



**SISA** Società Italiana per lo Studio  
della Aterosclerosi  
**Sezione Regionale Lombarda**  
**VI Congresso Regionale**



**Giornata di Studio**  
**LA PREVENZIONE**  
**CARDIOVASCOLARE**

**MILANO**  
**Sabato**  
**23 settembre 2006**

**Aula Magna**  
**Via Balzaretti 9**  
Dipartimento  
di Scienze Farmacologiche  
Facoltà di Farmacia

## COMITATO SCIENTIFICO

**Presidente:** Alberico L. Catapano

**Membri:** Antonio C. Bossi, Adriana Branchi, Luigi Colombo, Alberto Corsini, Maurizio Crestani, Andrea Poli, Domenico Sommariva

**Segreteria Organizzativa**

SISA Sezione Regionale Lombarda

Piazza Bernini, 6

20133 Milano

Tel.: 02 26681313

Fax: 02 26681107

E-mail:

info@sisalombardia.it

segreteria@sisalombardia.it

## RELATORI

**Luciano Bresciani**

Vicario Direttore Generale Sanità

Unità Organizzativa Programmazione e Sviluppo Piani

Regione Lombardia

**Andrea Mezzetti**

Centro Regionale per la Prevenzione dell'Arteriosclerosi la Diagnosi e Cura delle Dislipidemie e dell'Ipertensione Arteriosa, Policlinico "SS. Annunziata" Chieti, dell'Università "G. D'Annunzio" di Chieti-Pescara

**Andrea Poli**

Centro Studi dell'Alimentazione

Nutrition Foundation of Italy N.F.I. – Milano

**Cesare R. Sirtori**

Centro E. Grossi Paoletti per lo Studio delle Malattie Dismetaboliche e dell'Arteriosclerosi, Ospedale "Ca' Granda" Niguarda, Università degli Studi di Milano

**Elena Tremoli**

Centro Cardiologico Monzino Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico, Università degli Studi di Milano

## PROGRAMMA

09.00 – 09.30	<b>Saluto di benvenuto</b> <b>Apertura dei lavori</b>	<i>E. Tremoli</i> <i>A. L. Catapano</i>
09.30 – 09.50	<b>Aterotrombosi</b>	<i>E. Tremoli</i>
09.50 – 10.00	Dibattito tra pubblico ed esperto	
10.00 – 10.20	<b>Trials Clinici con ipolipemizzanti: un update</b>	<i>A. Mezzetti</i>
10.20 – 10.30	Dibattito tra pubblico ed esperto	
10.30 – 10.45	<i>coffee break</i>	
10.45 – 11.05	<b>Dislipidemie: nuovi approcci terapeutici</b>	<i>C. R. Sirtori</i>
11.05 – 11.15	Dibattito tra pubblico ed esperto	
11.15 – 11.35	<b>Integratori alimentari nella prevenzione cardiovascolare</b>	<i>A. Poli</i>
11.35 – 11.45	Dibattito tra pubblico ed esperto	
11.45 – 12.05	<b>Il piano cardiocerebrovascolare</b>	<i>L. Bresciani</i>
12.05 – 12.15	Dibattito tra pubblico ed esperto	
12.15 – 13.45	<b>Comunicazioni orali in seduta plenaria</b> Presentazione dei lavori selezionati per concorrere al Premio “Giovani Ricercatori” Commissione giudicatrice: A.C. Bossi, A. Branchi, A.L. Catapano, A. Corsini, M. Crestani, D. Sommariva	
13.45 – 14.30	<i>colazione di lavoro</i>	
14.30 – 17.00	<b>Presentazione dei lavori scientifici clinico-sperimentali</b> Moderatori: A. C. Bossi, A. Branchi, A. L. Catapano, A. Corsini, M. Crestani, D. Sommariva	
17.00 – 17.30	<b>Consegna Premi “Giovani Ricercatori”</b> <b>Consegna Premio alla Ricerca “G. Galli”</b> Presiede: Marzia Kienle Galli	
17.30	<b>Assemblea Soci</b>	

## SESSIONI ORALI

### **Sessione plenaria - Aula A** **Ore 12.15–13.45**

- 1 Edoardo Pulixi
- 2 Santo Ferrarello
- 3 Emanuele Cereda
- 4 Paola Sanvito
- 5 Patrizia Marchesi
- 6 Silvia Barbieri
- 7 Elise Gers
- 8 Monica Gomaraschi
- 9 Nicola Ferri
- 10 Silvia Langheim

### **Sessione I - Aula C** **Ore 14.30–17.00**

- 1 Elena Ferioli
- 2 Valeria Pelosi
- 3 Rossana Fagnani
- 4 Daniela Piraino
- 5 Sara Raselli
- 6 Daniela Piraino
- 7 Mariagrazia Cimpanelli
- 8 Piercarlo Minoretti
- 9 Ramona Consuelo Maio
- 10 Liliana Grigore
- 11 Alessia Gravina
- 12 Fabio Pricolo
- 13 Elena Tragni

### **Sessione II - Aula D** **Ore 14.30–17.00**

- 1 Sibilla Salvadeo
- 2 Rossana Diotti
- 3 Raffaella Fassi
- 4 Ilaria Ferrari
- 5 Katia Garlaschelli
- 6 Silvia Ghezzi
- 7 Luca Mondazzi
- 8 Filippo Figini
- 9 Elsa Moleri
- 10 Camila Bombardi
- 11 GianPaolo Tibolla
- 12 Alice Pigneri
- 13 Filippo Figini

## ABSTRACT

### **Il fumo di sigaretta induce espressione di COX-2 tramite traslocazione nucleare di beta-catenina: studi in vitro e in vivo**

Silvia S. Barbieri<sup>\*</sup>, Susanna Colli <sup>\*</sup>, Elena Tremoli<sup>\*</sup>, and Babette B. Weksler<sup>°</sup>

<sup>°</sup>Divisione di Medicina, Weill Medical College of Cornell University, New York, NY, USA; <sup>\*</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia.

**pag. 1**

### **Il trattamento cronico con Ac-SDKP riduce l'escrezione urinaria di albumina nel ratto diabetico**

Bombardi C<sup>\*</sup>, Zerbini G<sup>°</sup>, Perego L<sup>\*</sup>, Di Gioia C<sup>\*</sup>, Maestroni A<sup>°</sup>, Gabellini D<sup>°</sup>, Stella A<sup>\*</sup>, Castoldi G<sup>\*</sup>.

<sup>\*</sup>Clinica Nefrologica, Az Osp. San Gerardo, Università Milano Bicocca, Monza; <sup>°</sup>Unità di Fisiologia Renale del Diabete, Ist. Scientifico San Raffaele, Milano.

**pag. 2**

### **Relazione tra livelli di omocisteina, adiposità viscerale e morfologia del ventricolo sinistro**

E. Cereda, L. Morricone, F. Ermetici, B. Ambrosi, A.E. Malavazos

U. O. Endocrinologia e Diabetologia, Dipartimento di Scienze Medico-Chirurgiche, IRCCS Policlinico San Donato, Università degli Studi di Milano, San Donato Milanese, Milano

**pag. 3**

### **Caratteristiche funzionali dei leucociti polimorfonucleati in pazienti dislipidemici: modificazione a 1 mese ed 1 anno di trattamento con simvastatina**

Mariagrazia Cimpanelli, Luigina Guasti, Franca Marino, Marco Cosentino, Ramona C. Maio, Marco Ferrari, Emanuela Rasini, Chiara Crespi, Lorenzo Maroni, Anna Loraschi, Cinzia Simoni, Luana Castiglioni, Sergio Lecchini, Achille Venco.

