificati. Nonostante ciò, quando la loro produzione supera i meccanismi di detossificazione, i prodotti dicarbonilici si accumulano contribuendo alla formazione degli stessi AGEs ottenuti dalla reazione di Maillard, come Nε-carbossimetil lisina (CML), Nε-(carbossietil) lisina (CEL), pentosidina, pirallina, GOLD (dimeri di lisina glicosil), DOLD (dimeri di lisina 3-deossiglucosone), pentosidina e glucosopane.

Gli AGEs nella dieta

Come già descritto, gli AGEs non sono formati esclusivamente da reazioni non enzimatiche endogene, ma possono anche essere introdotti con la dieta. Gli alimenti possono naturalmente contenere AGEs, come nel caso degli alimenti di origine animale, i quali possono di per sé contenere proteine glicate, o gli stessi possono essere formati durante la cottura in maniera strettamente dipendente dalla composizione nutrizionale degli alimenti. A tal proposito il contenuto di CML, un composto di glicazione tipicamente utilizzato come marcatore di AGEs, è maggiore negli alimenti ricchi di grassi e seguiti dagli alimenti appartenenti al gruppo della carne (Tabella 1).

Inoltre, è importante considerare che, sebbene gli alimenti ad alto tenore lipidico contengano quantitativi più elevati di AGEs, la carne e i suoi derivati, soprattutto se sottoposti a processi industriali come nel caso degli insaccati o a cottura con alte temperature (es: griglia) e vi-

S. Angelini, F. Castaldo, R. Spaggiari, et al.

sto il loro eccessivo consumo, contribuiscono in maggior misura all’introito giornaliero di AGEs (28).
Come già accennato, a parte le caratteristiche nutrizionali degli alimenti, anche i metodi di cottura ne influenzano il contenuto di AGEs.

In particolare, sia la temperatura durante il processo di cottura che il grado di umidità intrinseco dell’alimento o del metodo di cottura rappresentano dei fattori determinanti che influenzano la produzione di AGEs. Nello specifico, la classifica dei metodi di cottura in rela-

Tabella I - Contenuto di AGEs in diversi alimenti espresso come chilounità (kU) di CML per 100 g di alimento (30).

Alimento	AGEs kU/100g	Alimento	AGEs kU/100g
Pizza	6825,0	Fagioli	190,6
Pollo, tacchino, Coniglio (con pelle cotti al forno)	7248,3	Zucchine, cetrioli, melanzane	116,0
Salame, mortadella, salsicce, cotechino	5132,5	Uova cotte in padella con olio d'oliva per 12 minuti	337,0
Manzo, vitello, maiale (cottura con temperature elevate, es: griglia)	3843,8	Cereali tipo Granola	326,7
Ravioli, tortellini	2728,0	Cereali da colazione al naturale	278,7
Parmigiano (sui primi piatti)	16900,0	Barretta industriale al cioccolato	263,0
Nutella	7517,0	Vino	22,0
Prosciutto, bresaola	2349,0	Pan Bauletto integrale	120,0
Frutta secca oleosa	6597,3	Pomodori, peperoni	23,0
Pesce fresco, in salamoia o in scatola	1911,4	Pan Bauletto bianco	75,5
Formaggio, ricotta	4555,1	Anguria, melone	20,0
Burro	26480,0	Mais	19,5
Gnocchi	1304,5	Fagioli di soia	18,0
Patatine, pretzels	1770,3	Gelato	150,0
Pasta	178,5	Latte	5,7
Olio d'oliva	10970,0	Mele, pere	13,0
Cioccolato	1638,5	Barrette di frutta	18,3
Margarina	9415,0	Carote	10,0
Maionese	9400,0	Banana	9,0
Caramelle	1300,0	Yoghurt, kefir	3,5
Biscotti industriali	1297,9	Semolino, couscous	3,6
Torte, dolciumi	1253,6	Riso	8,8
Panna	2167,0	Bevande gassate tipo Coca Cola	3,4
Crackers, Gallette di riso	1005,0	Estratti di frutta fresca	2,8
Olio di semi	5926,7	Birra	1,2
Cavolfiore, broccoli	226,0	Succo di frutta, 100%	0,0
Frutta essiccata	752,5	Miele	7,0
Patatine fritte	694,0	Bevande energetiche tipo Redbull	0,4
		Arance, mandarini	0,3
		Superalcolici	0,1

I prodotti della Glicazione Avanzata (AGEs) come promotori di insulino resistenza

zione alla produzione di AGEs può essere esemplificata come segue: rosolatura al forno > frittura > alla griglia > arrosto > bollitura (29). Inoltre, anche il pH influenza la formazione di AGEs. In particolare, un pH acido riduce la formazione di AGEs, infatti la marinatura della carne con succo di limone limita notevolmente la formazione di AGE durante la cottura (30). Al contrario, un pH alcalino promuove la reazione di Maillard poiché induce la deprotonazione del gruppo amminico rendendolo, quindi, più reattivo (31). La reazione di Maillard influisce anche su diverse caratteristiche degli alimenti, incluse le proprietà organolettiche, il colore, la funzionalità delle proteine, così come la biodisponibilità degli aminoacidi (32), in particolare la lisina. Inoltre, gli alimenti altamente processati subiscono diverse trasformazioni industriali che implicano l'utilizzo di catalizzatori metallici o alte temperature di lavorazione che, in associazione con la composizione nutrizionale dell'alimento stesso, creano le condizioni ideali per la formazione degli AGEs.

Disponibilità biologica degli AGEs e recettori per gli AGEs

Gli AGEs contenuti all'interno degli alimenti, una volta ingeriti vengono assorbiti nel tratto gastrointestinale e possono raggiungere la circolazione sistemica. Gli AGEs che raggiungono il tratto gastrointestinale possono essere in forma libera o legata a proteine (*Figura 1*); questi ultimi sono caratterizzati da un peso molecolare maggiore di 5 kDa.

La CML libera, ad esempio, viene assorbita nell'intestino attraverso lo stesso trasportatore utilizzato dai dipeptidi, il trasportatore PepT-1, ed è stata rilevata nel plasma (33), nell'urina (34) e nei tessuti (35, 36). La CML, inoltre, rappresenta l'AGE più abbondante nel plasma; tuttavia, a livello plasmatico possono essere presenti anche altre molecole a basso peso molecolare come CEL e pentosidina. Gli AGEs legati alle proteine, invece, vengono assorbiti in misura minore perché la glicazione delle proteine riduce la capacità degli enzimi proteolitici di attaccare e digerire le proteine stesse (37).

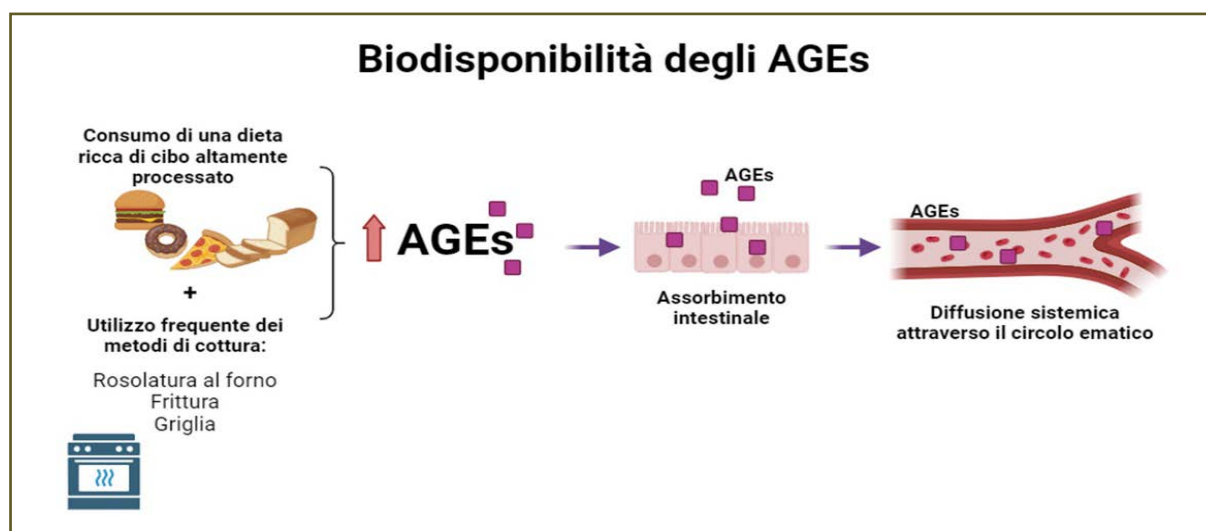


Figura 1 - Biodisponibilità degli AGEs. Il consumo di una dieta ricca di alimenti altamente processati e l'utilizzo di metodi di cottura che impiegano temperature elevate (>200°C) come rosolatura, frittura e alla griglia influiscono positivamente sull'introito di AGEs. Gli AGEs vengono assorbiti a livello intestinale e distribuiti in tutti i tessuti attraverso la circolazione sanguigna. AGEs, Prodotti finali della glicazione avanzata. Figura realizzata con BioRender.com.

S. Angelini, F. Castaldo, R. Spaggiari, et al.

L'assorbimento degli AGEs a livello intestinale può anche essere valutato quantificando la loro escrezione a livello fecale, sebbene questo metodo di quantificazione potrebbe fornire una sottostima del quantitativo di AGEs a causa della possibile degradazione di questi ultimi ad opera della flora batterica intestinale (38). Infatti, alcuni studi hanno mostrato come il microbiota intestinale sia in grado di utilizzare a scopo energetico alcune molecole ottenute dalla reazione di Maillard, sebbene sembri che questa capacità possa essere dipendente dalla complessità molecolare dell'AGE preso in considerazione (39). In particolare, i composti di glicazione ottenuti attraverso cicli di esposizione al calore umido e di breve durata sembrano essere maggiormente pronti alla degradazione da parte della flora intestinale, piuttosto che molecole più complesse ottenute attraverso l'impiego di cicli di cottura degli alimenti con calore secco e temperature elevate (40).

Recettore per gli AGEs

Gli AGEs espletano i loro effetti biologici mediante il legame con i loro recettori, per i quali sono state descritte diverse isoforme. Gli AGEs possono dunque legarsi a recettori la cui attivazione si traduce nell'attivazione di diverse pathways intracellulari oppure a isoforme che ne riducono la biodisponibilità o, che una volta attivate, innescano dei meccanismi di detossificazione degli AGEs stessi. Il principale recettore per gli AGEs è il RAGE (Receptor for AGEs) che appartiene alla super famiglia di recettori di riconoscimento di pattern immunoglobulinici e di cui esistono 3 diverse isoforme (41):

- RAGE di membrana (mRAGE): questo recettore è legato alla membrana plasmatica di diverse cellule come gli adipociti (42), le cellule immunitarie, le cellule endoteliali, le cellule muscolari lisce (43) e le cellule β pancreatiche (44). È composto da una regione extracellulare idrofila, un segmento transmembrana e un dominio intracellulare.
- RAGE solubile (sRAGE): questa isoforma è

prodotta tramite splicing alternativo del trascritto del gene *AGER* (6p21.32) e manca del dominio transmembrana.

- RAGE ottenuto per scissione dell'ectodominio (esRAGE): questa forma solubile è ottenuta per clivaggio dell'ectodominio dell'mRAGE mediato dall'attività di una metalloproteasi.

Tutte e tre le isoforme legano indistintamente gli AGEs, tuttavia, il legame degli AGEs alle forme solubili non è in grado di attivare la trasduzione del segnale intracellulare, il quale è, invece, una prerogativa dell'mRAGE e culmina con l'attivazione di pathway pro-infiammatori (45, 46) e che promuovono lo stress ossidativo (47, 48). In particolare, il legame degli AGEs al recettore RAGE porta all'attivazione di numerosi pathways che sono alla base dei processi infiammatori. Questi composti, infatti, sono in grado di stimolare l'attivazione del fattore di trascrizione nucleare kappa-B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B), la proteina chinasi p38, la chinasi terminale c-Jun (c-Jun N-terminal kinase, JNK) ed altri numerosi intermedi molecolari che insieme promuovono l'attivazione di risposte pro-infiammatorie e la produzione di citochine proinfiammatorie (49). Inoltre, l'attivazione del recettore RAGE contribuisce allo stress ossidativo in quanto promuove la produzione di specie reattive dell'ossigeno (Reactive Oxygen Species, ROS) le quali, non solo inducono la formazione di nuove proteine glicate, ma al contempo stabiliscono un loop a feedback positivo che modula positivamente l'espressione di NF- κ B e nuovi mRAGE, alimentando così l'infiammazione (48).

Al contrario di mRAGE, la forma solubile di RAGE agisce come una trappola per gli AGEs circolanti impedendo così il loro legame con mRAGE.

Nonostante il RAGE rappresenti il recettore principale per gli AGEs, gli stessi possono legarsi ad altri recettori presenti sulla superficie cellulare, come il cluster di differenziazione 36

I prodotti della Glicazione Avanzata (AGEs) come promotori di insulino resistenza

(CD36), i recettori dei macrofagi scavenger I e II (SRI e SRII), e i recettori degli advanced glycation end products (AGER1, AGER2 e AGER3) (50). Questi recettori sono implicati nell'omeostasi degli AGEs, infatti ne mediano l'endocitosi e la degradazione (51).

Il recettore AGER1 è espresso sulla superficie di quasi tutte le cellule e tessuti e la sua espressione e traduzione aumenta in presenza di AGEs. Questo meccanismo di controllo consente di mantenere gli AGEs a concentrazioni sotto la soglia di tossicità (51), prevenendo così lo stress ossidativo (52, 53) e l'attivazione della pathway pro-infiammatoria mediata da NF-κB. Infatti, il recettore AGER1 promuove l'attivazione della deacetilasi sirtuina-1 (SIRT1) la quale è in grado di deacetilare e sopprimere NF-κB (30, 54). Tuttavia, quando la concentrazione di AGEs aumenta in maniera incontrollata ed è prolungata nel tempo, la modulazione positiva del recettore AGER1 da parte degli AGEs viene compromessa, con conseguente aumento dei livelli di AGEs, down-regolazione della SIRT1 e aumento di infiammazione e stress-ossidativo, entrambi deleteri per la sensibilità insulinica (55).

Infine, gli AGEs possono legarsi anche a dei recettori omologhi del RAGE, come le molecole di adesione espresse sulla superficie di leucociti attivati (ALCAM o CD116), anch'essi in grado di attivare vie pro-infiammatorie (17).

Detossificazione degli AGEs

Data la tossicità degli AGEs, l'evoluzione ha consentito lo sviluppo di numerosi pathway molecolari per ridurre i loro livelli e quelli dei loro precursori dicarbonilici. I principali enzimi implicati nella detossificazione degli AGEs sono due: il primo enzima è la Gliossalasi, di cui ne esistono due isoforme, GLO1 e 2, entrambe ubiquitarie e principalmente implicate nella detossificazione del MG. L'attività di questo enzima è aumentata in condizioni come il diabete ed ha lo scopo di ridurre la quantità di prodotti glicati. Tuttavia, questo sistema può essere compromesso in presenza di un'eccessiva pro-

duzione di dicarbonili (56). L'attività di GLO1 ha effetti positivi sulla salute metabolica, infatti studi *in vitro* hanno dimostrato come una sua up-regolazione previene lo stress ossidativo indotto dall'iperglicemia, mentre una sua inibizione porta ad un aumento della sintesi di proteine glicate (57). Il secondo enzima implicato nei meccanismi di detossificazione degli AGEs è la DJ-1 deglicasasi (GLO3). Questa proteina rimuove il gruppo carbonilico dalle proteine glicate e dagli amminoacidi rilasciando prodotti de-glicati più lattato o glicolato (58).