Dip di Medicina Clinica, Università dell'Insubria

**pag. 4**

### **La compliance come indicatore di rischio cardiovascolare ed il possibile utilizzo di questo strumento nella pratica quotidiana del medico di medicina generale**

R Diotti (1), E Tragni (1), R Piccinelli (2), L Defendi (2), AL Catapano (1), A Filippi (3) (1) SEFAP, Dip Scienze Farmacologiche, Università degli studi di Milano; (2) Servizio di Farmacoconomia ASL di Bergamo; (3) SIMG, Firenze

**pag. 5**

**I fenoli dell'olio di oliva modulano la metalloproteinasi 9 (MMP9) in cellule THP-1**

R. Fagnani\*, M. Dell'Agli<sup>o\*</sup>, S. Bellostà\*, O. Maschi\*, M. Canavesi\*, F. Giavarini\*, A. Toia\*, G.V. Galli\*, M. Crestani\*, E. De Fabiani\*, E. Bosisio<sup>o\*</sup> and D. Caruso<sup>o\*</sup>

\*Dip. di Scienze Farmacologiche e <sup>o</sup>Centro di ricerca per la caratterizzazione e la sicurezza d'uso di prodotti naturali-G. Galli, Università degli Studi, Milano, Italia

**pag. 6**

**Terapia con telmisartan and irbesartan nei pazienti con diabete di tipo 2 trattati con rosiglitazone: effetti sull'insulino resistenza, leptina e TNF-alfa**

Giuseppe Derosa, Raffaella Fassi, Arrigo F.G. Cicero<sup>1</sup>, Angela D'Angelo, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Fabio Pricolo, Sibilla A.T. Salvadeo, Ilaria Ferrari, Alessia Gravina, Roberto Fogari

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; "G. Descovich" <sup>1</sup>Centro di studio dell'Aterosclerosi, "D. Campanacci" Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

**pag. 7**

**Ruolo dell' infezione da coxsackievirus B di cellule endoteliali arteriose e venose nella eziopatogenesi delle vasculopatie**

Elena Ferioli, Antonella Bottelli, Franca Marino, Marco Cosentino, Sergio Lecchini, PierGiulio Conaldi\*

Dipartimento di Medicina Clinica Università degli Studi dell'Insubria, Varese

\*Laboratory of Clinical Pathology, Microbiology and Virology, ISMETT, Palermo

**pag. 8**

**Bassi livelli di hs-PCR potrebbero conferire una protezione rispetto ai classici fattori di rischio aterosclerotici?**

Santo Ferrarello, Filippo Figini, Daniela Piraino, Marco Magnoni, Cosmo Godino, Ruotolo Giacomo, Langheim Silvia, Filippo Crea, Domenico Cianflone, Attilio Maseri. Università Vita-Salute San Raffele, Milano

**pag. 9**

**Efficacia e sicurezza di pioglitazone o rosiglitazone in combinazione con metformina in pazienti con diabete di tipo 2 e sindrome metabolica**

Giuseppe Derosa, Ilaria Ferrari, Angela D'Angelo, Arrigo F. G. Cicero<sup>1</sup>, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Fabio Pricolo, Sibilla A. T. Salvadeo, Alessia Gravina, Elena Fogari, Raffaella Fassi, Roberto Fogari

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; <sup>1</sup>"G. Descovich" Centro di studio dell'Aterosclerosi, "D. Campanacci" Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

**pag. 10**

**Simvastatina riduce l'espressione della MMP1 in cellule muscolari lisce umane coltivate su collagene polimerico bloccando l'attivazione di Rac1**

<sup>a</sup>N. Ferri, <sup>a</sup>G. Colombo, <sup>a</sup>C. Ferrandi, <sup>b</sup>B. Levkau and <sup>a</sup>A. Corsini.

<sup>a</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano, Milano, Italia. <sup>b</sup>Istituto di Patofisiologia, Centro di Medicina Interna, Ospedale Universitario di Essen, Essen, Germania.

**pag. 11**

**Attivazione transitoria dei neutrofili circolanti nelle fasi precoci dell'infarto miocardico acuto**

Filippo Figini, Norma Maugeri, Santo Ferrarello, Daniela Piraino, Marco Mussardo, Stefano Coli, Marco Magnoni, Cosmo Godino, Domenico Cianflone, Attilio Maseri  
Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

**pag. 12**

**Prevalenza di herpes virus umani 6 e 8 nel plasma dei pazienti con angina instabile e angina cronica stabile**

Figini F, Piraino D, Ferrarello S, Malnati M, Magnoni M, Godino C, Coli S, Cristell N, Lusso P, Cianflone D, Maseri A  
Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

**pag. 13**

**Correlazione dei livelli plasmatici di resistina e della sua variante genica -420C/G con marker della sindrome metabolica e aterosclerosi**

Garlaschelli K1, Norata GD1,2, Ongari M1, Raselli S1, Grigore L1, Redaelli L1, Catapano AL1,2.

1Centro per lo Studio della Aterosclerosi, SISA, H.Bassini, Cinisello Balsamo, Milano.

2Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano.

**pag. 14**

**Effetto degli inibitori delle istone deacetilasi sul metabolismo energetico**

Elise Gers, Andrea Galmozzi, Cristina Godio, Emma De Fabiani, Donatella Caruso e Maurizio Crestani.

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano.

**pag. 15**

**Il profilo in acidi grassi plasmatici e' differente in soggetti iperlipemici fumatori rispetto a non fumatori**

Silvia Ghezzi, Patrizia Risé, Damiano Baldassarre, Claudio Galli

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

**pag. 16**

**Disfunzione endoteliale nelle ipoalfalipoproteinemie: il paradosso apoA-  
MILANO**

Monica Gomaraschi, Damiano Baldassarre, Mauro Amato, Sonia Eligini, Cesare R. Sirtori, Guido Franceschini e Laura Calabresi.

Centro Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano e Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Milano.

**pag. 17**

**Efficacia e sicurezza del pioglitazone o rosiglitazone in combinazione con metformina su pazienti diabetici dislipidemici**

Giuseppe Derosa, Alessia Gravina, Angela D'Angelo, Arrigo F. G. Cicero<sup>1</sup>, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Fabio Pricolo, Sibilla A. T. Salvadeo, Ilaria Ferrari, Elena Fogari, Raffaella Fassi, Roberto Fogari

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; <sup>1</sup>"G. Descovich" Centro di studio dell'Aterosclerosi, "D. Campanacci" Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

**pag. 18**

**Il rischio cardiovascolare nel paziente nefropatico**

Grigore L<sup>1</sup>, Raselli S<sup>1</sup>, Garlaschelli K<sup>1</sup>, Redaelli L<sup>1</sup>, Vettoretti S<sup>2</sup>, Baragetti I<sup>2</sup>, Buccianti G<sup>2</sup>, Catapano A<sup>L1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano

<sup>2</sup>Dip. Nefrol e Dialisi, Ospedale Bassini, Cinisello B.mo, Milano

**pag. 19**

**Attivazione infiammatoria del tessuto adiposo epicardico nell'angina instabile**

S. Langheim, L. Dreas, F. Maisano, S. Ferrarello, F. Figini, D. Piraino, R. Rusconi, C. Foglieni, A. Maseri, G. Ruotolo.

Dipartimento Cardio-Toraco-Vascolare, Istituto Scientifico Universitario San Raffaele, Milano, e Divisione di Cardiochirurgia, Ospedali Riuniti, Trieste.

**pag. 20**

**Espressione del recettore per l'angiotensina di tipo 1 in sottopopolazioni leucocitarie di soggetti ad alto rischio per patologie cardiovascolari: effetto del trattamento con simvastatina**

Ramona Consuelo Maio, Elena Cereda, Franca Marino, Luigina Guasti, Marco Cosentino, Marco Ferrari, Emanuela Rasini, Maria Grazia Cimpanelli, Chiara Crespi, Achille Venco, Sergio Lecchini

Dipartimento di Medicina Clinica, Sezione di Farmacologia Sperimentale e Clinica, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi dell'Insubria, Varese

**pag. 21**

**Modulazione di PTX3 durante l'aterogenesi: il ruolo delle HDL**

Marchesi P1, Norata GD1,2, Fazia M3, Cipollone F3, Mezzetti A3 Chiesa G1, Garlanda C4 Mantovani A4 ,Catapano AL1,2.

1Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, 2Centro SISA per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, 3Università G. D'Annunzio, Chieti, 4Istituto Clinico Humanitas, Rozzano.

**pag. 22**

**Ridotte concentrazioni dell'endocannabinoide endogeno anandamide sono predittive di ristrenosi intra-stent in soggetti che ricevono stent medicati**

Piercarlo Minoretti, Calogero Barranco, Rossella Sangiorgio, Diego Geroldi Franco Vermiglio, Luigi Corsetti, Enzo Emanuele

Centro Interdipartimentale di Medicina Molecolare, Università di Pavia  
A.I.P.A Onlus Lecco

**pag. 23**

**Relazione tra genotipo e fenotipo nei deficit di LCAT**

E.Moleri, S.Calandra\*, T.Fasano\*, S.Bertolini\*\*, G.Franceschini, L.Calabresi

Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano; \*Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Modena e Reggio Emilia; \*\*Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova

**pag. 24**

**Effetto di moderate variazioni nella composizione in macronutrienti della dieta sui fattori di rischio cardiovascolare in pazienti obesi con sindrome metabolica**

Luca Mondazzi, Fulvio Muzio, Domenico Sommariva, Adriana Branchi\*

Divisione di Medicina Interna 1, Ospedale G. Salvini, Garbagnate Milanese, Milano

\*Dipartimento di Medicina Interna, Università di Milano, Fondazione IRCCS, Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, Milano.