Entrambi gli enzimi prevengono la formazione di AGEs tramite la riduzione dei composti dicarbonilici. Tuttavia, anche gli AGEs già formati possono essere degradati; ad esempio, una volta assorbiti dalla cellula tramite endocitosi mediata dal recettore, gli AGEs possono essere degradati dal sistema endo-lisosomiale, oppure possono essere decomposti contemporaneamente alla degradazione proteasoma-dipendente delle proteine glicate.

AGEs e insulino resistenza

Vi sono numerose evidenze scientifiche che sottolineano una relazione inversa tra livelli di AGEs e salute cardiometabolica. In particolare, gli AGEs sono stati implicati nella patogenesi dell'insulino-resistenza, del diabete mellito di tipo 2 (T2D).

A supporto della relazione tra AGEs e sensibilità insulinica, i livelli sierici di AGEs sono positivamente associati alla resistenza insulinica, misurata tramite HOMA-IR. A tal proposito, uno studio clinico crossover, randomizzato, in doppio cieco condotto su soggetti sovrappeso ha dimostrato che il passaggio da una dieta ricca in AGEs ad una dieta a basso contenuto di AGEs, pur mantenendo lo stesso apporto calorico e di macronutrienti, risulta in una riduzione dei livelli circolanti ed urinari di AGEs e in una della sensibilità insulinica misurata tramite clamp euglicemico iperinsulinemico (60). Anche in un gruppo di donne sovrappeso, il con-

S. Angelini, F. Castaldo, R. Spaggiari, et al.

sumo di una dieta povera di AGEs è stato associato in una riduzione degli AGEs escreti attraverso le urine, una riduzione dell'insulinemia a digiuno e ad contestuale miglioramento della sensnibilità insulinica (61). Tuttavia, sebbene vi siano numerose evidenze a supporto della tossicità dell'eccesso di AGEs introdotti con la dieta, alcuni studi non hanno rilevato alcuna relazione tra introito di AGEs e insulino resistenza (62, 63).

La relazione tra gli AGEs e l'insulino-resistenza può essere spiegata dall'attivazione, da parte degli AGEs, di diversi meccanismi molecolari che alterano la via di trasduzione del segnale insulinico. Questi meccanismi comprendono la down-regolazione di AGER1 e SIRT1 (Sirtuin 1) in risposta all'esposizione prolungata ad alte concentrazioni degli stessi AGEs, l'attivazione di pathways pro-infiammatori come la

via della NFκB e l'eccessiva produzione di ROS (64) (Figura 2). A supporto della capacità degli AGEs di attivare questi meccanismi, uno studio condotto su una coorte di pazienti con T2D ha mostrato come una riduzione nell'assunzione di AGEs sia in grado di riportare a livelli fisiologici l'espressione di SIRT1 e AGER1 risultando in un miglioramento della sensibilità all'insulina (65). Infatti, l'attivazione di SIRT1 è associata ad un miglioramento della sensibilità insulinica attraverso dei meccanismi che comprendono la riduzione dell'infiammazione, il miglioramento del metabolismo ossidativo e biogenesi mitocondriale e la riduzione della produzione di ROS (64).

Un altro meccanismo attraverso il quale gli AGEs possono interferire con la sensibilità insulinica è l'attivazione della proteina chinasi-C (Protein kinase C alpha, PKCα) mediata da mRAGE

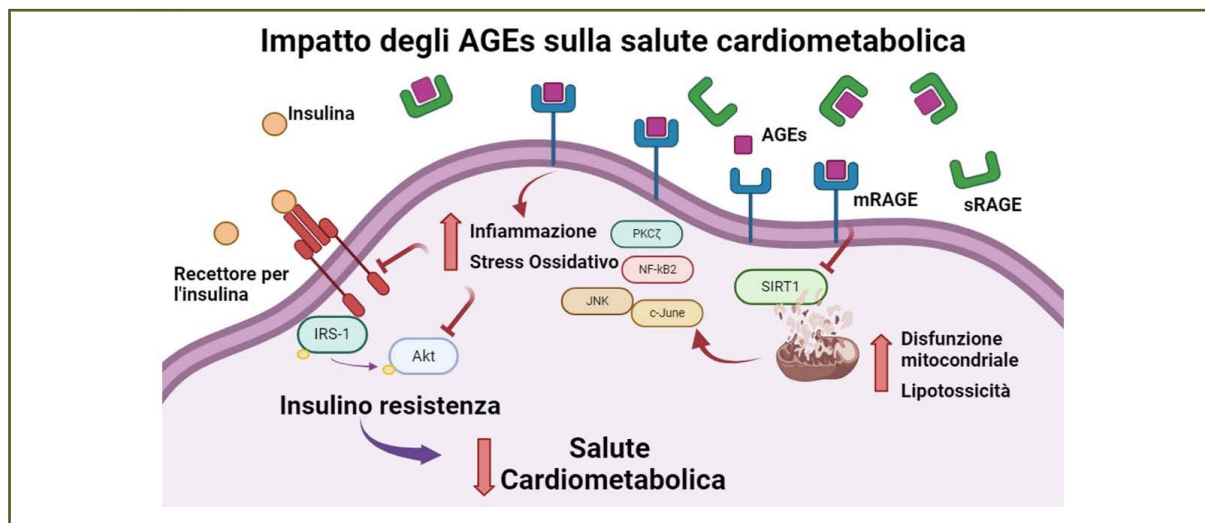


Figura 2 - Impatto degli AGEs sulla salute cardiometabolica. Gli AGEs interagiscono con il loro recettore cellulare mRAGE. La forma solubile del recettore per gli AGEs, sRAGE, può fungere da trappola per gli AGEs extracellulari contrastando gli effetti deleteri dovuti al legame con il recettore di membrana. L'interazione tra AGEs e mRAGE attraverso il quale attivano pathways pro-infiammatorie che sottostanno all'attivazione di NF-κβ, PKCζ, JNK e c-June. Inoltre, l'attivazione del recettore mRAGE inibisce l'attività di SIRT1 che risulta in un danno a carico del metabolismo mitocondriale con conseguente aumento nella produzione di ROS e accumulo di specie lipotossiche che, insieme all'infiammazione, alterano la trasduzione del segnale insulinico e determinano lo sviluppo di insulino resistenza, uno dei fattori chiave nel deterioramento della salute cardiometabolica. AGEs, Prodotti finali della glicazione avanzata; mRAGE, recettore di membrana per gli AGEs; sRAGE, recettore solubile per gli AGEs; NF-κβ, fattore nucleare kappa beta; PKCζ, proteina chinasi-C zeta; JNK, chinasi c-June N-terminale; SIRT1, sirtuina-1; Akt, proteina chinasi-B; IRS, substrato del recettore per l'insulina. Figura realizzata con BioRender.com.

I prodotti della Glicazione Avanzata (AGEs) come promotori di insulino resistenza

(66) (Figura 2). L'attivazione di PKC α , a sua volta, risulta nell'aumento della fosforilazione di insulin receptor substrate 1 (IRS1) sul residuo di serina 636 con conseguente inibizione della via di trasduzione del segnale insulinico (67).

Come già descritto, gli AGEs a seguito della loro interazione con mRAGE, sono in grado di attivare la via pro-infiammatoria di NF κ B. Questa via prevede l'attivazione della chinasi IKK β la quale svolge un ruolo chiave nell'alterazione della trasduzione del segnale insulinico. IKK β , infatti, inibisce l'attività dell'IRS1 attraverso la fosforilazione su residui di serina alternativi che ne bloccano la funzione. Inoltre, sempre in considerazione del nesso tra AGEs, infiammazione cronica di basso grado e insulino resistenza, sembra che gli AGEs siano in grado di aumentare i livelli circolanti di TNF α (68), come dimostrato dalla capacità dell'emoglobina glicata di indurre la secrezione di TNF α da parte di una linea cellulare di monociti (THP-1) (69). Diversi studi hanno riportato che questa citochina interferisce con il pathway insulinico nei monociti, negli epatociti e negli adipociti, provocando un'inibizione dell'attività tirosin chinasi del recettore dell'insulina e promuovendo l'inibizione del suo substrato, IRS a causa della sua fosforilazione su residui di serina con conseguente inibizione della trasduzione del segnale dell'insulina (70). Inoltre, il TNF α stimola la sintesi di ceramidi grazie all'interazione con il suo recettore p55 che promuove l'attivazione di una sfingomielinasi neutra. Quest'ultima idrolizza la sfingomielina in ceramide e colina, le quali compromettono la sensibilità insulinica attraverso la modulazione negativa di alcune tappe fondamentali per la trasduzione del segnale come: la fosforilazione della proteina chinasi-B (Akt/PKB) su specifici residui di treonina e serina a parte promuoverne la defosforilazione mediata dalla proteina fosfatasi 2° e la fosforilazione inibitoria di IRS (Figura 2).

Gli AGEs possono compromettere la sensibilità insulinica anche indipendentemente dalla

loro capacità di compromettere la trasduzione del segnale di questo ormone a livello intracellulare. Infatti, i processi di glicazione interessano anche l'insulina alterandone la funzione biologica. Nonostante l'insulina abbia una emivita molto breve, è stato dimostrato sia *in vivo* (71) che *in vitro* (72, 73), che i composti dicarbonilici possono legarsi ai suoi gruppi amminici più reattivi. In questo contesto, la glicazione più comune coinvolge il residuo di Phe1 in posizione N-terminale della catena B dell'insulina, portando alla formazione di pirezinoni N-terminali (77). Studi *in vivo*, sia in modelli murini (75) che sull'uomo, in cui l'insulina glicata rappresentava circa il 9% dell'insulina totale nei pazienti con T2D, hanno dimostrato la capacità dei fenomeni di glicazione di ridurre l'attività biologica dell'insulina (76). Questo effetto è stato osservato anche *in vitro* in miotubi in cui il trattamento con insulina glicata ha ridotto l'assorbimento ed il catabolismo del glucosio così come la sintesi del glicogeno (75). La glicazione dell'insulina può avvenire anche su residui di arginina, riducendone la capacità di promuovere l'uptake del glucosio da parte di adipociti 3T3-L1 e cellule muscolari L8 (77). Inoltre, l'insulina glicata perde la capacità di inibire la secrezione dell'insulina stessa, promuovendone perciò l'ipersecrezione e iperinsulinemia sistemica.

Gli AGEs sembrano essere implicati anche nella patogenesi dell'obesità che rappresenta un ulteriore nesso tra AGEs introdotti con la dieta e insulino resistenza. A supporto di ciò, uno studio di follow-up quinquennale ha mostrato che gli AGEs introdotti con la dieta sono associati all'aumento di peso negli adulti (78). Uno dei potenziali meccanismi attraverso i quali gli AGEs contribuiscono alla patogenesi dell'obesità è legato alla loro capacità di compromettere il controllo dell'omeostasi energetica a livello ipotalamico. A tal proposito, sebbene in modelli murini, gli AGEs prodotti dai neuroni ipotalamici in risposta a una dieta ricca in lipidi e zuccheri attivano delle risposte

S. Angelini, F. Castaldo, R. Spaggiari, et al.

infiammatorie, tra cui la microglia, a livello ipotalamico che si traduce in un aumento della massa grassa e una riduzione della tolleranza al glucosio. A supporto del ruolo metabolicamente deleterio degli AGEs a livello ipotalamico, la delezione di RAGE in questi animali risultava in un miglioramento degli effetti dismetabolici dovuti a una dieta iperlipidica e ricca in zuccheri (79). Pertanto, l'accumulo di AGEs a livello ipotalamico, almeno in modelli animali, rappresenta uno dei potenziali meccanismi attraverso cui gli AGEs compromettono l'omeostasi energetica, promuovendo l'obesità e tutte le comorbidità associate, tra cui insulino resistenza e T2D.

A parte mRAGE, anche la forma solubile del recettore RAGE è associata alla patogenesi di insulino resistenza, sebbene con effetti diametralmente opposti al RAGE di membrana. In particolare, mentre il quest'ultimo è stato ampiamente associato allo sviluppo di insulino resistenza, la forma di RAGE solubile sembra espletare effetti protettivi nei confronti dello sviluppo della resistenza all'insulina, in quanto è in grado di legare ed intrappolare gli AGEs circolanti, prevenendo il legame con mRAGE e l'attivazione di tutte le pathway deleterie descritte finora. Inoltre, vi sono evidenze che suggeriscono che sRAGE possa essere influenzato positivamente dai livelli di acido oleico, suggerendo che la produzione della forma solubile del recettore possa essere modulata anche da fattori esogeni, come la dieta. Pertanto, sRAGE potrebbe rappresentare un potenziale bersaglio terapeutico per la salute metabolica compromessa (80).

Infine, è interessante sottolineare recenti evidenze che mostrano come l'effetto mediato dall'interazione tra AGEs e i suoi recettori sembri essere dipendente dal sesso biologico. Infatti, in uno studio condotto su modelli murini knock-out (KO) per mRAGE, il consumo di una dieta iperlipidica e ricca in zuccheri semplici ha sorprendentemente indotto un miglioramento della tolleranza al glucosio e della sensibilità in-

sulinica soltanto nei topi femmina. Questi miglioramenti nell'omeostasi del glucosio, infatti, sarebbero da ricondurre a cambiamenti fondamentali, soprattutto a carico del tessuto adiposo, dovuti alla mancanza dell'mRAGE. In particolare, la mancanza del recettore di membrana per gli AGEs nei topi femmina è stata associata ad un aumento dei macrofagi polarizzati in senso M2 i quali esplicano un'attività antinfiammatoria, un aumento dell'espressione dei geni per proteine antiossidanti, tra cui la superossido dismutasi (SOD), la catalasi (CAT) e la glutathione perossidasi (GPX1), e da un contestuale aumento nel browning del tessuto adiposo sottocutaneo (42). Per quanto riguarda sRAGE, nelle donne esso è stato inversamente associato a due fattori chiave nel contesto di insulino resistenza, ovvero la circonferenza vita e all'indice di massa corporea. Questa osservazione suggerisce che i soggetti sovrappeso, in particolare le donne, potrebbero avere livelli di sRAGE più bassi rispetto ai soggetti normo peso, proponendo così che bassi livelli plasmatici di sRAGE possano essere connessi ad un aumento del rischio cardiometabolico (81). L'influenza del sesso sugli effetti metabolici mediati dall'interazione AGE-RAGE può essere spiegata dal fatto che questi ultimi sono, a vari livelli, guidati dagli ormoni sessuali. Ad esempio, gli estrogeni possono stimolare l'espressione del recettore RAGE, ma, al contempo, sono controllati da una via di segnalazione dipendente da RAGE (71), oltre che dal recettore per gli estrogeni-alfa (RE α) (72).