**pag. 25**

**Vasodilatazione rapida ed azione anti-infiammatoria indotta dal raloxifene nella parete arteriosa di ratto**

Valeria Pelosi, Paola Sanvito, Chiara Bolego, Alberto Corsini, Andrea Cignarella

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

**pag. 26**

**Visualizzazione di cellule infiammatorie marcate con USPIO in un modello di ischemia cerebrale focale**

Alice Pigneri, Paolo Gelosa, Mauro Cimino, Uliano Guerrini, Elena Tremoli, Luigi Sironi e Luciana Mussoni.

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

**pag. 27**

**Imaging dei vasa vasorum periaventriziali nell'aterosclerosi carotidea umana: studio ecocontrastografico**

Daniela Piraino, Filippo Figini, Santo Ferrarello, Marco Magnoni, Stefano Coli, Giulio Melisurgo, Massimiliano Marrocco-Trischitta, Roberto Chiesa, Domenico Cianflone, Attilio Maseri  
Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

**pag. 28**

**Evoluzione temporale del sopraslivellamento del tratto ST e dello sviluppo di onde-Q dall'insorgenza dei sintomi nei pazienti con il primo infarto miocardico acuto (IMA) in Italia, Scozia e Cina**

Daniela Piraino, Filippo Figini, Santo Ferrarello, Nicole Cristell, Azeem Latib, Annalisa Pessina, Marco Magnoni, Domenico Cianflone, Attilio Maseri  
Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

**pag. 29**

**Pioglitazone o rosiglitazone in associazione con metformina nei pazienti con diabete di tipo 2 e sindrome metabolica: effetto sui fattori di rischio cardiovascolare convenzionali e non convenzionali**

Giuseppe Derosa, Fabio Pricolo, Angela D'Angelo, Arrigo F. G. Cicero<sup>1</sup>, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Sibilla A. T. Salvadeo, Alessia Gravina, Ilaria Ferrari, Elena Fogari, Raffaella Fassi, Roberto Fogari  
Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; <sup>1</sup> "G. Descovich" Centro di studio dell'Aterosclerosi, "D. Campanacci" Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

**pag. 30**

**Rischio di danno vascolare precoce, valutato mediante lo spessore medio-intimale dell'arteria carotide in pazienti con steatosi epatica non alcolica: studio caso controllo**

Pulixi E, Fracanzani AL, Burdick L, Raselli S\*, Pedotti P°, Grigore L\*, Santarelli G, Valenti L, , Catapano A\*, Fargion S.  
Dipartimento di Medicina Interna, Università di Milano, \*Centro Studi Aterosclerosi Università di Milano, °Unità di Epidemiologia Genetica e Molecolare Ospedale Maggiore IRCCS

**pag. 31**

**Prevenzione cardiovascolare e progressione a 2 anni dell'IMT carotideo in soggetti asintomatici per aterosclerosi. Lo studio PLIC (Presenza e progressione delle Lesioni Intimali Carotidee)**

Raselli S, Grigore L, Redaelli L, Garlaschelli K, Maggi F, Catapano AL  
Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano

**pag. 32**

**Effetti metabolici di telmisartan e irbesartan nei pazienti diabetici di tipo 2 con sindrome metabolica trattati con rosiglitazone**

Giuseppe Derosa, Sibilla A.T. Salvadeo, Arrigo F.G. Cicero<sup>1</sup>, Angela D'Angelo, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Fabio Pricolo, Ilaria Ferrari, Alessia Gravina, Raffaella Fassi, Roberto Fogari

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; "G. Descovich" <sup>1</sup>Centro di studio dell'Aterosclerosi, "D. Campanacci" Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

**pag. 33**

**La durata della deprivazione estrogenica modula la funzionalità dell'aorta di ratto in risposta a trattamenti farmacologici**

Paola Sanvito, Chiara Bolego, Valeria Pelosi, Andrea Cignarella, Christian Pinna  
Dipartimento di Scienze farmacologiche, Università degli Studi di Milano

**pag. 34**

**Lesioni aterosclerotiche e marker di infiammazione vasale in topi APP23 con deficit di Apolipoproteina E**

G.Tibolla<sup>1,2</sup>, G.D.Norata<sup>1,2</sup>, P.Uboldi<sup>1</sup>, A.L.Catapano<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di scienze farmacologiche Università degli studi di Milano. <sup>2</sup>Centro SISA per lo studio dell'aterosclerosi Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia.

**pag. 35**

**Monitoraggio della safety delle statine in medicina generale**

E Tragni<sup>(1)</sup>, A Filippi<sup>(2)</sup>, GP Mazzaglia<sup>(3)</sup>, E Sessa<sup>(3)</sup>, C Cricelli<sup>(2)</sup>, AL Catapano<sup>(1)</sup>

<sup>1</sup>Servizio di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano; <sup>2</sup>Società Italiana di Medicina Generale, Firenze; <sup>3</sup>The Health Search Database, Firenze

**pag. 36**

## **Il fumo di sigaretta induce espressione di COX-2 tramite traslocazione nucleare di beta-catenina: studi in vitro e in vivo**

Silvia S. Barbieri\*, Susanna Colli \*, Elena Tremoli\*, and Babette B. Weksler°

°Divisione di Medicina, Weill Medical College of Cornell University, New York, NY, USA; \*Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia.

Il fumo di sigaretta rappresenta un importante fattore di rischio per le malattie cardiovascolari ed è noto indurre l'espressione di cicloossigenasi-2 (COX-2) nelle lesioni aterosclerotiche. In questo studio sono stati esplorati i meccanismi molecolari attraverso cui il fumo di sigaretta (TS) può modulare l'attivazione di COX-2, enzima che svolge un ruolo chiave nel processo infiammatorio e nell'omeostasi e rimodellamento vascolare, fenomeni che si accompagnano all'insorgenza ed evoluzione della placca aterosclerotica. Il trattamento con TS, estratto acquoso del fumo di sigaretta, aumenta l'espressione e l'attività della COX-2 ed induce rapida traslocazione al nucleo ed accumulo di beta-catenina in una linea di cellule endoteliali cardiache (MCEC) immortalizzate mediante trasfezione di cellule primarie con un vettore lentivirale encoding genes per telomerasi e antigene SV40T. L'accumulo di beta-catenina a livello citoplasmatico e la sua conseguente traslocazione al nucleo indotta dal trattamento con TS, sono causate sia dalla rottura del complesso di membrana beta-catenina/VE-caderina che dalla ridotta degradazione, a livello di proteosoma, della beta-catenina stessa in seguito a fosforilazione. L'accumulo di beta-catenina indotta da TS è accompagnato da aumenti della fosforilazione/attivazione di Akt e di fosforilazione/inattivazione di GSK-3beta. Tali meccanismi sono mediati dall'enzima PI3K in quanto l'inibizione della sua attività previene l'espressione di COX-2 tramite riduzione della traslocazione al nucleo di beta-catenina e della fosforilazione di Akt e di GSK-3beta. Al contrario, il blocco dell'attività di GSK-3beta provoca induzione di COX-2 tramite ridotta fosforilazione di beta-catenina con conseguente accumulo a livello nucleare. Inoltre, l'inibizione dell'espressione di beta-catenina mediante trasfezione con siRNA inibisce drasticamente sia l'espressione che l'attività di COX-2 indotta da TS. Gli studi in vivo, condotti in topi ApoE<sup>-/-</sup> esposti a fumo di sigaretta, confermano tali meccanismi molecolari. Infatti, nel tessuto cardiovascolare di questi animali si osserva aumento dell'espressione di COX-2 che si accompagna ad attivazione della via di trasduzione beta-catenina-Akt/GSK-3beta-mediata. I risultati di questi studi, in vitro ed in vivo, mettono in luce un nuovo meccanismo molecolare attraverso cui il fumo di sigaretta può contribuire all'insorgenza e alla evoluzione di patologie cardiovascolari.

## Il trattamento cronico con Ac-SDKP riduce l'escrezione urinaria di albumina nel ratto diabetico

Bombardi C\*, Zerbini G°, Perego L\*, Di Gioia C\*, Maestroni A°, Gabellini D°, Stella A\*, Castoldi G\*.

\*Clinica Nefrologica, Az Osp. San Gerardo, Università Milano Bicocca, Monza;  
°Unità di Fisiologia Renale del Diabete, Ist. Scientifico San Raffaele, Milano.

**INTRODUZIONE:** Gli ACE inibitori rallentano la progressione della nefropatia diabetica. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline (Ac-SDKP) è un tetrapeptide fisiologicamente presente nel plasma, idrolizzato dall'ACE, che possiede effetti antifibrotici a livello cardiaco e renale.

**SCOPO:** Valutare l'effetto di Ac-SDKP sull'escrezione urinaria di albumina nel ratto diabetico.

**METODI:** A 11 ratti (Sprague Dawley) è stato indotto diabete mellito con una iniezione di streptozotocina (75mg/Kg i.p.). Dopo 2 giorni dalla comparsa del diabete (glicemia > 250mg/dl) e durante tutto il periodo sperimentale ai ratti è stata somministrata insulina (LIMPLANT) per normalizzare la glicemia. A 12 ratti si somministrava solo buffer (gruppo controllo). Dopo due mesi dalla comparsa del diabete a 5 ratti diabetici trattati con l'insulina e a 5 controlli è stato somministrato per 2 mesi Ac-SDKP (1mg/Kg/day) tramite minipompe osmotiche impiantate sottocute. Per tutto il periodo sperimentale si misuravano ogni 15 giorni i seguenti parametri: pressione arteriosa sistolica (PAS, Tail Cuff), peso corporeo, escrezione urinaria di albumina (Nephrot-ELISA), glicemia e creatininuria. Al termine del periodo sperimentale i ratti venivano soppressi, si raccoglieva un campione plasmatico per il dosaggio di AC-SDKP (EIA) e si prelevavano i reni.

**RISULTATI:** I risultati ottenuti sono riportati nella tabella

	<b>CONTROLLO</b>	<b>CONTR+Ac-SDKP</b>	<b>INSULINA</b>	<b>INS+ Ac-SDKP</b>
PAS(mmHg)	114.5 ± 3.9	113.1 ± 9.3	123.9 ± 9.6	123.4 ± 10.4
Glicemia(mg/dl)	80.1 ± 2.4	97.8 ± 8.1	95.0 ± 10.7	122.7 ± 18.3
Alb/Creat	0.055 ± 0.009	0.058 ± 0.01	0.089 ± 0.006*	0.054 ± 0.008
Ac-SDKP(nmol/l)	2.36 ± 0.1	3.30 ± 0.5°	2.05 ± 0.3	3.44 ± 0.3°
P.reni/P.corp.(mg/g)	2.51 ± 0.1	2.64 ± 0.2	2.69 ± 0.1	2.82 ± 0.1

\*p<0.05 vs altri gruppi; ° p<0.05 vs corrispondente gruppo controllo (ANOVA)

**CONCLUSIONE:** La somministrazione cronica di Ac-SDKP nel nostro modello sperimentale di diabete mellito riduce l'escrezione urinaria di albumina suggerendo un effetto protettivo di Ac-SDKP sulla progressione della nefropatia diabetica.

## **Relazione tra livelli di omocisteina, adiposità viscerale e morfologia del ventricolo sinistro**

E. Cereda, L. Morricone, F. Ermetici, B. Ambrosi, A.E. Malavazos

U. O. Endocrinologia e Diabetologia, Dipartimento di Scienze Medico-Chirurgiche, IRCCS Policlinico San Donato, Università degli Studi di Milano, San Donato Milanese, Milano

Elevati livelli di omocisteina (Hcy) sono considerati un fattore di rischio cardiovascolare. Le possibili relazioni tra livelli di Hcy, obesità e distribuzione del tessuto adiposo, sono controverse. Tuttavia, esistono dati riguardanti una possibile associazione tra adiposità viscerale e elevati livelli di Hcy, ed in particolare relativi a un ruolo predittivo del grasso viscerale sui livelli di Hcy.

A tale riguardo abbiamo misurato i livelli circolanti di Hcy (Immulate, DPC, range 4.0-14.0  $\mu\text{mol/l}$ ; chemiluminometric assay) in 27 donne obese (OB) (BMI  $43.5\pm 4.8$  kg/m<sup>2</sup>, età  $33.3\pm 8.3$  anni, media $\pm$ SD) non diabetiche, non fumatrici, non in terapia farmacologica, con normale funzione renale e senza altri fattori di rischio cardiovascolare (ipertensione, dislipidemia). Tutte sono state sottoposte a valutazione tomografica (TAC) L4-L5 del grasso viscerale (VAT) e sottocutaneo (SAT) ed a eco-cardiogramma (M-mode color-Doppler, VSF Vingmed-System Five; General Electric).

I valori di Hcy nelle OB sono risultati più elevati rispetto ad un gruppo di 15 donne non obese, utilizzate come gruppo di controllo (N) ( $15.7\pm 5.2$  vs  $7.4\pm 1.2$   $\mu\text{mol/l}$ ,  $p<0.0001$ ). Le OB con maggiore adiposità viscerale (VAT  $<130$  cm<sup>2</sup>) avevano più elevati livelli di Hcy rispetto alle OB con minore adiposità viscerale (VAT  $<130$  cm<sup>2</sup>):  $19.6\pm 3.8$  vs  $10.9\pm 1.2$   $\mu\text{mol/l}$ ,  $p<0.001$ . Era presente una correlazione positiva tra Hcy e VAT ( $r^2=0.42$ ,  $p<0.001$ ) e VAT/SAT ( $r^2=0.34$ ,  $p<0.01$ ), ma non tra Hcy e SAT ( $p=0.7$ ). I livelli di Hcy correlavano inoltre positivamente ( $p<0.02$ ) con la massa del ventricolo sinistro indicizzata per l'altezza (LVMh<sup>2.7</sup>), con la massa del ventricolo sinistro, con lo spessore della parete posteriore (PP) e del setto in telediastole. D'interesse è inoltre la significativa correlazione tra LVMh<sup>2.7</sup>, PP e Hcy ( $p<0.001$ ,  $p<0.02$ , rispettivamente) anche dopo correzione per l'aumento del VAT ( $p<0.001$ ,  $p<0.02$ , rispettivamente). Non si sono invece riscontrate correlazioni tra Hcy ed insulino-resistenza (valutata con HOMA).

In conclusione, i nostri dati sembrano confermare un incremento di Hcy nell'obesità evidenziano una correlazione tra Hcy e grasso viscerale e suggeriscono un possibile ruolo di Hcy nella genesi di disfunzioni del ventricolo sinistro e nell'aumento del rischio cardiovascolare di questi pazienti.

## **Caratteristiche funzionali dei leucociti polimorfonucleati in pazienti dislipidemici: modificazione a 1 mese ed 1 anno di trattamento con simvastatina**

Mariagrazia Cimpanelli, Luigina Guasti, Franca Marino, Marco Cosentino, Ramona C. Maio, Marco Ferrari, Emanuela Rasini, Chiara Crespi, Lorenzo Maroni, Anna Loraschi, Cinzia Simoni, Luana Castiglioni, Sergio Lecchini, Achille Venco.

Dip di Medicina Clinica, Università dell'Insubria

**Introduzione:** La capacità funzionale dei leucociti polimorfonucleati (PMNs) di produrre citochine e le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono poco studiate nell'uomo in relazione alle patologie vascolari, nonostante questi siano le prime cellule del sistema immunitario coinvolte nei processi infiammatori legati all'aterosclerosi. Inoltre è stato recentemente dimostrato che i recettori AT1 dell'angiotensina II (AT1R), notoriamente coinvolti nella generazione di ROS, espressi dai leucociti, hanno un ruolo centrale nei meccanismi di adesione di queste cellule.

**Metodi:** in 16 soggetti sani dislipidemici ad alto rischio cardiovascolare sono stati isolati i PMNs da sangue venoso ed è stata valutata la produzione di interleuchina-8 (IL-8) (ELISA) e di ROS (metodica spettrofluorimetrica) e l'espressione di RNA messaggero dei AT1R (metodica spettrofluorimetrica) in assenza di alcun trattamento e durante terapia con simvastatina (20 mg/die) a medio (1 mese) e lungo termine (1 anno); controlli sani sono stati inoltre valutati.