Conclusioni

Il ruolo degli AGEs come attori nella patogenesi dell'insulino resistenza è sempre più riconosciuto, grazie alle crescenti evidenze che sottolineano la loro attività nel promuovere l'attivazione di risposte proinfiammatorie che rappresentano uno dei nessi patogenetici tra l'obesità e le sue complicanze. Nonostante questo, le evidenze circa la capacità degli AGEs di pro-

I prodotti della Glicazione Avanzata (AGEs) come promotori di insulino resistenza

muovere insulino resistenza sono ancora contrastanti. Pertanto, è necessario condurre nuovi studi per poter comprendere l'entità e le ragioni di queste discrepanze. Per concludere, sebbene vi siano ancora dei gap di conoscenza da colmare, gli AGEs potrebbero giocare il ruolo di nuovi fattori da considerare per spiegare

gli effetti deleteri di una dieta sbilanciata e ricca di cibo altamente processato, come la Western Diet (WD). In particolare, la riduzione dell'introito di AGEs provenienti dalla dieta potrebbe rappresentare un nuovo strumento nutrizionale per migliorare la salute cardiometabolica.

RIASSUNTO

I prodotti della glicazione avanzata (Advanced Glycation End-products, AGEs) sono un gruppo eterogeneo di molecole formate dalla reazione non enzimatica tra uno zucchero riducente e il gruppo amminico libero di proteine, lipidi e acidi nucleici. Sebbene gli AGEs possano essere formati a livello endogeno, in particolare in risposta all'iperglicemia, queste molecole possono anche essere introdotte con la dieta e assorbite nel tratto gastrointestinale. Infatti, gli AGEs si formano tramite la reazione di Maillard durante la lavorazione industriale o la cottura dei cibi, in particolare a causa dell'esposizione a calore secco di alimenti ricchi in zuccheri, proteine e lipidi. Alla luce di ciò, gli alimenti altamente processati, tipici della dieta occidentale, rappresentano un'importante fonte di AGEs e potrebbero rappresentare uno dei mediatori attraverso i quali questo regime dietetico espleta i suoi effetti deleteri sulla salute cardiometabolica. A tal proposito, il consumo di una dieta ricca in AGEs è stato associato allo sviluppo di insulino resistenza in trial clinici e confermato su modello cellulari nei quali l'esposizione a AGEs risultava nell'inibizione della trasduzione del segnale insulinico. Per quanto riguarda i meccanismi alla base della relazione tra AGEs e insulino resistenza, questi includono l'attivazione di risposte infiammatorie e l'induzione dello stress ossidativo, entrambe conseguenze dell'interazione tra AGEs e il loro recettore: il recettore per gli AGEs (RAGE). Nonostante la relazione positiva tra AGEs e insulino resistenza e la loro capacità di attivare pathways in grado di alterare la trasduzione del segnale insulinico, le evidenze scientifiche circa l'associazione tra AGEs e ridotta sensibilità all'insulina sono ancora contrastanti. Pertanto, sono necessari ulteriori studi per far luce sulle ragioni delle discrepanze presenti in letteratura relative alla relazione tra AGEs e insulino resistenza. Nonostante ciò, limitare il consumo di AGEs, riducendo il consumo di alimenti altamente processati, potrebbe rappresentare una promettente strategia nutrizionale per migliorare la sensibilità insulinica e la salute cardiometabolica.

Parole chiave: AGEs, insulino resistenza, alimentazione, cibo altamente processato.

Bibliografia

1. Bray GA, Popkin BM. Dietary Sugar and Body Weight: Have We Reached a Crisis in the Epidemic of Obesity and Diabetes? *Diabetes Care*. 2014; 37: 950-956.
2. Blouet C, Schwartz GJ. Hypothalamic nutrient sensing in the control of energy homeostasis. *Behav. Brain Res.* 2010; 209: 1-12.
3. Sergi D, Williams LM. Potential relationship between dietary long-chain saturated fatty acids and hypothalamic dysfunction in obesity. *Nutr. Rev.* 2020; 78: 261-277.
4. Schwartz MW, et al. Obesity Pathogenesis: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr. Rev.* 2017; 38: 267-296.
5. Ruze R, et al. Obesity and type 2 diabetes mellitus: connections in epidemiology, pathogenesis, and treatments. *Front. Endocrinol.* 2023; 14: 1161521.
6. Powell-Wiley TM, et al. Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2021; 143.
7. Ding Y, et al. Clinical Classification of Obesity and Implications for Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease and Treatment. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* 2023; Volume 16: 3303-3329.
8. Pati S, Irfan W, Jameel A, Ahmed S, Shahid RK. Obesity and Cancer: A Current Overview of Epidemiology, Pathogenesis, Outcomes, and Management. *Cancers*. 2023; 15: 485.
9. Kueck P, Morris J, Stanford J. Current Perspectives: Obesity and Neurodegeneration - Links and Risks. *Degener. Neurol. Neuromuscul. Dis.* 2024; Volume 13: 111-129.
10. Vinuesa A, et al. Inflammation and Insulin Resistance as Risk Factors and Potential Therapeutic Targets for Alzheimer's Disease. *Front. Neurosci.* 2021; 15: 653651.

S. Angelini, F. Castaldo, R. Spaggiari, et al.

11. Wilcox G. Insulin and insulin resistance. *Clin. Biochem. Rev.* 2005; 26: 19-39.
12. Méndez L, Medina I. Polyphenols and Fish Oils for Improving Metabolic Health: A Revision of the Recent Evidence for Their Combined Nutraceutical Effects. *Mol. Basel Switz.* 2021; 26: 2438.
13. Timmers S, et al. Calorie Restriction-like Effects of 30 Days of Resveratrol Supplementation on Energy Metabolism and Metabolic Profile in Obese Humans. *Cell Metab.* 2011; 14: 612-622.
14. Garcia, K., Ferreira, G., Reis, F. & Viana, S. Impact of Dietary Sugars on Gut Microbiota and Metabolic Health. *Diabetology.* 2022; 3: 549-560.
15. Cascio G, Schiera G, Di Liegro I. Dietary Fatty Acids in Metabolic Syndrome, Diabetes and Cardiovascular Diseases. *Curr. Diabetes Rev.* 2012; 8: 2-17.
16. Unoki H, Yamagishi S. Advanced Glycation End Products and Insulin Resistance. *Curr. Pharm. Des.* 2008; 14: 987-989.
17. Sergi D, Boulestin H, Campbell FM, Williams LM. The Role of Dietary Advanced Glycation End Products in Metabolic Dysfunction. *Mol. Nutr. Food Res.* 2021; 65: e1900934.
18. Hammes HP, et al. Modification of vitronectin by advanced glycation alters functional properties in vitro and in the diabetic retina. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 1996; 75: 325-338.
19. Schmidt AM, et al. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 1395-1403.
20. Sell DR, et al. Longevity and the genetic determination of collagen glycoxidation kinetics in mammalian senescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996; 93: 485-490.
21. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus: Abbreviated Report of a WHO Consultation. (World Health Organization, Geneva, 2011).
22. Sergi D, Boulestin H, Campbell FM, Williams LM. The Role of Dietary Advanced Glycation End Products in Metabolic Dysfunction. *Mol. Nutr. Food Res.* 2021; 65: e1900934.
23. Hodge JE. Dehydrated Foods, Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. *J. Agric. Food Chem.* 1953; 1: 928-943.
24. Thornalley PJ. Dicarbonyl intermediates in the maillard reaction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2005; 1043: 111-117.
25. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia.* 2001; 44: 129-146.
26. Singh VP, Bali A, Singh N, Jaggi AS. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Korean J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Korean Physiol. Soc. Korean Soc. Pharmacol.* 2014; 18: 1-14.
27. Henning C, Liehr K, Girndt M, Ulrich C, Glomb MA. Extending the spectrum of α -dicarbonyl compounds in vivo. *J. Biol. Chem.* 2014; 289: 28676-28688.
28. Goldberg T, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 2004; 104: 1287-1291.
29. Goldberg T, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J. Am. Diet. Assoc.* 2004; 104: 1287-1291.
30. Uribarri J, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J. Am. Diet. Assoc.* 2010; 110: 911-916.e12.
31. Nowotny K, Schröter D, Schreiner M, Grune T. Dietary advanced glycation end products and their relevance for human health. *Ageing Res. Rev.* 2018; 47: 55-66.
32. Lund MN, Ray CA. Control of Maillard Reactions in Foods: Strategies and Chemical Mechanisms. *J. Agric. Food Chem.* 2017; 65: 4537-4552.
33. Teerlink T, Barto R, Ten Brink HJ, Schalkwijk CG. Measurement of Nepsilon-(carboxymethyl)lysine and Nepsilon-(carboxyethyl)lysine in human plasma protein by stable-isotope-dilution tandem mass spectrometry. *Clin. Chem.* 2004; 50: 1222-1228.
34. Delgado-Andrade C, Tessier FJ, Niquet-Leridon C, Seiquer I, Pilar Navarro M. Study of the urinary and faecal excretion of Nepsilon-carboxymethyllysine in young human volunteers. *Amino Acids.* 2012; 43: 595-602.
35. Tessier F, Obrenovich M, Monnier VM. Structure and mechanism of formation of human lens fluorophore LM-1. Relationship to vesperlysine A and the advanced Maillard reaction in aging, diabetes, and cataractogenesis. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 20796-20804.
36. Baidoshvili A, et al. N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine depositions in intramyocardial blood vessels in human and rat acute myocardial infarction: a predictor or reflection of infarction? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006; 26: 2497-2503.
37. Tessier FJ, et al. Quantitative assessment of organ distribution of dietary protein-bound 13 C-labeled Nepsilon-carboxymethyllysine after a chronic oral exposure in mice. *Mol. Nutr. Food Res.* 2016; 60: 2446-2456.
38. Somoza V. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: An update. *Mol. Nutr. Food Res.* 2005; 49: 663-672.
39. Somoza V. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: an update. *Mol. Nutr. Food Res.* 2005; 49: 663-672.
40. Sharma C, Kaur A, Thind SS, Singh B, Raina S. Advanced glycation End-products (AGEs): an emerging concern for processed food industries. *J. Food Sci. Technol.* 2015; 52: 7561-7576.
41. Lee EJ, Park J. H. Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE), Its Ligands, and Soluble RAGE: Potential Biomarkers for Diagnosis and Therapeutic Targets for Human Renal Diseases. *Genomics Inform.* 2013; 11: 224-229.

I prodotti della Glicazione Avanzata (AGEs) come promotori di insulino resistenza

42. Du Z, et al. RAGE displays sex-specific differences in obesity-induced adipose tissue insulin resistance. *Biol. Sex Differ.* 2022; 13: 65.
43. Riehl A, Németh J, Angel P, Hess J. The receptor RAGE: Bridging inflammation and cancer. *Cell Commun. Signal. CCS.* 2009; 7: 12.
44. Zhu Y, et al. Inhibition of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) protects pancreatic β -cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 404: 159-165.
45. Maillard-Lefebvre H, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products: a new biomarker in diagnosis and prognosis of chronic inflammatory diseases. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 2009; 48: 1190-1196.
46. Yamagishi S, et al. Positive association between serum levels of advanced glycation end products and the soluble form of receptor for advanced glycation end products in nondiabetic subjects. *Metabolism.* 2006; 55: 1227-1231.
47. Tóbon-Velasco JC, Cuevas E, Torres-Ramos MA. Receptor for AGEs (RAGE) as mediator of NF- κ B pathway activation in neuroinflammation and oxidative stress. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 2014; 13: 1615-1626.
48. Guimarães ELM, Empsen C, Geerts A, van Grunsven, LA. Advanced glycation end products induce production of reactive oxygen species via the activation of NADPH oxidase in murine hepatic stellate cells. *J. Hepatol.* 2010; 52: 389-397.
49. Grimm S, et al. Advanced-glycation-end-product-induced formation of immunoproteasomes: involvement of RAGE and Jak2/STAT1. *Biochem. J.* 2012; 448: 127-139.
50. Pinkas A, Aschner M. Advanced Glycation End-Products and Their Receptors: Related Pathologies, Recent Therapeutic Strategies, and a Potential Model for Future Neurodegeneration Studies. *Chem. Res. Toxicol.* 2016; 29: 707-714.
51. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus. *Biomolecules.* 2015; 5: 194-222.
52. Cai W, et al. AGER1 regulates endothelial cell NADPH oxidase-dependent oxidant stress via PKC- δ : implications for vascular disease. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* 2010; 298: C624-C634.
53. Torreggiani M, et al. Advanced Glycation End Product Receptor-1 Transgenic Mice Are Resistant to Inflammation, Oxidative Stress, and Post-Injury Intimal Hyperplasia. *Am. J. Pathol.* 2009; 175: 1722-1732.
54. Cai W, et al. Oral advanced glycation endproducts (AGEs) promote insulin resistance and diabetes by depleting the antioxidant defenses AGE receptor-1 and sirtuin 1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012; 109: 15888-15893.
55. Cai W, et al. Oral advanced glycation endproducts (AGEs) promote insulin resistance and diabetes by depleting the antioxidant defenses AGE receptor-1 and sirtuin 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2012; 109: 15888-15893.
56. Rabbani N, Thornalley PJ. Dicarbonyl stress in cell and tissue dysfunction contributing to ageing and disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015; 458: 221-226.
57. Giacco F, et al. Knockdown of Glyoxalase 1 Mimics Diabetic Nephropathy in Nondiabetic Mice. *Diabetes.* 2014; 63: 291-299.
58. Richarme G, et al. Parkinsonism-associated Protein DJ-1/Park7 Is a Major Protein Deglycase That Repairs Methylglyoxal- and Glyoxal-glycated Cysteine, Arginine, and Lysine Residues. *J. Biol. Chem.* 2015; 290: 1885-1897.
59. Ott C, et al. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biol.* 2014; 2: 411-429.
60. De Courten B, et al. Diet low in advanced glycation end products increases insulin sensitivity in healthy overweight individuals: a double-blind, randomized, crossover trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2016; 103: 1426-1433.
61. Mark AB, et al. Consumption of a diet low in advanced glycation end products for 4 weeks improves insulin sensitivity in overweight women. *Diabetes Care.* 2014; 37: 88-95.
62. Linkens AMA, et al. Habitual intake of advanced glycation endproducts is not associated with worse insulin sensitivity, worse beta cell function, or presence of prediabetes or type 2 diabetes: The Maastricht Study. *Clin. Nutr.* 2023; 42: 1491-1500.
63. Lam JCM, Tan KCB, Lai AYK, Lam DCL, Ip MSM. Increased serum levels of advanced glycation end-products is associated with severity of sleep disordered breathing but not insulin sensitivity in non-diabetic men with obstructive sleep apnoea. *Sleep Med.* 2012; 13: 15-20.
64. Liang F, Kume S, Koya D. SIRT1 and insulin resistance. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2009; 5: 367-373.
65. Uribarri J, et al. Restriction of Advanced Glycation End Products Improves Insulin Resistance in Human Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34: 1610-1616.
66. Miele C, et al. Human glycated albumin affects glucose metabolism in L6 skeletal muscle cells by impairing insulin-induced insulin receptor substrate (IRS) signaling through a protein kinase C α -mediated mechanism. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 47376-47387.
67. Miele C, et al. Human Glycated Albumin Affects Glucose Metabolism in L6 Skeletal Muscle Cells by Impairing Insulin-induced Insulin Receptor Substrate (IRS) Signaling through a Protein Kinase C α -mediated Mechanism. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 47376-47387.
68. Zawada A, et al. Accumulation of Advanced Glycation End-Products in the Body and Dietary Habits. *Nutrients* 2022; 14: 3982.
69. Chrysanthou M, Miro Estruch I, Rietjens IMCM, Wichers HJ, Hoppenbrouwers T. *In Vitro* Methodolo-

S. Angelini, F. Castaldo, R. Spaggiari, et al.

- gies to Study the Role of Advanced Glycation End Products (AGEs) in Neurodegeneration. *Nutrients*. 2022; 14: 363.
70. Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1994; 91: 4854-4858.
71. Hunter SJ, et al. Demonstration of Glycated Insulin in Human Diabetic Plasma and Decreased Biological Activity Assessed by Euglycemic-Hyperinsulinemic Clamp Technique in Humans. *Diabetes*. 2003; 52: 492-498.
72. Abdel-Wahab YHA, et al. Glycation of Insulin in the Islets of Langerhans of Normal and Diabetic Animals. *Diabetes*. 1996; 45: 1489-1496.
73. O'Harte FPM, Højrup P, Barnett CR, Flatt PR. Identification of the site of glycation of human insulin. *Pep-tides*. 1996; 17: 1323-1330.
74. Nowotny K, Jung T, Höhn A, Weber D, Grune T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomolecules*. 2015; 5: 194-222.
75. Boyd AC, et al. Impaired ability of glycated insulin to regulate plasma glucose and stimulate glucose transport and metabolism in mouse abdominal muscle. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.* 2000; 1523: 128-134.
76. Hunter SJ, et al. Demonstration of glycated insulin in human diabetic plasma and decreased biological activity assessed by euglycemic-hyperinsulinemic clamp technique in humans. *Diabetes*. 2003; 52: 492-498.
77. Jia X, et al. Structural and functional changes in human insulin induced by methylglyoxal. *FASEB J.* 2006; 20: 1555-1557.
78. Cordova R, et al. Dietary intake of advanced glycation end products (AGEs) and changes in body weight in European adults. *Eur. J. Nutr.* 2020; 59: 2893-2904.
79. Gao Y, et al. Dietary sugars, not lipids, drive hypothalamic inflammation. *Mol. Metab.* 2017; 6: 897-908.
80. Deo P, Dhillon VS, Thomas P, Fenech M. Oleic Acid Status Positively Correlates with the Soluble Receptor for Advanced Glycation End-Products (sRAGE) in Healthy Adults Who Are Homozygous for G Allele of RAGE G82S Polymorphism. *Cells*. 2023; 12: 1662.
81. Norata GD, et al. Circulating soluble receptor for advanced glycation end products is inversely associated with body mass index and waist/hip ratio in the general population. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2009; 19: 129-134.
82. Mukherjee TK, Reynolds PR, Hoidal JR. Differential effect of estrogen receptor alpha and beta agonists on the receptor for advanced glycation end product expression in human microvascular endothelial cells. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell. Res.* 2005; 1745: 300-309.
83. Mukhopadhyay S, Mukherjee TK. Bridging advanced glycation end product, receptor for advanced glycation end product and nitric oxide with hormonal replacement/estrogen therapy in healthy versus diabetic postmenopausal women: A perspective. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* 2005; 1745: 145-155.

FATTORI DI RISCHIO

FATTORI DI RISCHIO E MECCANISMI IMMUNO- INFIAMMATORI CHE PORTANO ALL'ATEROSCLEROSI: FOCUS SUL RUOLO DELLA DISBIOSI DEL MICROBIOTA ORALE

**Risk factors and immune-inflammatory
mechanisms that lead to atherosclerosis:
focus on the role of dysbiosis
in the oral microbiota**

**MARCO BUCCI¹, RICCARDO MATTIA RICCIARDI¹, ALESSIA CIPOLLONE¹,
DAMIANO D'ARDES¹, MARIA CRISTINA CURIA², FRANCESCO CIPOLLONE¹,
PAOLO MAGNI³**

¹*Centro Regionale di Eccellenza per lo Studio dell'Aterosclerosi, dell'Ipertensione
e delle Dislipidemie, Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento,
Università degli Studi "Gabriele d'Annunzio" di Chieti-Pescara;*

²*Dipartimento di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologiche,
Università degli Studi "Gabriele d'Annunzio" di Chieti-Pescara;*

³*Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari "Rodolfo Paoletti",
Università degli Studi di Milano*

Indirizzo per la corrispondenza

Marco Bucci
mbucci@unich.it

M. Bucci, R.M. Ricciardi, A. Cipollone, et al.

SUMMARY

Cardiovascular diseases (CVD), including myocardial infarction and stroke, are currently the leading cause of morbidity, disability and mortality worldwide. Recently, researchers have focused their attention on the alterations of the gut and oral microbiota, investigating the possible role of their dysbiosis in the pathogenesis and/or progression of CVD. In this regard, it has been shown that endothelial dysfunction, a major feature of CVD, can also be induced by chronic periodontal infection, due to a systemic pro-inflammatory condition, as suggested by increased plasma levels of acute phase proteins, IL-6 and fibrinogen. Moreover, proatherogenic dysfunctions can also be promoted by direct bacterial invasion of the endothelium. This review reports the current evidence about the possible role of oral microbiota dysbiosis and the related immunoinflammatory components in the pathophysiology of atherosclerosis and associated CVD. It is concluded that integration of oral microbiota sampling into clinical practice may result in a more accurate assessment of CV risk in patients and even modify their prognosis.

Key words: *Atherosclerosis, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum, heterozygous familial hypercholesterolemia, secondary cardiovascular prevention.*

Aterosclerosi ed infiammazione cronica: meccanismi fisiopatologici ed evidenze cliniche

Le malattie cardiovascolari (CVD) rappresentano attualmente la principale causa di mortalità nel mondo e una causa significativa di morbidità (1). Tutti i pazienti vengono stratificati secondo le tabelle di rischio nel sistema "SCORE" (2), che stima il rischio di eventi cardiovascolari fatali entro 10 anni nei cittadini europei di età compresa tra 40 e 70 anni, in base a sesso, abitudini tabagiche, età, pressione arteriosa sistolica e colesterolo totale. L'aterosclerosi è una malattia cronica a carico di arterie di medio e grande calibro con patogenesi immuno-infiammatoria (3), in grado di causare ischemia attraverso un meccanismo emodinamico-stenotico, trombotico o tromboembolico (4).

La suscettibilità alle CVD raggiunge un alto livello di gravità nei pazienti con specifici genotipi come nell'Ipercolesterolemia Familiare (FH), disturbo autosomico dominante causato da mutazioni a carico dei geni che codificano il recettore delle lipoproteine a bassa densità (LDLR), l'apolipoproteina B (ApoB) o la proproteina convertente subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9). Esempio analogo è l'Ipercolesterolemia Poligenica, costituita da una serie di

mutazioni (polimorfismi a singolo nucleotide, SNPs) che sommati possono aumentare i livelli circolanti di LDL-C. L'impatto cumulativo di questi SNPs può essere quantificato calcolando un punteggio SNP per LDL-C (5). È interessante notare che la suscettibilità alle malattie cardiovascolari aterosclerotiche (ASCVD) differisce tra questi pazienti anche quando i livelli di LDL-C sono simili (6), suggerendo che altri fattori possano giocare un ruolo patogenetico per esse.

Negli ultimi decenni sono stati investigati nuovi fattori da correlare con l'infiammazione endoteliale, in particolare l'attenzione si è concentrata sul microbiota umano dato il riscontro di microbi selezionati delle popolazioni batteriche orali o intestinali su placche ateromasiche trombizzate dei pazienti sottoposti a tromboendarterectomia (7).

Nello studio condotto da Ross (8), l'aterosclerosi è stata descritta per la prima volta come una malattia infiammatoria, determinata quindi non solo dall'accumulo di lipidi ma con meccanismi cellulari e molecolari simili a malattie infiammatorie croniche o fibroproliferative come l'artrite reumatoide o la glomerulosclerosi (8). Diversi studi si sono interrogati se i marker plasmatici dell'infiammazione possano avere implicazioni prognostiche/terapeutiche. La proteina C-reattiva (CRP) è stata identificata

come il miglior indicatore di stato infiammatorio, nonostante una scarsa specificità (9). Pertanto è stato sviluppato un test diagnostico ad alta sensibilità per la CRP (hsCRP - Proteina C reattiva ad alta sensibilità) in grado di misurare livelli leggermente superiori ai valori di riferimento in contesti infiammatori cronici (10). Questo ha reso possibile dimostrare come un aumento della hsCRP sia associato ad un aumento del rischio di eventi cardiovascolari e sia, pertanto, impiegabile come predittore di eventi clinici indipendentemente dai livelli di colesterolo (11). Esistono tuttavia studi che non hanno confermato suddetta relazione (12, 13) ma, ciononostante, in alcune linee guida la CRP è tenuta in considerazione come indice prognostico, soprattutto nei pazienti con una classe di rischio intermedia (14).

Lo studio JUPITER del 2008 ha valutato l'effetto della rosuvastatina sul rischio cardiovascolare (CVR) nei pazienti in prevenzione primaria, senza dislipidemia e con elevata hsCRP (15). Rispetto al placebo i livelli di LDL sono diminuiti del 50%, i livelli di hsCRP del 37% e la mortalità è migliorata significativamente contro gli endpoint primari, con un'incidenza cumulativa di 0,77 nel gruppo statine e 1,36 nel gruppo di controllo, confermando le evidenze sperimentali a favore del potere anti-infiammatorio delle statine (16). Lo studio clinico CANTOS, invece, nel 2017 mirava a valutare l'impatto di un trattamento anti-infiammatorio piuttosto che ipolipemizzante sull'outcome cardiovascolare. Per tale motivo si è analizzato il beneficio di un trattamento con diverse dosi dell'anticorpo monoclonale anti-interleuchina (IL)-1 β Canakinumab rispetto al placebo in una popolazione con pregresso infarto miocardico ed elevati livelli di hsCRP (>2mg/dL). Il gruppo che ha goduto dei maggiori benefici cardiovascolari è stato quello con un'assunzione giornaliera di 150 mg di anticorpo monoclonale, con riduzione mediana della hsCRP del 37%, e un'incidenza di eventi cardiovascolari di 3,86/100 persone-anno rispetto a 4,50/100

persone-anno nel placebo, in assenza di modificazioni nel profilo lipidico (17).

Pertanto, entrambi gli studi hanno evidenziato la correlazione diretta tra la riduzione dello stato infiammatorio e la riduzione degli eventi cardiovascolari su base aterosclerotica (19). Di conseguenza, mirare a pathway infiammatori come nello specifico quello dell'inflammasoma contenente il dominio leucina e pirina-3 (NLRP3) e IL-1 β (16, 18) rappresenta una nuova frontiera per il trattamento delle malattie aterosclerotiche (20).

Le considerazioni sopra espresse ci hanno portato a esplorare ulteriori fattori che possono determinare l'insorgenza o aggravare questa infiammazione cronica, come la disbiosi del microbiota orale e intestinale (22-24) (quest'ultima già collegata alla dislipidemia (25)).

Il contributo della disbiosi del microbiota orale alla fisiopatologia delle malattie cardiovascolari aterosclerotiche: Evidenze cliniche e meccanismi molecolari

Negli ultimi anni, la ricerca ha nuovamente rivolto il proprio interesse verso le alterazioni delle specie microbiche che vivono nel nostro corpo - la disbiosi - in particolare del microbiota gastrointestinale e orale. Il "microbiota" è l'insieme dei diversi microrganismi viventi che costituiscono il microbioma (26), includendo batteri, archea, funghi, protisti e alghe. La "disbiosi" è la modifica della loro composizione ecologica rispetto a un soggetto altrimenti sano (27). Ci sono diverse condizioni che possono alterare il normale microbiota: la genetica dell'organismo ospite, la dieta, le infezioni e l'intervento medico come l'uso di antibiotici; questi fenomeni alterano l'equilibrio normale tra le specie che costituiscono la comunità, consentendo ad alcune di crescere a discapito di altre e diventare quindi virulente (27). Negli ultimi decenni numerosi studi hanno documentato cambiamenti significativi nelle comu-

M. Bucci, R.M. Ricciardi, A. Cipollone, et al.

nità microbiche di pazienti e modelli animali di malattie infiammatorie intestinali (28), diabete mellito (29), asma (30), allergie e persino autismo (31). Per la disbiosi nella cavità orale è stata osservata una batteriemia a basso grado dopo trattamenti come l'estrazione dentale o la tonsillectomia (32, 33). Da questo si è ipotizzato che l'infezione del tessuto parodontale possa causare una batteriemia transitoria con successiva invasione batterica diretta delle cellule endoteliali fino a determinare malattie cardiovascolari, malattie gastrointestinali, cancro del colon, resistenza insulinica e diabete mellito, o persino malattia di Alzheimer (34, 35). Mattila e collaboratori ad esempio hanno dimostrato la prevalenza di condizioni patologiche dentali infettive (carie, parodontite, lesioni periapicali e pericoroniti) nei pazienti scandinavi con una storia di recente infarto miocardico rispetto alle persone sane (36). Lo studio condotto da Keijser e collaboratori mediante analisi PCR su campioni di saliva e placca dentale, ha evidenziato che in essa sono presenti principalmente *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Spirochaetes*, mentre nella saliva predominano *Bacteroides*, *Firmicutes* e *Proteobacteria* (37). In totale sono circa 800 le specie microbiche che possono formare la placca dentale e in media 150 tra esse sono comunemente presenti in ciascun individuo, compresi gli anaerobi Gram-negativi (38). Nel corso degli anni, tra le affezioni della cavità orale, è stata particolarmente sottolineata l'importanza della parodontite (malattia infiammatoria-infettiva del parodonto con eziologia polimicrobica).

Esistono numerosi fattori di rischio per la parodontite: il fumo di sigaretta, il diabete mellito, l'immunosoppressione, l'accumulo eccessivo di placca batterica, una scarsa igiene orale, la predisposizione genetica, l'infiammazione preesistente e i fattori socio economici; i fattori protettivi sono invece la risposta immunitaria innata e adattativa, la genetica dell'ospite e l'integrità dell'anatomia dentale (38).

Koren e collaboratori hanno rilevato la

presenza di patogeni orali e intestinali come *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* e *Actinobacteria* mediante PCR su campioni umani ottenuti da placche ateromasiche post-endoarterectomia (7).