**Risultati:** sia in basale che dopo stimolazione con fMLP, la produzione di IL-8 nei PMNs dei pazienti non trattati era più alta rispetto a quella dei controlli sani a basso rischio (t test:  $P < 0.01$ ). Inoltre, la produzione di ROS stimolata da fMLP/PMA era più alta nei pazienti ad alto rischio (t test:  $P < 0.01$  e  $P < 0.05$ , rispettivamente). Come atteso, il trattamento con simvastatina ha modificato in modo significativo il profilo lipidico nei soggetti dislipidemici. Si è inoltre osservata una significativa riduzione (ANOVA, Bonferroni) della produzione basale di IL-8 dopo 1 mese ed 1 anno di terapia con simvastatina ( $P < 0.05$  e  $P < 0.01$ ). Anche la produzione di IL-8 stimolata con fMLP è diminuita dopo trattamento ( $P < 0.05$  e  $P < 0.01$ , rispettivamente a 1 mese e 1 anno). Una riduzione significativa si è osservata nella generazione di ROS dopo 1 anno di trattamento, sia dopo stimolazione con fMLP ( $P < 0.01$ ) che con PMA ( $P < 0.05$ ). Infine, una riduzione significativa è stata osservata nella espressione dei AT1R ( $P < 0.01$  e  $P < 0.001$  a 1 mese ed 1 anno). **Conclusioni:** Questo studio clinico evidenzia che la simvastatina interferisce con i meccanismi funzionali dei PMNs correlati all'aterosclerosi e che l'effetto sulle proprietà dei neutrofili è mantenuto dopo un anno di trattamento.

## **La compliance come indicatore di rischio cardiovascolare ed il possibile utilizzo di questo strumento nella pratica quotidiana del medico di medicina generale**

R Diotti (1), E Tragni (1), R Piccinelli (2), L Defendi (2), AL Catapano (1), A Filippi (3)

(1) SEFAP, Dip Scienze Farmacologiche, Università degli studi di Milano; (2) Servizio di Farmacoeconomia ASL di Bergamo; (3) SIMG, Firenze

**CONTESTO** La prevenzione primaria e secondaria cardiovascolare prevede, per un trattamento efficace delle dislipidemie, la somministrazione giornaliera e in cronico di statine. Tuttavia, spesso la terapia viene interrotta o prosegue in modo discontinuo per la scarsa "sensibilizzazione" del paziente o per l'insorgenza di effetti collaterali. E' quindi indispensabile che il medico (MMG) abbia gli strumenti per valutare l'aderenza alla terapia ipocolesterolemica dei suoi assistiti. Questo permetterebbe di migliorare l'appropriatezza prescrittiva e, con essa, l'utilizzo delle risorse economiche disponibili.

**OBIETTIVO** Progetto pilota che si inserisce all'interno di uno studio più ampio di valutazione del corretto utilizzo delle statine tramite un'informazione puntuale ai MMG della ASL di Bergamo sull'aderenza alla terapia dei rispettivi pazienti.

**METODI** La ASL ha estratto dal database di Lombardia Informatica tutte le prescrizioni di statine nell'anno 2004. I dati sono stati analizzati attraverso la statistica descrittiva e la regressione logistica. I giorni in terapia di ciascun paziente sono stati calcolati dividendo i mg totali di farmaco assunti in un anno per i mg giornalieri standard raccomandati dalle linee guida. La compliance media è stata determinata dividendo i giorni in terapia per 366. Un paziente era ritenuto aderente alla terapia quando la sua compliance era  $\geq 65\%$ . Al MMG veniva fornita successivamente una descrizione dettagliata della situazione di ogni suo paziente in terapia con statine, oltre che un report statistico sul consumo di questi farmaci nell'intera ASL e nel suo distretto.

**RISULTATI** Sono stati analizzati 52.700 utilizzatori di statine (48,3% maschi), con un'età media di  $63,3 \pm 12$  anni. I giorni in terapia nell'anno sono stati  $225,63 \pm 169,9$  e la compliance era pari al  $61,6\% \pm 53,5\%$ . La proporzione di soggetti con una compliance  $\geq 65\%$  era 38,2% (41,7% dei maschi, 34,9% delle femmine). La statina maggiormente prescritta era simvastatina (35,4%), mentre la meno utilizzata è stata fluvastatina (9,1%). L'analisi di regressione logistica ha evidenziato che la probabilità di non essere aderente alla terapia era minore nei maschi (OR 0,750, IC 95% 0,724-0,777) e negli utilizzatori di atorvastatina (OR 0,264, IC 95% 0,254-0,274).

**CONCLUSIONI** L'aderenza alla terapia con statine è inferiore al livello ottimale e questo potrebbe esporre al rischio di eventi avversi senza benefici terapeutici, con uno spreco di risorse per il SSN.

## **I fenoli dell'olio di oliva modulano la metalloproteinasi 9 (MMP9) in cellule THP-1**

R. Fagnani<sup>\*</sup>, M. Dell'Agli<sup>°\*</sup>, S. Bellosta<sup>\*</sup>, O. Maschi<sup>\*</sup>, M. Canavesi<sup>\*</sup>, F. Giavarini<sup>\*</sup>, A. Toia<sup>\*</sup>, G.V. Galli<sup>\*</sup>, M. Crestani<sup>\*</sup>, E. De Fabiani<sup>\*</sup>, E. Bosisio<sup>°\*</sup> and D. Caruso<sup>°\*</sup>

<sup>\*</sup>Dip. di Scienze Farmacologiche e <sup>°</sup>Centro di ricerca per la caratterizzazione e la sicurezza d'uso di prodotti naturali-G. Galli, Università degli Studi, Milano, Italia

La dieta Mediterranea è associata ad un minor rischio cardiovascolare. La principale fonte di lipidi di questa dieta è l'olio vergine d'oliva, ricco di composti noti per la loro attività antiossidante tra i quali oleuropeina aglicone (OleA), idrossitirosole (HT), apigenina (AP) e luteolina (LU). Studi precedenti hanno dimostrato che l'estratto fenolico d'olio vergine d'oliva (VOO) è in grado di inibire l'espressione di molecole d'adesione in HUVEC attivate con TNF $\alpha$  (1) e questa attività protettiva potrebbe essere estesa anche ad altre popolazioni cellulari coinvolte nello sviluppo di malattie cardiovascolari quali i monociti/macrofagi. Infatti, l'interazione tra queste cellule e la matrice extracellulare induce l'espressione di metalloproteinasi-9 (MMP9) che degradando la matrice extracellulare favorisce la migrazione dei monociti nel sottoendotelio favorendo l'evoluzione dell'aterosclerosi. Per verificare l'efficacia del VOO sull'espressione della MMP9 in una linea cellulare di monociti/macrofagi (THP-1), le cellule sono state pretrattate con diverse concentrazioni di un estratto ottenuto da oli extravergini d'oliva. Dopo attivazione con il TNF- $\alpha$ , l'attività e la secrezione della MMP9 è stata valutata tramite zimografia mentre i livelli di mRNA mediante Real-Time PCR. I risultati mostrano che VOO (0,4-2,5  $\mu$ g/ml di contenuto fenolico totale) non solo riduce la secrezione della MMP9 indotta da TNF-(80%), ma anche la sua attività catalitica (30%). VOO inibisce i livelli di mRNA (50% a 2,5  $\mu$ g/ml), ma l'effetto inibitorio sulla secrezione è più elevato, indicando un possibile effetto post-trascrizionale. Per esplorare questa ipotesi abbiamo valutato l'effetto del VOO sui livelli di MMP9 intracellulare. I dati indicano che VOO, in un sistema infiammato, riduce i livelli di MMP9 intracellulare (80%), suggerendo altri meccanismi alla base dell'effetto. Per valutare quali fenoli siano responsabili degli effetti osservati, le THP-1 sono state trattate con i principali componenti della frazione, caratterizzata mediante tecniche LC- e GC-MS. OleA ( $\mu$ M), AP e Lu (nM) inibiscono la secrezione della MMP9, indicando che l'effetto mostrato da VOO è ascrivibile principalmente a questi fenoli. Concludendo, i nostri dati suggeriscono che il consumo di olio potrebbe contribuire agli effetti benefici della dieta mediterranea, anche inibendo proteine implicate nella degradazione della matrice extracellulare.

## **Terapia con telmisartan and irbesartan nei pazienti con diabete di tipo 2 trattati con rosiglitazone: effetti sull'insulino resistenza, leptina e TNF-alfa**

Giuseppe Derosa, Raffaella Fassi, Arrigo F.G. Cicero<sup>1</sup>, Angela D'Angelo, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Fabio Pricolo, Sibilla A.T. Salvadeo, Ilaria Ferrari, Alessia Gravina, Roberto Fogari

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; "G. Descovich" <sup>1</sup>Centro di studio dell'Aterosclerosi, "D. Campanacci" Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

Scopo dello studio: Scopo dello studio è stato quello di valutare gli effetti metabolici di telmisartan e irbesartan nei soggetti trattati con rosiglitazone.