Una review del 2013 condotta da Reyes e collaboratori (39) ha mirato a valutare il ruolo proaterogeno diretto dei batteri parodontali attraverso sette test di evidenza, sulla base della letteratura epidemiologica, clinica e sperimentale preesistente: secondo queste evidenze, i batteri orali (Tabella 1) sarebbero in grado di diffondersi dalla cavità orale nella circolazione sistemica attraverso meccanismi multipli. La condizione più frequente deriva dalle manipolazioni nella cavità orale, sia durante le attività quotidiane che durante i trattamenti dentali (32). Un altro meccanismo comprovato è rappresentato dall'invasione transcellulare, con ingresso nei microcapillari gengivali in corrispondenza della tasca gengivale (40). Esiste anche una teoria ad oggi non provata, la "teoria del cavallo di Troia", che propone che i patogeni possano diffondersi tramite fagocitosi mediata dalle cellule immunitarie circolanti (41) e sfuggire in tal modo alla distruzione microbica (42). Nelle placche ateromasiche sono stati rilevati campioni (DNA, RNA o antigeni) di *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) (43) o *Veillonella* sp. (7), concludendo che più specie patogene possono raggiungere il sito interessato. Tuttavia, i risultati sono contrastanti a causa delle differenze nella metodica o secondo l'eziologia dell'ateroma (44).

Per molti anni i gruppi di ricerca hanno cercato di coltivare microrganismi patogeni parodontali dalle placche ateromasiche senza successo; infine, nel 2005, Kozarov e collaboratori hanno dimostrato la presenza di Pg e Aa vitali all'interno del tessuto ateromatoso coltivato con cellule endoteliali coronariche umane primarie (45), stabilendo la capacità in vitro dei patogeni parodontali di invadere le cellule cardiovascolari, in particolare per Pg (46).

Fattori di rischio e meccanismi immuno-infiammatori che portano all'aterosclerosi

Sono stati utilizzati diversi modelli animali per supportare l'ipotesi di un ruolo patogeno di Pg nell'aterosclerosi: nei modelli murini, Pg è stato segnalato come un importante fattore nell'accelerare lo sviluppo dell'aterosclerosi (47); nei suini normocolesterolemici, ha indotto lesioni aortiche e coronariche, mentre nei suini ipercolesterolemici la batteriemia da Pg ha potenziato l'aterosclerosi (48); infine, nei conigli con malattia parodontale, hanno sviluppato striature adipose nell'aorta più velocemente rispetto ai controlli (48). Le mutazioni non invasive di batteri parodontali causano, in vitro e in vivo, un carico di malattia decisamente inferiore: sono stati dimostrati varianti di Pg con una ri-

dotta capacità invasiva, che nei topi ApoE-gene-knockout (essenziali per la funzione dell'HDL), non causano l'accelerazione dell'aterosclerosi, a differenza del ceppo batterico normo-invasivo (49).
Anche uno stato infettivo può indurre disfunzione endoteliale (50): l'infezione parodontale cronica induce l'attivazione o la disfunzione endoteliale attraverso uno stato infiammatorio sistemico posto in evidenza dall'aumento dei livelli plasmatici di proteina di fase acuta, interleuchina (IL)-6 e fibrinogeno (51). Può inoltre verificarsi il rilascio sistemico di prodotti batterici, come vescicole di membrana o gingipains secrete da Pg (52) o componenti solubili rila-

Tabella I - Collegamento tra malattia parodontale e aterosclerosi.

Il collegamento tra malattia parodontale e aterosclerosi: prove e meccanismi		Bibliografia
1. Diffusione sistemica di batteri orali	Le procedure nella cavità orale possono causare batteriemia, portando a infiammazione sistemica e contribuendo allo sviluppo dell'aterosclerosi.	(32) Li X et al.
	La disseminazione batterica mediata dalle cellule immunitarie può verificarsi anche in assenza di malattia parodontale, poiché i batteri orali sono costantemente presenti nella cavità orale e possono essere assorbiti dalle cellule immunitarie.	(41) Carrion J. (42) Zeituni A.E. et al.
	I microcapillari gengivali nel solco gengivale forniscono un percorso diretto per i batteri per entrare nel flusso sanguigno, causando infiammazione sistemica e contribuendo allo sviluppo dell'aterosclerosi.	(40) Takeuchi H. et al.
2. Presenza di batteri orali nel tessuto ateromatoso	L'associazione tra malattia parodontale e aterosclerosi è stata supportata da numerosi studi e suggerisce che la malattia parodontale possa contribuire allo sviluppo dell'aterosclerosi.	(44) Figuero E. et al.
	Sono stati trovati campioni di tessuto ateromatoso contenenti DNA, RNA e antigeni da <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> e <i>Veillonella sp.</i>	(7) Omry Koren et al. (43) Haraszthy V.I. et al.
3. Sopravvivenza dei batteri orali all'interno del tessuto ateromatoso	È stato suggerito che i batteri orali possano essere in grado di sfuggire al sistema immunitario e persistere all'interno del tessuto mediante la formazione di biofilm o interagendo con le cellule ospiti.	(45) Kozarov E. et al.
	La presenza di <i>Porphyromonas gingivalis</i> e <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> vitali all'interno del tessuto ateromatoso fornisce evidenza che questi batteri possono sopravvivere all'interno del tessuto ateromasico.	
	All'interno delle colture di placche ateromasiche sono stati trovati <i>Porphyromonas gingivalis</i> e <i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i> vitali.	

Continua >>>

M. Bucci, R.M. Ricciardi, A. Cipollone, et al.

>>> Continua

Il collegamento tra malattia parodontale e aterosclerosi: prove e meccanismi		Bibliografia
4. Invasione dei batteri orali nelle cellule del tessuto interessato	I batteri orali potrebbero essere in grado di utilizzare adesine o altri fattori di virulenza per attaccare le cellule ospiti e quindi utilizzare sistemi di secrezione per iniettare proteine effettori nella cellula ospite, portando all'invasione.	(46) Deshpande R.G. et al.
	Studi in vitro sull'invasione cellulare di <i>Porphyromonas gingivalis</i> nel tessuto interessato e il contributo allo sviluppo dell'aterosclerosi.	
5. Induzione dell'aterosclerosi da parte dei batteri parodontali in modelli animali	È stato dimostrato che <i>Porphyromonas gingivalis</i> sia in grado di accelerare il processo aterosclerotico in modelli murini.	(47) Lalla E. et al.
	È stato dimostrato che <i>Porphyromonas gingivalis</i> induce lesioni aortiche e coronariche in maiali normocolesterolemici.	(48) Jain A. et al.
	È stato dimostrato che <i>Porphyromonas gingivalis</i> sia in grado di indurre aterosclerosi in maiali ipercolesterolemici a seguito di batteremia ricorrente.	
6. Riduzione del carico di malattia con specie mutanti non invasive di batteri parodontali	Le specie mutanti di <i>Porphyromonas gingivalis</i> con capacità di invasione ridotta non sono in grado di accelerare aterosclerosi nei topi knock-out per il gene Apo-E, essenziale per la funzione del colesterolo ad alta densità (HDL).	(49) Gibson F.C. 3 rd et al.
	Le specie mutanti di <i>Porphyromonas gingivalis</i> con capacità di invasione ridotta non causano accelerazione dell'aterosclerosi in questi topi, suggerendo che la capacità di invasione dei batteri orali possa essere un fattore importante nella loro capacità di contribuire allo sviluppo dell'aterosclerosi.	
	Una capacità di invasione ridotta potrebbe portare a una riduzione dell'infiammazione e dell'attivazione del sistema immunitario, il che a sua volta potrebbe portare a una riduzione dell'aterosclerosi.	
7. I postulati di Koch e il ruolo causativo dei batteri orali nell'aterosclerosi	Il ruolo causale dei batteri orali nell'aterosclerosi non è ancora stato stabilito utilizzando i postulati di Koch.	—
	Il materiale isolato dagli ateromi umani è stato dimostrato essere in grado di causare la malattia in modelli animali di infezione.	
	Dimostrare il ruolo causativo dei batteri orali nell'aterosclerosi è complesso a causa della natura complessa della malattia e dei molteplici fattori di rischio coinvolti.	

sciati da Aa (53). La disfunzione pro-aterogena può essere indotta dall'invasione diretta dei batteri nell'endotelio (39).
L'associazione clinica tra infezione parodontale cronica e aterosclerosi è stata approfondita da Desvarieux attraverso lo studio INVEST, che ha valutato 1056 soggetti senza storia di ictus o infarto miocardico attraverso un prelievo di placca gengivale e misurazione dell'IMT

(spessore intima-media) dell'arteria carotidea con ultrasuoni, da impiegare come marcatore morfologico della progressione dell'aterosclerosi subclinica. Una prima scoperta dell'INVEST nel 2003 ha evidenziato una maggiore prevalenza di placche aterosclerotiche nei pazienti con peggiore stato parodontale (soprattutto negli over 65 (65)). Nel 2005 è stata definita una relazione positiva tra IMT e concentra-

Fattori di rischio e meccanismi immuno-infiammatori che portano all'aterosclerosi

Tabella 2 - Principali review su patogeni orali e metabolismo lipidico.

Review di riferimento	Principali novità
Di Pietro et al. (54)	I patogeni orali promuovono cambiamenti patologici nel metabolismo lipidico.
Kim et al. (55)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ha la capacità di ossidare le lipoproteine producendo due varianti proteasiche diverse chiamate gingipains, Rgp e Kgp.
Ljunggren et al. (56)	Rgp e Kgp sono in grado di indurre la perossidazione lipidica.
Joo et al. (57)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> induce l'ossidazione delle lipoproteine ad alta densità (HDL), compromettendo la funzione ateroprotettiva.
Lönn et al. (58)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> ha una maggiore capacità di ossidare le lipoproteine a bassa densità (LDL) rispetto a <i>C. pneumoniae</i> e <i>M. tuberculosis</i> .
Reyes et al. (59)	I pazienti con PD hanno un profilo alterato delle lipoproteine plasmatiche con modifiche strutturali verso una forma aterogenica.
Saito et al. (60)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> invade e danneggia le cellule endoteliali tramite ICAM-1.
Inagaki et al. (61) Xu et al. (62)	<i>Porphyromonas gingivalis</i> influisce sulla permeabilità dell'endotelio vascolare tramite l'induzione del clivaggio proteolitico di molecole di adesione cellulare.
Farrugia et al. (63)	L'infezione provoca danni diretti alle cellule, con frammentazione mitocondriale e con accelerazione della progressione dell'aterosclerosi.
Oscarsson et al. (64)	Le molecole coinvolte nel clivaggio proteolitico sono principalmente molecole di adesione cellulare endoteliale-1 e VE-caderina.

zioni crescenti di odontopatogeni al basale, in particolare Pg (66). Successivamente, nel 2013, è stata esposta l'associazione tra un miglioramento clinico e microbiologico del parodonto e una minore progressione dell'IMT a 3 anni di follow-up (67).

In tal modo la parodontite è stata identificata come un significativo fattore di rischio per le malattie aterosclerotiche periferiche e carotidee in meta-analisi che includono popolazioni ampie (22-24). Queste osservazioni suggeriscono che la disbiosi del microbiota orale e la parodontite correlata possano svolgere un ruolo nella fisiopatologia delle stesse promuovendo l'infiammazione cronica, la dislipidemia (68), il malfunzionamento dell'endotelio (69), e probabilmente altri processi patologici ancora misconosciuti (70). In particolare, lo stato parodontale complessivo dei pazienti con parodontite si riflette nell'abbondanza relativa di batteri specifici della placca subgingivale nel microbiota salivare (71), suggerendo l'affidabilità del campionamento di quest'ultimo in questo contesto.

Ultime evidenze: focus sull'ipercolesterolemia familiare eterozigote (HeFH)

Nello studio condotto da Curia, Magni e colleghi (72), sono state indagate l'abbondanza dei batteri patogeni parodontali Pg e Fn in pazienti con un precedente evento cardiaco su base aterosclerotica (IM o PCI), con o senza HeFH. I pazienti con ASCVD tendevano ad avere più protesi dentarie fisse (corone e impianti) rispetto ai soggetti sani; questa condizione indica pregresse infezioni, carie e perdita dei denti. I principali risultati suggeriscono che questi pazienti con ASCVD abbiano un'abbondanza significativamente maggiore di Pg rispetto ai soggetti sani e ai soggetti con HeFH in prevenzione primaria, indipendentemente dall'età e dal sesso. È interessante inoltre notare che un BMI inferiore a 30 kg/m² è stato associato a una prevalenza di Pg, indicando un possibile contributo maggiore dell'infiammazione cronica correlata agli eventi aterosclerotici (73, 74), mentre tali modelli pro-infiammatori nei sog-

M. Bucci, R.M. Ricciardi, A. Cipollone, et al.

getti con obesità possono derivare da uno scenario più complesso che può includere anche il ruolo del tessuto adiposo disfunzionale, le adipochine correlate e le citochine pro-infiammatorie (75, 76). Nell'intera coorte dello studio il BMI inoltre è stato correlato negativamente con l'abbondanza di Fn. È stato precedentemente riportato che il numero di batteri orali del complesso rosso (termine che identifica la triade composta da *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythi*, specie collegate nella formazione del biofilm su gengiva normale o in siti patologici e che risulta essere coinvolto nella parodontite aggressiva) era più elevato nei soggetti con alti BMI o circonferenze vita, indipendentemente dalla presenza di parodontite (77). È stata anche proposta una relazione bidirezionale tra obesità e malattia parodontale. I batteri orali potrebbero alterare le funzioni endocrine del tessuto adiposo bruno (78), esacerbare l'infiammazione dovuta all'obesità (79), indurre aumento di peso e nei casi di obesità murina indotta mediante la dieta aumentare il tessuto adiposo attraverso l'endotossiemia (80) e l'attivazione delle cellule immunitarie. L'infiammazione locale, come la parodontite, potrebbe influenzare la regolazione energetica e, allo stesso modo, l'obesità potrebbe aggravare la malattia parodontale (81). Al contrario, la quantità di Fn non è stata associata a pregressi eventi cardiaci e ha mostrato una relazione inversa con il BMI, suggerendo quindi che potrebbe non essere inclusa tra i fattori di rischio per le malattie cardiovascolari. Nella letteratura non è stato ancora riportato alcuna associazione (negativa) di Fn con il BMI, indicando che la nostra osservazione è innovativa. Va notato che proporzioni più elevate di diversi patogeni parodontali, inclusi *Fusobacterium nucleatum* ss *vincentii*, sono state riportate in pazienti obesi con parodontite cronica (82).

È importante sottolineare che la parodontite potrebbe aumentare il rischio di ASCVD, specialmente nei soggetti ad alto rischio come i pazienti con HeFH. Nello studio sopracitato

(72), i pazienti con ASCVD precedentemente diagnosticata hanno mostrato un'abbondanza significativamente maggiore di Pg, ma non sono state osservate differenze nell'abbondanza di Fn, rispetto ai soggetti sani e ai soggetti con HeFH in prevenzione primaria. È interessante notare che la differenza osservata era ancora presente dopo l'esclusione dei (pochi) fumatori da entrambi i gruppi. In seguito sono stati arruolati pazienti aggiuntivi; l'età mediana è risultata statisticamente più alta nei pazienti affetti da malattia cardiovascolare rispetto ai soggetti sani. Dato che l'età mediana di entrambi i gruppi, sebbene significativamente diversa, si estendeva ben oltre i 30 anni, possiamo considerare tale differenza di età come non rilevante dal punto di vista clinico, come dimostrato dall'analisi di confronto. Inoltre, è stato recentemente riportato che, in una coorte di giovani di 32 anni, una maggiore proporzione di Pg nei siti sub-gengivali era presente nella popolazione femminile rispetto alla maschile (83). La maggior parte dei pazienti reclutati, sia in prevenzione primaria che secondaria, era in trattamento con statine, che è stato dimostrato essere associato a una minore prevalenza di disbiosi del microbiota intestinale (84).

Nel sottogruppo di pazienti con HeFH in prevenzione secondaria, è stata osservata un'abbondanza di Pg maggiore rispetto a quella dei pazienti in prevenzione secondaria ma non affetti da HeFH. Anche se non è possibile correlare causalmente la prevalenza di Pg con l'insorgenza di ASCVD, si può ipotizzare che la presenza concomitante di ceppi odontopatogeni abbondanti, come Pg, se presente per anni, abbia potuto contribuire a un ulteriore aumento del rischio di ASCVD nei soggetti con HeFH, già di per sé condizione ad alto rischio. A supporto di questa ipotesi, nel gruppo di HeFH in prevenzione primaria, non sono state riscontrate differenze nell'abbondanza di Pg e Fn rispetto ai soggetti sani. Questo potrebbe indicare che il Pg giochi un ruolo di FR indipendente per lo sviluppo di ASCVD.

Fattori di rischio e meccanismi immuno-infiammatori che portano all'aterosclerosi

L'infezione orale da Pg potrebbe avere giocato un ruolo nella patogenesi delle malattie cardiovascolari aumentando l'infiammazione sistemica e deteriorando il metabolismo lipidico, particolarmente nel contesto di pazienti ad alto rischio o con HeFH. Un aumento simile di LDL-C nel siero altererebbe la concentrazione di colesterolo nella membrana cellulare e nel citoplasma dei macrofagi, il che potrebbe influenzare ulteriormente il riconoscimento di Pg da parte delle cellule immunitarie. La produzione aumentata di fattore di necrosi tumorale (TNF), interleuchina-6 (IL-6), proteina chemiotattica dei monociti-1 e sintetasi di ossido nitrico inducibile (iNOS) potrebbe facilitare anche la colonizzazione e la proliferazione di Pg nella cavità orale nell'ospite iperlipidemico (85).

È stata anche proposta una relazione tra l'infarto miocardico e un aumento degli anticorpi verso Pg nei pazienti con parodontite in prevenzione secondaria (86).

Al contrario Fn, pur avendo un ruolo segnalato nelle malattie tumorali, non sembra avere un'associazione con la malattia cardiovascolare aterosclerotica (87, 88). In ogni caso, il ruolo di Fn nell'aterosclerosi e nelle malattie cardiovascolari rimane controverso (89, 90) e necessita di ulteriori studi clinici.

Secondo i risultati dello studio di Curia, Magni e colleghi (72), rimane da stabilire se l'aumento dell'abbondanza di Pg osservato nei pazienti con ASCVD, ma non nei soggetti sani o nei pazienti con HeFH in prevenzione primaria, sia una conseguenza piuttosto che una causa di ASCVD. In alternativa, questo aumento di Pg potrebbe manifestarsi gradualmente con il deterioramento dell'omeostasi cardiovascolare. Pg potrebbe avere un ruolo patogenetico accelerando più che causando un processo patologico che è già stato attivato, come proposto da Maekawa et al. (76).

Si ipotizza a tal punto la possibilità di un equilibrio tra la prevalenza di Pg e Fn: più labile è, peggiore sarà la salute orale e cardiovascolare del soggetto.

Valutazione della salute orale e dell'infiammazione a basso grado nelle future strategie di rilevamento del rischio cardiovascolare

Le attuali evidenze di rete di interconnessione tra disbiosi orale, infiammazione e rischio cardiovascolare hanno diverse importanti implicazioni cliniche. Una considerazione clinica generale è che la comunicazione interdiscipli-

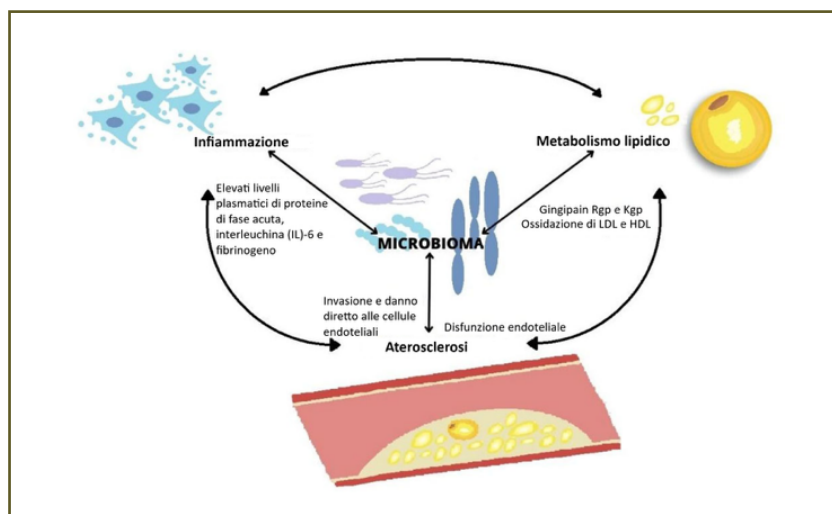


Figura 1
Interconnessione tra microbioma, infiammazione, metabolismo lipidico e aterosclerosi.

M. Bucci, R.M. Ricciardi, A. Cipollone, et al.

nare tra odontoiatri e clinici che si occupano di patologie cardiometaboliche dovrebbe essere rafforzata, portando i primi ad invitare i loro pazienti a sottoporsi a una valutazione cardiovascolare e, viceversa, i secondi a prendersi cura della loro salute orale, soprattutto in presenza di parodontite e altri disturbi del cavo orale. Un ulteriore passo potrebbe essere la valutazione contemporanea dello stato di salute del cavo orale e della presenza di infiammazione cronica a basso grado nel contesto di future strategie di valutazione e riduzione del rischio cardiovascolare (*Figura 1*).

La possibilità di integrare il campionamento del microbiota orale nella pratica clinica, alla luce del crescente supporto della letteratura, potrebbe agevolare la valutazione del rischio cardiovascolare e persino modificare la prognosi. Come visto nello studio di Curia, Magni et al è stata indagata la disbiosi orale e la sua

relazione con precedenti ASCVD in pazienti rischio alto o molto alto di CVD, con o senza HeFH, rispetto a pazienti sani rilevando che una maggiore prevalenza orale di Pg è presente nei pazienti a rischio molto elevato con ASCVD diagnosticata in precedenza e suggerendo una potenziale relazione con gli eventi cardiovascolari. D'altro canto, anche se al momento i risultati sono contrastanti, le intuizioni su marcatori infiammatori più specifici rispetto all'hsCRP, come ad esempio il recettore del plasminogeno attivatore dell'urochinasi solubile (suPAR), e le nuove tecniche di monitoraggio saranno probabilmente la prossima innovazione nella valutazione del rischio cardiovascolare. Tutti questi dati nel loro insieme aprono le porte ad un nuovo orizzonte della prevenzione cardiovascolare in cui il microbiota orale e la cura della salute orale potrebbero svolgere un ruolo cruciale.

RIASSUNTO

Le malattie cardiovascolari (CVD), tra cui l'infarto del miocardio e l'ictus, sono attualmente la principale causa di morbilità, disabilità e mortalità a livello mondiale. Recentemente, i ricercatori hanno concentrato la loro attenzione sulle alterazioni del microbiota intestinale e orale, indagando sul possibile ruolo della loro disbiosi nella patogenesi e/o nella progressione delle CVD. A questo proposito, è stato dimostrato che la disfunzione endoteliale, una delle principali caratteristiche della CVD, può essere indotta anche dall'infezione parodontale cronica, a causa di una condizione pro-infiammatoria sistemica, come suggerito dall'aumento dei livelli plasmatici di proteine della fase acuta, IL-6 e fibrinogeno. Inoltre, le disfunzioni proaterogene possono essere promosse anche dall'invasione batterica diretta dell'endotelio. Questa rassegna riporta le attuali evidenze sul possibile ruolo della disbiosi del microbiota orale e delle relative componenti immunoinfiammatorie nella fisiopatologia dell'aterosclerosi e della CVD associata. A conclusione, l'integrazione del campionamento del microbiota orale nella pratica clinica può portare a una valutazione più accurata del rischio CV nei pazienti e persino modificare la loro prognosi.

Parole chiave: *Aterosclerosi, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum, ipercolesterolemia familiare eterozigotica, prevenzione cardiovascolare secondaria.*

Bibliografia

1. Cardiovascular Diseases (CVDs). Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-cvds> (accessed on 22 July 2022).
2. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, De Bacquer D, Ducimetière P, Jousilahti P, Keil U, Njølstad I, Oganov RG, Thomsen T, Tunstall-Pedoe H, Tverdal A, Wedel H, Whincup P, Wilhelmsen L, Graham IM. SCORE project group. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: The SCORE project. Eur Heart J. 2003; 24: 987-1003. [https://doi.org/10.1016/S0195-668X\(03\)00114-3](https://doi.org/10.1016/S0195-668X(03)00114-3).
3. Falk, E. Pathogenesis of atherosclerosis. J. Am. Coll. Cardiol. 2006; 47 (Suppl. S8), C7-C12. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.09.068>.

Fattori di rischio e meccanismi immuno-infiammatori che portano all'aterosclerosi

4. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J (Eds.). Pathogenesis, prevention and treatment of Atherosclerosis. In Harrison's Principles of Internal Medicine, 19th ed; The McGraw-Hill Companies, Inc.: New York, NY, USA. 2017; Chapter 291.
5. Futema M, Bourbon M, Williams M, Humphries SE. Clinical utility of the polygenic LDL-C SNP score in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2018; 277: 457-463.
6. Khera AV, Won HH, Peloso GM, Lawson KS, Bartz TM, Deng X, van Leeuwen EM, Natarajan P, Emdin CA, Bick AG, et al. Diagnostic Yield of Sequencing Familial Hypercholesterolemia Genes in Severe Hypercholesterolemia. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2016; 67: 2578-2589.
7. Koren O, Spor A, Felin J, Fåk F, Stombaugh J, Tremaroli V, Behre CJ, Knight R, Fagerberg B, Ley RE, Bäckhed F. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011. 108; (Suppl. S1), 4592-4598. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011383107>.
8. Ross R. Atherosclerosis-An inflammatory disease. *N. Engl. J. Med*. 1999; 340: 115126.
9. Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of *Pneumococcus*. *J. Exp. Med*. 1930; 52: 561571.
10. Sabatine MS, Morrow DA, Jablonski KA, Rice MM, Warnica JW, Domanski MJ, Hsia J, Gersh BJ, Rifai N, Ridker PM, Pfeffer MA, Braunwald E. PEACE Investigators. Prognostic significance of the Centers for Disease Control/ American Heart Association high-sensitivity C-reactive protein cut points for cardiovascular and other outcomes in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*. 2007; 115: 15281536.
11. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N. Engl. J. Med*. 1997; 336: 973979.
12. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GD, Pepys MB, Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N. Engl. J. Med*. 2004; 350: 13871397.
13. Miller DT, Zee RY, Suk Danik J, Kozlowski P, Chasman DI, Lazarus R, Cook NR, Ridker PM, Kwiatkowski DJ. Association of common CRP gene variants with CRP levels and cardiovascular events. *Ann. Hum. Genet*. 2005; 69: 623638.
14. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ; JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N. Engl. J. Med*. 2008; 359: 2195-2207.
15. Jain M, Ridker P. Anti-Inflammatory Effects of Statins: Clinical Evidence and Basic Mechanisms. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2005; 4: 977-987.
16. Baragetti A, Catapano AL, Magni P. Multifactorial Activation of NLRP3 Inflammasome: Relevance for a Precision Approach to Atherosclerotic Cardiovascular Risk and Disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2020; 21: 4459.
17. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, Kastelein JJP, Cornel JH, Pais P, Pella D, Genest J, Cifkova R, Lorenzatti A, Forster T, Kobalava Z, Vida-Simiti L, Flather M, Shimokawa H, Ogawa H, Dellborg M, Rossi PRF, Troquay RPT, Libby P, Glynn RJ; CANTOS Trial Group. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N. Engl. J. Med*. 2017; 377: 1119-1131.
18. Cicolari S, Catapano AL, Magni P. Inflammaging and neurodegenerative diseases: Role of NLRP3 inflammasome activation in brain atherosclerotic vascular disease. *Mech. Aging Dev*. 2021; 195: 111467.
19. Bermúdez V, Rojas-Quintero J, Velasco M. The quest for immunotherapy in atherosclerosis: CANTOS study, interleukin-1 and vascular inflammation. *J. Thorac. Dis*. 2018; 10: 64-69.
20. Kong P, Cui ZY, Huang XF, Zhang DD, Guo RJ, Han M. Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention. *Signal Transduct. Target. Ther*. 2022; 7: 131. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00955-7>.
21. Gearing AJ, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today*. 1993; 14: 506-512. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(93\)90267-O](https://doi.org/10.1016/0167-5699(93)90267-O).
22. Zeng XT, Leng WD, Lam YY, Yan BP, Wei XM, Weng H, Kwong JS. Periodontal disease and carotid atherosclerosis: A meta-analysis of 17,330 participants. *Int. J. Cardiol*. 2016; 203: 1044-1051.
23. Wang J, Geng X, Sun J, Zhang S, Yu W, Zhang X, Liu H. The risk of periodontitis for peripheral vascular disease: A systematic review. *Rev. Cardiovasc. Med*. 2019; 20: 81-89.
24. Kaschwich M, Behrendt CA, Heydecke G, Bayer A, Debus ES, Seedorf U, Aarabi G. The Association of Periodontitis and Peripheral Arterial Occlusive Disease-A Systematic Review. *Int. J. Mol. Sci*. 2019; 20: 2936.
25. Tang WH, Kitai T, Hazen SL. Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circ. Res*. 2017; 120: 1183-1196.
26. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: A proposal. *Microbiome*. 2015; 3: 31.
27. Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cell Microbiol*. 2014; 16: 1024-1033.
28. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad.*