Materiali e metodi: abbiamo arruolato 188 pazienti diabetici di tipo 2 con sindrome metabolica. Abbiamo somministrato telmisartan (40 mg/die) o irbesartan (150 mg/die) e a tutti i pazienti è stata somministrata una dose fissa di rosiglitazone, 4 mg/die. Abbiamo valutato l'indice di massa corporea (BMI), il controllo glicemico (HbA1c, glicemia e insulinemia a digiuno [FPG, e FPI, rispettivamente], l'indice di insulino-sensibilità (indice Homa), il profilo lipidico [colesterolo totale (TC), lipoproteine a bassa densità (LDL-C), lipoproteine ad alta densità (HDL-C), e trigliceridi (Tg)], pressione arteriosa sistolica e diastolica (SBP and DBP), fattore di necrosi tumorale-alfa (TNF-alfa) leptina durante 12 mesi di trattamento.

Risultati: Una significativa diminuzione dei valori di HbA1c e FPG è stata osservata dopo 6 mesi nel gruppo con telmisartan e dopo 12 mesi in entrambi i gruppi. La riduzione di HbA1c e FPG era significativamente più bassa dopo 12 mesi nel gruppo con telmisartan. Una significativa diminuzione di FPI è stata ottenuta a 12 mesi in entrambi i gruppi, e questa riduzione era significativamente minore nel gruppo con telmisartan. Una significativa diminuzione dell'indice Homa è stata ottenuta a 6 e 12 mesi in entrambi i gruppi, e il calo dell'indice Homa era significativo nel gruppo con telmisartan dopo 12 mesi. Variazioni significative di SBP, DBP, TC, e LDL-C sono state osservate dopo 6 e 12 mesi in entrambi i gruppi. Una diminuzione significativa dei livelli di TNF-alfa e leptina è stata osservata dopo 6 mesi nel gruppo con telmisartan, e dopo 12 mesi in entrambi i gruppi.

Conclusioni: Telmisartan sembra migliorare il controllo glicemico e lipidico e i parametri metabolici riguardanti la sindrome metabolica, rispetto a irbesartan.

## **Ruolo dell' infezione da coxsackievirus B di cellule endoteliali arteriose e venose nella eziopatogenesi delle vasculopatie**

Elena Ferioli, Antonella Bottelli, Franca Marino, Marco Cosentino, Sergio Lecchini, PierGiulio Conaldi\*

Dipartimento di Medicina Clinica Università degli Studi dell'Insubria, Varese

\*Laboratory of Clinical Pathology, Microbiology and Virology, ISMETT, Palermo

I processi infiammatori svolgono un ruolo di rilievo nella genesi e nella progressione delle lesioni croniche cardiovascolari di natura sia aterosclerotica sia trombotica. Recentemente è stata evidenziata una possibile correlazione tra aterosclerosi, infarto del miocardio e coxsackievirus B (CVB), agenti virali di cui abbiamo da tempo dimostrato la capacità di infettare le cellule endoteliali (EC). In questo studio abbiamo indagato gli effetti funzionali dei CVB su linee EC venose e arteriose ottenute e caratterizzate nel nostro laboratorio.

I recettori dei CVB (CAR e CD55) sono espressi sia in EC venose che arteriose, ed entrambi i tipi cellulari sostengono una infezione persistente produttiva non citopatica da CVB, con titoli virali maggiori nel caso delle EC arteriose. Gli effetti dell'infezione sono stati indagati mediante DNA microarray specifici per numerosi pathway funzionali endoteliali ed RT-PCR semiquantitative. I risultati dimostrano che i CVB stimolano nelle EC un'aumentata espressione delle citochine pro-infiammatorie IL-1b, IL-6 e IL-8. L'incremento è maggiore nelle EC arteriose, nelle quali si osserva inoltre upregolazione della chemochina MCP-1, della proteina C reattiva (CRP) e dell'enzima COX-2. In entrambi i tipi di EC l'infezione con CVB determina una down-regolazione delle molecole di adesione (caderina CDH5 e integrine ITGA5-ITGB1) coinvolte nella disregolazione delle interazioni cellula-cellula e cellula-matrice e nella formazione di placche ateromasiche instabili. A carico delle EC venose i CVB alterano in senso pro-trombotico le funzioni di regolazione della coagulazione, con riduzione dell'espressione dell'attivatore tissutale del plasminogeno e down-regolazione di TFPI, inibitore dell'attività procoagulativa del fattore tissutale. L'effetto pro-infiammatorio dei CVB è stato inoltre confermato da prove di RT-PCR semiquantitativa che hanno rilevato induzione di IL-18 e IFN-g, fattori condizionanti lo sviluppo e l'instabilità delle placche ateromasiche e da test citofluorimetrici che hanno dimostrato una aumentata espressione delle molecole di adesione e attivazione leucocitaria ICAM-1 e VCAM-1.

I risultati ottenuti dimostrano come i CVB, virus con tropismo cardiovascolare, possono modulare in modo assai complesso le attività funzionali delle EC e possono rappresentare un modello di studio per analizzare il ruolo dei CVB, o di altri virus, nello sviluppo di processi infiammatori cronici vascolari ad esito trombotico e/o aterosclerotico.

## **Bassi livelli di hs-PCR potrebbero conferire una protezione rispetto ai classici fattori di rischio aterosclerotici?**

Santo Ferrarello, Filippo Figini, Daniela Piraino, Marco Magnoni, Cosmo Godino, Ruotolo Giacomo, Langheim Silvia, Filippo Crea, Domenico Cianflone, Attilio Maseri.

Università Vita-Salute San Raffele, Milano

Introduzione: nonostante la presenza di molteplici fattori di rischio tradizionali alcuni pazienti non sviluppano una significativa aterosclerosi coronarica (CAD). Il nostro studio indaga la prevalenza di questo fenomeno per ricercare possibili fattori protettivi contro gli effetti deleteri dei molteplici fattori di rischio.

Materiali e Metodi: abbiamo studiato 144 pazienti con 3 o più fattori di rischio convenzionali (ipercolesterolemia, diabete, ipertensione, obesità, fumo, familiarità per ischemia coronarica). Tutte le angiografie sono state esaminate quantitativamente (Medis QCA).

Il gruppo A è costituito da 67 pazienti con arterie coronarie indenni.

Come gruppo B abbiamo selezionato nel nostro database clinico 77 pazienti, appaiati per sesso, età e fattori di rischio, con CAD (>70% stenosi) clinicamente stabile per più di sei mesi. In tutti i pazienti sono stati misurati i livelli ematici di hs-PCR, HDL ed LDL.

Risultati: come previsto dai criteri d'inclusione, non si è osservata nessuna differenza tra il gruppo A e B relativamente alla prevalenza di fattori di rischio ed ai livelli delle frazioni di colesterolo (media $\pm$ DS; HDL 47.9 $\pm$ 14.7 mg/dl vs 45.6 $\pm$ 13.4 mg/dl ed LDL 138.2 $\pm$ 36.5 vs 134.1 $\pm$ 42.6 rispettivamente). Per contro si è osservata una differenza statisticamente significativa tra i valori di hs-PCR nel gruppo A e B (mediana e 25°-75° percentile; 1.58mg/L, 0.91-3.5 mg/L vs 2.92 mg/L, 1.30-5.5 mg/L; p < 0.05). Inoltre è risultata significativa la correlazione tra i valori di hs-PCR ed il numero di vasi coinvolti (p per trend < 0.05).

Conclusioni: nonostante la presenza di molteplici fattori di rischio, pazienti con bassi livelli di hs-PCR potrebbero avere arterie angiograficamente normali, suggerendo che una infiammazione cronica subclinica possa essere una condizione necessaria per lo sviluppo di aterosclerosi angiograficamente detettabile

## **Efficacia e sicurezza di pioglitazone o rosiglitazone in combinazione con metformina in pazienti con diabete di tipo 2 e sindrome metabolica**

Giuseppe Derosa, Ilaria Ferrari, Angela D'Angelo, Arrigo F. G. Cicero<sup>1</sup>, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Fabio Pricolo, Sibilla A. T. Salvadeo, Alessia Gravina, Elena Fogari, Raffaella Fassi, Roberto Fogari

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; 1“G. Descovich” Centro di studio dell'Aterosclerosi, “D. Campanacci” Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

Introduzione e scopo dello studio: Esistono pochi o nessun dato comparativo sugli effetti dell'associazione di pioglitazone o rosiglitazone alla metformina. Questo studio ha valutato l'efficacia e la tollerabilità di queste due combinazioni sul controllo della glicemia a 12 mesi.