- Sci. USA. 2007; 104: 13780-13785.
29. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, Nielsen J, Bäckhed F. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013; 498: 99-103.
 30. Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, Jenmalm MC. Low gut microbiota diversity in early infancy precedes asthma at school age. *Clin. Exp. Allergy*. 2014; 44: 842-850.
 31. Parracho HM, Bingham MO, Gibson GRMc, Cartney AL. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J. Med. Microbiol.* 2005; 54: 987-991.
 32. Li X, Kolltveit KM, Tronstad L, Olsen I. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 2000; 13: 547-558.
 33. Lockhart PB, Brennan MT, Sasser HC, Fox PC, Paster BJ, Bahrani-Mougeot FK. Bacteremia associated with toothbrushing and dental extraction. *Circulation* 2008; 117: 3118-3125.
 34. Leishman SJ, Do HL, Ford PJ. Cardiovascular disease and the role of oral bacteria. *J. Oral Microbiol.* 2010; 2: 5781.
 35. Bui FQ, Almeida-da-Silva CLC, Huynh B, Trinh A, Liu J, Woodward J, Asadi H, Ojcius DM. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed. J.* 2019; 42: 27-35. ISSN 2319-4170.
 36. Mattila KJ, Nieminen MS, Valtonen VV, Rasi VP, Kesäniemi YA, Syrjälä SL, Jungell PS, Isolomaa M, Hietaniemi K, Jokinen MJ. Association between dental health and acute myocardial infarction. *BMJ*. 1989; 298: 779-781.
 37. Keijser BJ, Zaura E, Huse SM, van der Vossen JM, Schuren FH, Montijn RC, ten Cate JM, Crielaard W. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J. Dent. Res.* 2008; 87: 1016-1020.
 38. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2017; 3: 17038. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>.
 39. Reyes L, Herrera D, Kozarov E, Roldán S, Progulske-Fox A. Periodontal bacterial invasion and infection: Contribution to atherosclerotic pathology. *J. Clin. Periodontol.* 2013; 40 (Suppl. S14): S30-S50.
 40. Takeuchi H, Furuta N, Morisaki I, Amano A. Exit of intracellular *Porphyromonas gingivalis* from gingival epithelial cells is mediated by endocytic recycling pathway. *Cell. Microbiol.* 2011; 13: 677-691.
 41. Carrion J, Scisci E, Miles B, Sabino GJ, Zeituni AE, Gu Y, Bear A, Genco CA, Brown DL, Cutler CW. Microbial carriage state of peripheral blood dendritic cells (DCs) in chronic periodontitis influences DC differentiation, atherogenic potential. *J. Immunol.* 2012; 189: 3178-3187.
 42. Zeituni AE, Jotwani R, Carrion J, Cutler CW. Targeting of DC-SIGN on human dendritic cells by minor fimbriated *Porphyromonas gingivalis* strains elicits a distinct effector T cell response. *J. Immunol.* 2009; 183: 5694-5704.
 43. Haraszthy VI, Hariharan G, Tinoco EM, Cortelli JR, Lally ET, Davis E, Zambon JJ. Evidence for the role of highly leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of localized juvenile and other forms of early-onset periodontitis. *J. Periodontol.* 2000; 71: 912-922.
 44. Kozarov E, Dorn B, Shelburne C, Dunn W, Progulske-Fox A. Human atherosclerotic plaque contains viable invasive *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: e17-e18.
 45. Figuero E, Sanchez-Beltran M, Cuesta-Frechoso S, Tejerina JM, del Castro JA, Gutierrez JM, Herrera D, Sanz M. Detection of periodontal bacteria in atheromatous plaque by nested polymerase chain reaction. *J. Periodontol.* 2011; 82: 1469-1477.
 46. Deshpande RG, Khan MB, Genco CA. Invasion of aortic and heart endothelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect. Immun.* 1998; 66: 5337-5343.
 47. Lalla E, Lamster IB, Hofmann MA, Bucciarelli L, Jerud AP, Tucker S, Lu Y, Papapanou PN, Schmidt AM. Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003; 23: 1405-1411.
 48. Jain A, Batista EL, Jr Serhan C, Stahl GL, Van Dyke TE. Role for periodontitis in the progression of lipid deposition in an animal model. *Infect. Immun.* 2003; 71: 6012-6018.
 49. Gibson FC, 3rd Hong C, Chou HH, Yumoto H, Chen J, Lien E, Wong J, Genco CA. Innate immune recognition of invasive bacteria accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2004; 109: 2801-2806.
 50. Vita JA, Loscalzo J. Shouldering the risk factor burden: Infection, atherosclerosis, and the vascular endothelium. *Circulation*. 2002; 106: 164-166.
 51. Buhlin K, Hultin M, Norderyd O, Persson L, Pockley AG, Rabe P, Klinge B, Gustafsson A. Risk factors for atherosclerosis in cases with severe periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 2009; 36: 541-549.
 52. Fitzpatrick RE, Wijeyewickrema LC, Pike RN. The gingipains: Scissors and glue of the periodontal pathogen, *Porphyromonas gingivalis*. *Future Microbiol.* 2009; 4: 471-487.
 53. Czerniuk MR, Surma S, Romańczyk M, Nowak JM, Wojtowicz A, Filipiak KJ. Unexpected Relationships: Periodontal Diseases: Atherosclerosis-Plaque Destabilization? From the Teeth to a Coronary Event. *Biology*. 2022; 11: 272. <https://doi.org/10.3390/biol11020272>.
 54. Di Pietro M, Filardo S, Falasca F, Turriziani O, Sessa R. Infectious agents in atherosclerotic cardiovascular diseases through oxidative stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18: 2459.

Fattori di rischio e meccanismi immuno-infiammatori che portano all'aterosclerosi

55. Kim HJ, Cha GS, Kim HJ, Kwon EY, Lee JY, Choi J, Joo JY. Porphyromonas gingivalis accelerates atherosclerosis through oxidation of high-density lipoprotein. *J. Periodontal. Implant. Sci.* 2018; 48: 60-68.
56. Ljunggren S, Bengtsson T, Karlsson H, Starkhammar Johansson C, Palm E, Nayeri F, Ghafouri B, Davies J, Svensäter G, Lönn J. Modified lipoproteins in periodontitis: A link to cardiovascular disease? *Biosci. Rep.* 2019; 39: BSR20181665.
57. Joo JY, Cha GS, Chung J, Lee JY, Kim SJ, Choi J. Peptide 19 of Porphyromonas gingivalis heat shock protein is a potent inducer of low-density lipoprotein oxidation. *J. Periodontol.* 2017; 88: 58-64.
58. Lönn J, Ljunggren S, Klarström-Engström K, Demirel I, Bengtsson T, Karlsson H. Lipoprotein modifications by gingipains of Porphyromonas gingivalis. *J. Periodontal. Res.* 2018; 53: 403-413.
59. Reyes L, Getachew H, Dunn WA, Progulsk-Fox A. Porphyromonas gingivalis W83 traffics via ICAM1 in microvascular endothelial cells and alters capillary organization in vivo. *J. Oral Microbiol.* 2020; 12: 1742528.
60. Saito A, Inagaki S, Kimizuka R, Okuda K, Hosaka Y, Nakagawa T, Ishihara K. Fusobacterium nucleatum enhances invasion of human gingival epithelial and aortic endothelial cells by Porphyromonas gingivalis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2008; 54: 349-355.
61. Inagaki S, Onishi S, Kuramitsu HK, Sharma A. Porphyromonas gingivalis vesicles enhance attachment, and the leucine-rich repeat BspA protein is required for invasion of epithelial cells by "Tannerella forsythia". *Infect. Immun.* 2006; 74: 5023-5028.
62. Xu T, Dong Q, Luo Y, Liu Y, Gao L, Pan Y, Zhang D. Porphyromonas gingivalis infection promotes mitochondrial dysfunction through Drp1-dependent mitochondrial fission in endothelial cells. *Int. J. Oral Sci.* 2021; 13: 28.
63. Farrugia C, Stafford GP, Potempa J, Wilkinson RN, Chen Y, Murdoch C, Widziolek M. Mechanisms of vascular damage by systemic dissemination of the oral pathogen Porphyromonas gingivalis. *FEBS J.* 2021; 288: 1479-1495.
64. Oscarsson J, Karched M, Thay B, Chen C, Asikainen S. Proinflammatory effect in whole blood by free soluble bacterial components released from planktonic and biofilm cells. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 206.
65. Desvarieux M, Demmer RT, Rundek T, Boden-Albala B, Jacobs DR Jr, Papapanou PN, Sacco RL; Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST). Relationship between periodontal disease, tooth loss, and carotid artery plaque: The Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST). *Stroke.* 2003; 34: 2120-2125.
66. Desvarieux M, Demmer RT, Rundek T, Boden-Albala B, Jacobs DR Jr, Sacco RL, Papapanou PN. Periodontal microbiota and carotid intima-media thickness: The Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study (INVEST). *Circulation* 2005; 111: 576-582. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000154582.37101.15>.
67. Desvarieux M, Demmer RT, Jacobs DR, Papapanou PN, Sacco RL, Rundek T. Changes in clinical and microbiological periodontal profiles relate to progression of carotid intima-media thickness: The Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology study. *J. Am. Heart Assoc.* 2013; 2: e000254.
68. Pussinen PJ, Jauhiainen M, Vilkuna-Rautiainen T, Sundvall J, Vesanen M, Mattila K, Palosuo T, Alfthan G, Asikainen S. Periodontitis decreases the antiatherogenic potency of high density lipoprotein. *J. Lipid Res.* 2004; 45: 139-147.
69. Zhang J, Xie M, Huang X, Chen G, Yin Y, Lu X, Feng G, Yu R, Chen L. The Effects of. *Front. Immunol.* 2021; 12: 766560.
70. Pietiäinen M, Liljestrand JM, Kopra E, Pussinen PJ. Mediators between oral dysbiosis and cardiovascular diseases. *Eur. J. Oral Sci.* 2018; 126 (Suppl. S1): 26-36.
71. Kageyama S, Takeshita T, Asakawa M, Shibata Y, Takeuchi K, Yamanaka W, Yamashita Y. Relative abundance of total subgingival plaque-specific bacteria in salivary microbiota reflects the overall periodontal condition in patients with periodontitis. *PLoS ONE.* 2017; 12: e0174782.
72. Curia MC, Pignatelli P, D'Antonio DL, D'Ardes D, Olmastroni E, Scorpiglione L, Cipollone F, Catapano AL, Piattelli A, Bucci M, et al. Oral Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum Abundance in Subjects in Primary and Secondary Cardiovascular Prevention, with or without Heterozygous Familial Hypercholesterolemia. *Biomedicines.* 2022; 10: 2144. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092144>
73. Matsushita K, Hamaguchi M, Hashimoto M, Yamazaki M, Yamazaki T, Asai K, Yamori M, Bessho K, Toda H, Hasegawa G, et al. The novel association between red complex of oral microbe and body mass index in healthy Japanese: A population based cross-sectional study. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2015; 57: 135-139. [CrossRef].
74. Akherati M, Shafaei E, Salehiniya H, Abbaszadeh H. Comparison of the frequency of periodontal pathogenic species of diabetics and non-diabetics and its relation to periodontitis severity, glycemic control and body mass index. *Clin. Exp. Dent. Res.* 2021; 7: 1080-1088. [CrossRef]
75. Neeland IJ, Ross R, Després JP, Matsuzawa Y, Yamashita S, Shai I, Seidell J, Magni P, Santos RD, Arsenault, B, et al. Visceral and ectopic fat, atherosclerosis, and cardiometabolic disease: A position statement. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2019; 7: 715-725. [CrossRef]
76. Magni P, Dozio E, Ruscica M, Celotti F, Masini MA, Prato P, Broccoli M, Mambro A, Morè M, Strollo F. Feeding behavior in mammals including humans. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2009; 1163: 221-232. [CrossRef].

M. Bucci, R.M. Ricciardi, A. Cipollone, et al.

77. Maekawa T, Takahashi N, Tabeta K, Aoki Y, Miyashita H, Miyauchi S, Miyazawa H, Nakajima T, Yamazaki K. Chronic oral infection with *Porphyromonas gingivalis* accelerates atheroma formation by shifting the lipid profile. *PLoS ONE*. 2011; 6: e20240. [CrossRef] [PubMed].
78. Hatasa M, Ohsugi Y, Katagiri S, Yoshida S, Niimi H, Morita K, Tsuchiya Y, Shimohira T, Sasaki N, Maekawa S, et al. Endotoxemia by *Porphyromonas gingivalis* Alters Endocrine Functions in Brown Adipose Tissue. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2021; 10: 580577. [CrossRef].
79. Nakarai H, Yamashita A, Nagayasu S, Iwashita M, Kumamoto S, Ohya H, Hata M, Soga Y, Kushiyaama A, Asano T, et al. Adipocyte-macrophage interaction may mediate LPS-induced low-grade inflammation: Potential link with metabolic complications. *Innate Immun*. 2012; 18: 164-170. [CrossRef] [PubMed].
80. Sasaki N, Katagiri S, Komazaki R, Watanabe K, Maekawa S, Shiba T, Udagawa S, Takeuchi Y, Ohtsu A, Kohda T, et al. Endotoxemia by *Porphyromonas gingivalis* Injection Aggravates Non-alcoholic Fatty Liver Disease, Disrupts Glucose/Lipid Metabolism, and Alters Gut Microbiota in Mice. *Front. Microbiol*. 2018; 9: 2470. [CrossRef] [PubMed].
81. Charupinijkul A, Arunyanak S, Rattanasiri S, Vathesatogkit P, Thienpramuk L, Lertpimonchai A. The effect of obesity on periodontitis progression: The 10-year retrospective cohort study. *Clin. Oral Investig*. 2022; 26: 535-542. [CrossRef].
82. Maciel S, Feres M, Gonçalves T, Zimmermann G, da Silva H, Figueiredo L, Duarte P. Does obesity influence the subgingival microbiota composition in periodontal health and disease? *J. Clin. Periodontol*. 2016; 43: 1003-1012. [CrossRef] [PubMed] *Biomedicines* 2022; 10: 2144 13 of 13.
83. Benn AML, Heng NCK, Thomson WM, Sissons CH, Gellen LS, Gray AR, Broadbent JM. Associations of sex, oral hygiene and smoking with oral species in distinct habitats at age 32 years. *Eur. J. Oral Sci*. 2022; 130: e12829. [CrossRef].
84. Vieira-Silva S, Falony G, Belda E, Nielsen T, Aron-Wisnewsky J, Chakaroun R, Forslund SK, Assmann K, Valles-Colomer M, Nguyen TTD, et al. Statin therapy is associated with lower prevalence of gut microbiota dysbiosis. *Nature*. 2020; 581: 310-315. [CrossRef].
85. Lei L, Li H, Yan F, Xiao Y. Hyperlipidemia impaired innate immune response to periodontal pathogen *porphyromonas gingivalis* in apolipoprotein E knockout mice. *PLoS ONE*. 2013; 8: e71849. [CrossRef].
86. Holmlund A, Hedin M, Pussinen P, Lerner U, Lind L. *Porphyromonas gingivalis* (Pg) a possible link between impaired oral health and acute myocardial infarction. *Int. J. Cardiol*. 2011; 148: 148-153. [CrossRef] [PubMed].
87. Pignatelli P, Iezzi L, Pennese M, Raimondi P, Cichella A, Bondi D, Grande R, Cotellesse R, Di Bartolomeo N, Innocenti P, et al. The Potential of Colonic Tumor Tissue. *Cancers* 2021; 13: 1032. [CrossRef] [PubMed].
88. Gholizadeh P, Eslami H, Kafil H. Carcinogenesis mechanisms of *Fusobacterium nucleatum*. *Biomed. Pharmacother*. 2017; 89: 918-925. [CrossRef].
89. Velsko IM, Chukkapalli SS, Rivera-Kweh MF, Chen H, Zheng D, Bhattacharyya I, Gangula PR, Lucas AR, Kesavalu L. *Fusobacterium nucleatum* Alters Atherosclerosis Risk Factors and Enhances Inflammatory Markers with an Atheroprotective Immune Response in ApoE(null) Mice. *PLoS ONE* 2015; 10: e0129795. [CrossRef].
90. Lee HR, Jun HK, Kim HD, Lee SH, Choi BK. *Fusobacterium nucleatum* GroEL induces risk factors of atherosclerosis in human microvascular endothelial cells and ApoE(-/-) mice. *Mol. Oral Microbiol*. 2012; 27: 109-123. [CrossRef] [PubMed].

NOTIZIE DA CONGRESSI INTERNAZIONALI

EAS 2024

MANUELA CASULA

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

*Nel mese di maggio 2024, si è tenuto a Lione il meeting annuale
della European Atherosclerosis Society (EAS).*

**Benefici del silenziamento genico
con Zodasiran nell'iperlipidemia**

Secondo i ricercatori dello studio ARCHES-2, il farmaco zodasiran, small interfering RNA (siRNA) che ha come bersaglio il gene ANGPTL3, abbassa sostanzialmente i trigliceridi e altre lipoproteine in pazienti con iperlipidemia mista stabilizzati con una terapia ottimale a base di statine. Questi dati supportano l'ulteriore sviluppo di zodasiran nei trial di fase 3, tra i quali uno studio sugli esiti cardiovascolari.

La proteina ANGPTL3 regola il metabolismo inibendo le lipoproteine e le lipasi endoteliali. È stato dimostrato che le varianti con perdita di funzione aumentano l'attività della lipasi, con conseguente riduzione dei livelli di lipidi e del rischio di malattie cardiovascolari aterosclerotiche, senza effetti avversi apparenti. La combinazione di riduzioni dei trigliceridi, del colesterolo LDL, del colesterolo residuo e dell'apolipoproteina B dovrebbe diminuire in mo-

do significativo il rischio cardiovascolare dei pazienti con dislipidemia mista. Inoltre, le riduzioni del contenuto di grasso epatico osservate con zodasiran sono interessanti e suggeriscono la possibilità di un effetto positivo sulla malattia epatica steatosica associata a disfunzione metabolica.

Il precedente studio di fase 2 GATEWAY aveva dimostrato che zodasiran riduceva marcatamente i livelli di colesterolo LDL nei pazienti con ipercolesterolemia familiare omozigote, del 44%-48%, a seconda della dose somministrata.

Lo studio ARCHES-2, di fase 2b, ha coinvolto pazienti con iperlipidemia mista che presentavano livelli di trigliceridi a digiuno compresi tra 150 e 499 mg/dL e un livello di colesterolo LDL ≥ 70 mg/dL o un livello di HDL ≥ 100 mg/dL. I pazienti erano inoltre sottoposti a una terapia statinica ottimale e stabile. Dopo un periodo di massimo 6 settimane, i partecipanti sono stati randomizzati a zodasiran 50 mg, 100 mg, o

Indirizzo per la corrispondenza

Manuela Casula
manuela.casula@unimi.it

M. Casula

200 mg o a placebo, con iniezioni somministrate al basale e alla settimana 12. L'end point primario era rappresentato dalla variazione percentuale dei livelli di trigliceridi dal basale alla settimana 24. A tutti i partecipanti allo studio è stata poi offerta la possibilità di partecipare a un'estensione in aperto dopo 36 settimane di follow-up.

Nello studio di estensione, tutte e tre le dosi di zodasiran sono state associate a riduzioni sostanziali e durature dei livelli di ANGPTL3 rispetto al basale, con una differenza media rispetto al placebo a 24 settimane del 54% con la dose da 50 mg, del 70% con la dose da 100 mg e del 74% con la dose da 200 mg, che sono state ampiamente mantenute a 36 settimane. Queste riduzioni si associano a riduzioni dose-dipendenti dei trigliceridi rispetto al basale, con una differenza media rispetto al placebo a 24 settimane del 51% con la dose da 50 mg, del 57% con la dose da 100 mg e del 63% con la dose da 200 mg, mantenuta anche in questo caso fino a 36 settimane. Riduzioni simili sono state osservate nei livelli di colesterolo residuo, colesterolo non-HDL, colesterolo LDL e livelli di apolipoproteina B, anche se le riduzioni sono state meno consistenti e con minori probabilità di essere mantenute fino a 36 settimane.

Tra i 61 pazienti con steatosi epatica superiore all'8% al basale, zodasiran ha portato a una riduzione mediana del grasso epatico rispetto al placebo alla settimana 24 del 10% con la dose da 50 mg, del 16% con la dose da 100 mg e del 27% con la dose da 200 mg.

Più pazienti raggiungono il target lipidico con il nuovo inibitore di PCSK9

Lerodalcibep, un nuovo inibitore di terza generazione della proteina convertasi subtilisina/kexina di tipo 9 (PCSK9), aiuta i pazienti ad alto rischio che già ricevono statine alla massima dose tollerata a raggiungere gli obiettivi lipidici previsti dalle linee guida.

Lerodalcibep è una piccola proteina di fusione ricombinante che combina un dominio legante la PCSK9 con l'albumina sierica umana. Il dominio di legame blocca l'interazione tra PCSK9 e il recettore del colesterolo LDL, mentre il legame con l'albumina aumenta l'emivita a 12-15 giorni, consentendo di effettuare iniezioni ogni 4 settimane.

Un precedente studio di fase 2 ha suggerito che lerodalcibep riduce sostanzialmente i livelli di colesterolo LDL nei pazienti che già assumono statine massimamente tollerate. La dose di 300 mg è stata associata a una riduzione media dei livelli di colesterolo LDL rispetto al basale del 77% in 12 settimane, mentre i livelli di PCSK9 libera sono diminuiti dell'88%.

Nello studio LIBerate-CVD, randomizzato e controllato con placebo, condotto su oltre 900 pazienti, lerodalcibep ha portato a una riduzione dei livelli di colesterolo LDL superiore al 60% rispetto al basale. La riduzione del colesterolo LDL in questo studio di fase 3 è in linea con quanto osservato in LIBerate-FH.

L'attuale studio di fase 3 ha arruolato in 65 centri di 100 Paesi persone che avevano o erano ad altissimo rischio di malattie cardiovascolari e che avevano un livello di colesterolo LDL ≥ 70 mg/dL nonostante l'assunzione di statine massimamente tollerate. I partecipanti allo studio sono stati randomizzati in rapporto 2:1 a ricevere mensilmente lerodalcibep per via sottocutanea (n = 614) o placebo (n = 308) per 52 settimane, e sono stati valutati per gli endpoint co-primari della variazione percentuale dei livelli di colesterolo LDL dal basale alla settimana 52 e della media dei livelli alle settimane 50 e 52. In un'analisi *intention-to-treat*, la riduzione media dei livelli di colesterolo LDL rispetto al basale con lerodalcibep è stata del 62% alla settimana 52 ($P < .0001$) e la media dei livelli alle settimane 50 e 52 è stata del 69,4% ($P < .0001$). Inoltre, il 98,2% dei pazienti del gruppo lerodalcibep ha raggiunto la riduzione dei livelli di colesterolo LDL raccomandata dall'ESC e dall'EAS, pari a $\geq 50\%$,

mentre solo l'8,8% del gruppo placebo ha raggiunto tale obiettivo.

I risultati sulla sicurezza mostrano una buona tolleranza del farmaco; le reazioni al sito di iniezione sono l'unico evento avverso degno di nota nel gruppo di trattamento. Solo un numero limitato di pazienti ha sviluppato anticorpi neutralizzanti, che non hanno influito sull'efficacia di lerodalcibep. Tuttavia, dato che la terapia dovrebbe essere somministrata per anni, è necessaria un'analisi a lungo termine per escludere la preoccupazione che una piccola percentuale di anticorpi neutralizzanti possa ridurre l'efficacia.

Se approvato, lerodalcibep potrebbe diventare un'opzione di prima linea nel percorso di trattamento nei soggetti ad alto rischio cardiovascolare, perché l'efficacia è simile a quella di altri inibitori iniettabili della PCSK9. Poiché il meccanismo d'azione è simile a quello di altri anticorpi monoclonali, non esiste un razionale farmacologico per utilizzarlo dopo un altro inibitore della PCSK9.

Efficacia dell'acido bempedoico nei pazienti affetti da obesità

L'acido bempedoico è sicuro per le persone affette da obesità ed è efficace nel ridurre i livelli di lipidi e i tassi di eventi cardiovascolari maggiori, secondo un'analisi prespecificata dei dati dello studio CLEAR Outcomes.

La ricerca ha dimostrato che tra quasi 6200 persone affette da obesità, l'inibitore dell'adenosina trifosfato-citrato liasi è stato associato a una riduzione del 23% dell'end point composito di eventi cardiovascolari avversi maggiori rispetto al placebo.

I soggetti obesi hanno un rischio maggiore rispetto ai pazienti non obesi e possono avere problemi legati alle comorbidità, agli effetti avversi del trattamento e persino all'efficacia della terapia. L'acido bempedoico si è dimostrato sicuro anche nei pazienti con obesità.

Per l'attuale analisi prespecificata, i ricerca-

tori hanno esaminato l'impatto dell'acido bempedoico su 6179 (44,2%) partecipanti a CLEAR Outcomes che presentavano obesità al basale; 3075 (49,8%) pazienti hanno ricevuto il farmaco di studio e 3104 (50,2%) hanno ricevuto placebo. Nel corso dello studio, l'acido bempedoico è stato associato a un tasso significativamente inferiore di eventi avversi maggiori rispetto al placebo in questo sottogruppo di pazienti obesi (11,6% vs 14,8%), con un hazard ratio di 0,77 (IC 95% 0,67-0,89). Ciò si è tradotto in una riduzione significativa degli eventi avversi, comprendenti morte cardiovascolare, MI non fatale e ictus non fatale, con un hazard ratio di 0,73 (IC 95% 0,62-0,86).

Entrambi i gruppi di studio hanno registrato una perdita di peso nel corso dello studio, anche se lievemente più marcata nel gruppo dell'acido bempedoico. Ciò potrebbe dipendere da una maggior attenzione alla propria salute, derivante dalla partecipazione allo studio clinico.

La frequenza di eventi avversi era simile a quella della popolazione complessiva dello studio. Tra questi, si sono osservati un tasso leggermente superiore di enzimi epatici elevati con l'acido bempedoico rispetto al placebo (2,2% contro 0,9%) e un aumento medio più elevato dei livelli di creatinina dal basale a 6 mesi (6,2% contro 2,4%).

La prima terapia orale di inibizione di PCSK9 si dimostra promettente per la riduzione del colesterolo

Il primo inibitore orale di PCSK9 sembra essere efficace non solo nel ridurre il colesterolo LDL da solo, ma potrebbe anche avere un effetto sinergico con le statine, secondo uno studio preliminare di fase 1.

Lo studio ha rilevato che quando il farmaco è stato somministrato a 35 partecipanti con LDL elevate, i loro livelli sono diminuiti di almeno il 30% rispetto al valore di base. Da una sottoanalisi condotta nell'ambito dello studio

M. Casula

è emerso che la combinazione del farmaco con la rosuvastatina ha portato a una riduzione del 78% dei livelli di colesterolo LDL rispetto al basale, il che rappresenta un effetto sinergico, piuttosto che additivo, dei due composti, anche se questa ipotesi necessita ancora conferma.

Questo studio di fase 1, randomizzato, in singolo cieco, controllato con placebo, ha arruolato partecipanti sani (18-50 anni di età) con colesterolo LDL ≥ 70 mg/dL e ≤ 190 mg/dL. Nella parte A dello studio, i partecipanti hanno ricevuto AZD0780 in dose singola crescente di 30 mg (n=6), 60 mg (n=6), 120 mg (n=6) e 200 mg (n=5) o placebo (n=8) a digiuno. Nella parte B dello studio, i partecipanti sono stati randomizzati alla somministrazione giornaliera di AZD0780 30 mg (n=15), AZD0780 60 mg (n=15) o placebo (n=15) per 4 settimane. Inoltre, in un'altra coorte di 35 partecipanti naïve al trattamento con colesterolo LDL tra 100 mg/dL e 190 mg/dL, i partecipanti hanno ricevuto AZD0780 30 mg o placebo in aggiunta a rosuvastatina 20 mg per 4 settimane dopo un periodo di run-in con rosuvastatina 20 mg per 3 settimane. L'end point primario era la sicurezza e la tollerabilità. Gli esiti secondari erano la farmacocinetica e gli effetti farmacodinamici.

Nella parte B, la variazione di colesterolo LDL corretta per il placebo dal basale a 4 settimane è stata del -30% (IC 95% da -41 a -185) nel gruppo AZD0780 30 mg e del -38% (IC 95% da -48 a -30) nel gruppo AZD0780 60 mg. La variazione ha raggiunto lo steady state entro 2 settimane; variazioni comparabili, corrette per il placebo, sono state osservate per l'ApoB e il colesterolo totale.

Dopo il periodo di run-in con rosuvastatina, il trattamento con AZD0780 30 mg per 4 settimane ha ridotto il colesterolo LDL del 52% (IC 95% da -52 a -48) nei partecipanti ipercolesteremici. La riduzione totale è stata del 78% rispetto al basale con il trattamento combinato con rosuvastatina e AZD0780.

Il controllo della Lp(a) comporta anche benefici renali

Alti livelli di lipoproteina(a) [Lp(a)] nel sangue sono associati a un rischio significativamente maggiore di malattia renale cronica. Ora i ricercatori hanno aggiunto i reni all'elenco degli organi che possono essere danneggiati da elevati livelli di Lp(a).

Utilizzando i dati raccolti dal Copenhagen General Population Study, lo studio ha coinvolto 108.439 individui che sono stati sottoposti a una serie di test, tra cui la stima della velocità di filtrazione glomerulare (eGFR), i livelli plasmatici di Lp(a) e la genotipizzazione dell'*LPA*. Tutti i pazienti sono stati inseriti in una serie di registri nazionali per studiare il follow up.

I ricercatori hanno condotto due analisi separate: uno studio osservazionale dei livelli di Lp(a) in 70.040 individui e uno studio di randomizzazione mendeliana delle ripetizioni del dominio *LPA* kringle IV-tipo 2 in 106.624 individui. Il numero di queste ripetizioni è inversamente associato ai livelli plasmatici mediani di Lp(a).

Lo studio osservazionale ha mostrato che l'eGFR diminuiva con l'aumento dei livelli plasmatici mediani di Lp(a); lo studio di randomizzazione mendeliana ha indicato che l'eGFR diminuiva con la diminuzione del numero di ripetizioni KIV-2. In entrambe le parti dello studio, è emerso che ogni aumento di 50 mg/dL dei livelli plasmatici di Lp(a) è associato a un aumento del rischio di malattia renale cronica di almeno il 25%.

L'aumento dei livelli di Lp(a) da solo non è sufficiente a scatenare la malattia renale cronica. Il meccanismo che collega la Lp(a) alla malattia renale cronica rimane poco chiaro, ma gli autori hanno descritto come che la lipoproteina probabilmente danneggi i tubuli renali quando viene riassorbita dopo essersi dissociata dal colesterolo LDL. Il prossimo passo sarà quello di identificare le persone più suscettibili a questo problema e capire quale trattamento potrebbe essere utile.