Materiali e metodi: 96 pazienti con diabete di tipo 2 e sindrome metabolica già trattati con metformina a partire da 1500 mg sino a 3000 mg sono stati randomizzati a ricevere 15 mg di pioglitazone o 4 mg di rosiglitazone per 12 mesi. HbA1c al momento dell'arruolamento era > 7.5%. Abbiamo valutato l'indice di massa corporea (BMI), il controllo glicemico (HbA1c, glicemia e insulinemia a digiuno e postprandiale [FPG, PPG, FPI, and PPI, rispettivamente], e l'indice di insulino-sensibilità (indice HOMA).

Risultati: In ciascun gruppo sono stati arruolati 48 pazienti. Non è stato osservato nessun cambiamento di BMI dopo 3, 6, 9 e 12 mesi in entrambi i gruppi. Una significativa diminuzione di HbA1c è stata ottenuta dopo 9 e 12 mesi in entrambi i gruppi. I livelli della glicemia a digiuno (FPG) e postprandiale (PPG) sono diminuiti in entrambi i gruppi dopo 9 e 12 mesi. E' stata osservata una significativa diminuzione di FPI e di PPI a 12 mesi rispetto al basale in entrambi i gruppi. Inoltre, è stato ottenuto un miglioramento dell'indice di insulino-sensibilità (indice HOMA) solo a 12 mesi rispetto al basale in entrambi i gruppi.

Conclusioni: I pazienti con diabete di tipo 2 e sindrome metabolica che non sono risultati controllati dalla terapia con metformina o hanno sviluppato effetti collaterali, hanno beneficiato dell'aggiunta di entrambi i tiazolidinedioni nel migliorare in maniera significativa il controllo della glicemia. Entrambe le combinazioni risultano ben tollerate.

## **Simvastatina riduce l'espressione della MMP1 in cellule muscolari lisce umane coltivate su collagene polimerico bloccando l'attivazione di Rac1**

<sup>a</sup>N. Ferri, <sup>a</sup>G. Colombo, <sup>a</sup>C. Ferrandi, <sup>b</sup>B. Levkau and <sup>a</sup>A. Corsini.

<sup>a</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano, Milano, Italia.

<sup>b</sup>Istituto di Patofisiologia, Centro di Medicina Interna, Ospedale Universitario di Essen, Essen, Germania.

Recenti studi *in vitro* e *in vivo* hanno evidenziato come i recettori del collagene, le integrine  $\alpha1\beta1$  e  $\alpha2\beta1$ , espresse in cellule muscolari lisce (CML), giochino un ruolo importante nell'omeostasi del collagene. Gli inibitori della HMG-CoA riduttasi (statine), sono in grado di interferire con la funzione delle integrine attraverso l'inibizione della prenilazione delle proteine Rho. Nel presente lavoro abbiamo studiato il loro effetto sull'omeostasi del collagene regolata dall'integrina  $\alpha2\beta1$ .

CML adese al collagene fibrillare mostrano un'aumentata espressione di MMP1 e l'attivazione di MMP2, importanti enzimi ad attività collagenolitica. Questa espressione è regolata dall'attivazione dell'integrina  $\alpha2\beta1$  e l'inibizione della HMG-CoA riduttasi ad opera della simvastatina (S) porta ad una riduzione dei livelli di MMP1 sia extracellulari ( $IC_{50}=1.98\mu M$ ) sia intracellulari ( $IC_{50}=2.05\mu M$ ), mentre non sembra alterare l'espressione della MMP2. S  $3\mu M$  riduce inoltre, in maniera significativa, i livelli di RNAm della MMP1 del  $37.8\pm 10.5\%$ . Questi effetti correlano molto da vicino con l'attività inibitoria della S sulla degradazione del collagene mediata dalle CML ( $IC_{50}=1.53\mu M$ ). La co-incubazione di S con MVA e geranilgeraniolo porta ad un completo ripristino dei livelli di espressione della MMP1. Inoltre, l'inibizione farmacologica della geranilgeranilazione con il composto GGTI-286, riduce in maniera significativa i livelli di MMP1 del  $53.1\pm 7.6\%$ . Questi dati suggeriscono un coinvolgimento di proteine geranilgeranilate nella secrezione della MMP1, infatti, l'espressione genica di una forma mutata, ad attività dominante negativa, di Rac1, ma non di RhoA, riduce rispettivamente i livelli di espressione della MMP1 del  $50.4\%$  e di RNAm del  $97.9\%$ . Infine S sopprime quasi totalmente l'espressione di Rac-1 attivata legata al GTP. In conclusione, i dati ottenuti in questo studio dimostrano che l'inibizione della via metabolica del MVA da parte della S blocca l'attivazione di Rac1 riducendo in maniera significativa l'espressione di MMP1 mediata dall'integrina  $\alpha2\beta1$  e conseguentemente la degradazione del collagene da parte delle CML.

## **Attivazione transitoria dei neutrofili circolanti nelle fasi precoci dell'infarto miocardico acuto**

Filippo Figini, Norma Maugeri, Santo Ferrarello, Daniela Piraino, Marco Mussardo, Stefano Coli, Marco Magnoni, Cosmo Godino, Domenico Cianflone, Attilio Maseri

Università Vita - Salute San Raffaele, Milano

**Introduzione:** le sindromi coronariche acute sono associate a uno stato di infiammazione che coinvolge in maniera diffusa la circolazione coronarica. Scopo del lavoro è stato studiare l'attivazione dei neutrofili nella fase precoce dell'infarto miocardico acuto.

**Materiali e metodi:** il nostro campione comprende 25 controlli sani (C), 21 pazienti con angina cronica stabile (CSA) e 15 pazienti con infarto miocardico acuto (AMI) entro 6 ore dall'inizio dei sintomi. Lo stato di attivazione dei neutrofili è stato determinato analizzando, mediante citofluorimetria e microscopia confocale, il contenuto intracellulare di mieloperossidasi (MPO), la presenza di molecole di adesione (CD11/CD18) in forma attiva sulla membrana plasmatica, il legame con il fibrinogeno e la presenza di aggregati misti di neutrofili e piastrine.

**Risultati:** il contenuto di MPO è nettamente ridotto nei pazienti con AMI in fase precoce (media $\pm$ SEM: 62.4 $\pm$ 5.2 vs C 134.1 $\pm$ 5.4 e CSA 137.2 $\pm$ 4.5 AUF,  $p < 0.01$ ); i neutrofili dei pazienti con AMI mostrano un'aumentata presenza sulla superficie di CD11/CD18 attivo (62.0 $\pm$ 6.0 vs C 8 $\pm$ 2 vs CSA 13 $\pm$ 1;  $P < 0.001$ ), di fibrinogeno (18.4 $\pm$ 2.8 vs C: 2.4 $\pm$ 0.4 vs CSA: 2.1 $\pm$ 0.6;  $p < 0.001$ ) e di piastrine (13.6 $\pm$ 5.5 vs C: 3.0 $\pm$ 0.3 vs CSA: 3.7 $\pm$ 0.6;  $P < 0.001$ ). Tutti i parametri analizzati ritornano a valori normali entro 24-48 ore dall'esordio clinico dell'infarto e non sono correlati ai livelli dei marcatori di miocardiocitolisi. Non si sono osservate differenze statisticamente significative tra controlli e pazienti con CSA.

**Conclusioni:** gli indici studiati mostrano in maniera concorde un marcato stato di attivazione dei neutrofili nella fase precoce dell'infarto miocardico; si può escludere che tale attivazione sia dovuta all'aterosclerosi in sé o alla necrosi, poiché non si verifica nella malattia stabile e non è correlata agli indici di miocardiocitolisi. Qualunque sia lo stimolo che la determina esso, almeno dal punto di vista temporale, appare strettamente correlato alla fase di instabilità della malattia: la ricerca delle cause del quadro osservato potrebbe quindi ricondurre a fenomeni coinvolti nella genesi delle manifestazioni acute della malattia coronarica.

## **Prevalenza di herpes virus umani 6 e 8 nel plasma dei pazienti con angina instabile e angina cronica stabile**

Figini F, Piraino D, Ferrarello S, Malnati M, Magnoni M, Godino C, Coli S, Cristell N, Lusso P, Cianflone D, Maseri A

Università Vita - Salute San Raffaele, Milano

Introduzione: in numerosi studi è stato proposto un ruolo per virus e batteri nella patogenesi dell'aterosclerosi. È stata inoltre recentemente ipotizzata una possibile correlazione tra infezione, risposta infiammatoria e manifestazione acuta della patologia coronarica. In un precedente studio non abbiamo riscontrato la presenza di HHV-6 nel plasma di 35 controlli sani. Scopo di questo lavoro è stato valutare se la presenza nel plasma di herpes virus umani 6 e 8, due agenti patogeni con alto tropismo per l'endotelio e i linfociti, possa essere associata alla fase di instabilità della malattia coronarica.

Metodi: abbiamo studiato 35 pazienti con infarto miocardico acuto (IMA), come prima manifestazione clinica di malattia coronarica, ed un gruppo di 30 pazienti con angina cronica stabile (CAD) e abbiamo determinato la viremia plasmatica misurando la quantità di DNA virale per herpes virus 6 (HHV-6) e 8 (HHV-8) umano mediante PCR real-time ad alta sensibilità quantitativa.

Risultati: i pazienti nei due gruppi erano simili per età (media  $\pm$  SD; IMA  $60.6 \pm 10.2$  vs CAD  $64.6 \pm 7.2$ ; p ns) e sesso (femmine/maschi; IMA 3/32 vs CAD 4/26; p ns).

Nel gruppo IMA l'incidenza di viremia plasmatica di HHV-6 è stata riscontrata nel 14.3% mentre nel gruppo CAD del 16.7% (p ns).

Il range di viremia plasmatica nei due gruppi variava da  $10^2$  a  $10^6$  genome equivalents/ml.

In nessun paziente dei due gruppi è stata riscontrata la presenza di DNA di HHV-8.

Conclusioni: questi risultati preliminari indicano che l'infezione attiva da parte di herpes virus umani 6 e 8 non è significativamente associata alla fase di instabilità coronarica. Tuttavia abbiamo osservato una prevalenza particolarmente elevata di infezione attiva di HHV-6, suggerendo un possibile legame tra aterosclerosi ed infezione da HHV-6.

## **Correlazione dei livelli plasmatici di resistina e della sua variante genica -420C/G con marker della sindrome metabolica e aterosclerosi**

Garlaschelli K1, Norata GD1,2, Ongari M1, Raselli S1, Grigore L1, Redaelli L1, Catapano AL1,2.

1Centro per lo Studio della Aterosclerosi, SISA, H.Bassini, Cinisello Balsamo, Milano. 2Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano.

**Introduzione:** La relazione tra tessuto adiposo, sindrome metabolica e comparsa di patologie cardiovascolari è ormai ampiamente documentata. Particolare attenzione viene posta alle adipocitochine, molecole pro o anti-infiammatorie prodotte dal tessuto adiposo. La resistina è un'adipocitochina di recente scoperta che sembra essere correlata con marker d'infiammazione ed associata con aterosclerosi coronarica e diabete di tipo II. In particolare, il polimorfismo (-420C/G) del gene della resistina sembra modularne i livelli plasmatici e ed è associato a diabete di tipo II. Scopo della nostra ricerca è stato quello di valutare se i livelli di resistina plasmatica e il polimorfismo -420C/G influenzano la presenza di sindrome metabolica e la progressione della patologia aterosclerotica.

**Soggetti e metodi:** La presenza del polimorfismo è stata determinata mediante Real Time PCR su soggetti non diabetici selezionati dallo studio PLIC, mentre la valutazione dei livelli plasmatici di resistina è stata effettuata con metodica ELISA (n=1090). Entrambi sono stati correlati al profilo lipidico, alla glicemia, allo spessore medio intimale carotideo (IMT) della carotide comune, alla circonferenza vita e fianchi e al loro rapporto, alla pressione e ad altri parametri valutati all'interno dello studio PLIC.

**Risultati:** I portatori dell'allele raro dello SNP -420C/G mostrano un aumento dei livelli di resistina plasmatica, ma tale differenza non risulta essere statisticamente significativa. Tale polimorfismo non ha mostrato nessuna correlazione significativa con gli altri parametri valutati nello studio PLIC.

E' stato invece osservato che i livelli di resistina plasmatica, corretti per età correlano in modo significativo e inverso con i valori di HDL ( $p < 0.001$ ) e Apo AI ( $p = 0.001$ ), mentre correlazioni dirette sono state osservate con i livelli di trigliceridi ( $p < 0.001$ ), circonferenza vita ( $p = 0.002$ ), rapporto vita/fianchi ( $p < 0.001$ ), pressione sistolica ( $p = 0.002$ ), rapporto Apo B/Apo AI ( $p = 0.050$ ) e rischio cardiovascolare (RCV) ( $p < 0.001$ ). Non si osservano correlazioni significative con IMT. Analizzando i dati a seconda del sesso, nei maschi rimane significativa la correlazione diretta con i trigliceridi ( $p = 0.008$ ) e RCV ( $p < 0.001$ ); mentre nelle femmine rimane significativa la correlazione inversa con i valori di HDL ( $p < 0.001$ ) e Apo AI ( $p = 0.005$ ), diretta con i trigliceridi ( $p = 0.002$ ), la pressione sistolica ( $p = 0.038$ ) e con RCV ( $p < 0.001$ ).

**Conclusioni:** La resistina plasmatica risulta essere associata con i parametri metabolici e antropometrici nella popolazione generale dello studio PLIC. I livelli di resistina risultano significativamente aumentati in presenza di sindrome metabolica ed associati al rischio cardiovascolare. Lo SNP -420C/G del gene della resistina, invece, non sembra svolgere un ruolo determinante nella sindrome metabolica.

## **Effetto degli inibitori delle istone deacetilasi sul metabolismo energetico**

Elise Gers, Andrea Galmozzi, Cristina Godio, Emma De Fabiani, Donatella Caruso e Maurizio Crestani.

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano.

Risultati precedenti ottenuti nel nostro laboratorio hanno dimostrato il ruolo fondamentale delle istone deacetilasi (HDAC) nella repressione mediata da acidi biliari (AB) del gene della colesterolo 7 $\alpha$ -idrossilasi (CYP7A1) l'enzima limitante nella biosintesi degli AB. La somministrazione in vivo di due inibitori delle HDAC (HDACi), acido valproico (VPA) o tricostatina A (TSA), determina l'aumento della sintesi degli AB (300-400%), una netta diminuzione dei livelli plasmatici di colesterolo totale (60-80 %) e dei trigliceridi (40-50%). Inoltre, il cambiamento dei livelli dei lipidi circolanti è accompagnato da una netta diminuzione del peso corporeo (5-9 %) e da un aumento del consumo di cibo negli animali trattati con HDACi. Per definire i meccanismi alla base di queste osservazioni abbiamo misurato nel fegato di questi animali i livelli di espressione di geni coinvolti nel metabolismo energetico (ME). In particolare, gli HDACi inducono l'espressione del gene del coattivatore della trascrizione, PPAR-gamma-coattivator-1-alfa (PGC-1), un regolatore chiave del ME implicato nella biogenesi mitocondriale. Abbiamo osservato anche un aumento di espressione del recettore scavenger (CD36), dell'apolipoproteina-CII e della Long-Chain-AcylCoA-Dehydrogenase (LCAD), geni importanti nel catabolismo dei trigliceridi, mentre l'espressione dell'Acil-CoA-Carbossilasi-1 (ACC1), enzima limitante della lipogenesi, diminuisce in seguito al trattamento con TSA. Poiché il muscolo scheletrico gioca un ruolo centrale nel metabolismo energetico, abbiamo esaminato l'effetto delle HDACi in un modello cellulare di fibra muscolare scheletrica, i mioblasti murini C2C12 differenziati a miotubuli. I livelli di mRNA di PGC-1, CD36 e del trasportatore del glucosio GLUT4 aumentano in seguito al trattamento con HDACi, mentre diminuisce drasticamente l'espressione della proteina disaccoppiante UCP3. Analisi Western-blot mostrano inoltre l'aumento dell'attività dell'AMP chinasi, un sensore chiave dello stress energetico, e della proteina PGC-1 nei miotubuli trattati. Infine, analisi FACS con un colorante specifico per i mitocondri, dimostra che la quantità di mitocondri raddoppia in cellule trattate con HDACi. In conclusione, gli HDACi hanno profondi effetti sul ME che sono mediati dall'aumento di espressione di PGC-1 e dall'induzione del metabolismo ossidativo conseguente all'aumento del numero di mitocondri all'interno della cellula. Queste osservazioni potranno avere importanti risvolti applicativi nella terapia delle iperlipidemie e di patologie con un alterato quadro del metabolismo. [Con il supporto di un finanziamento del Ministero della Ricerca, COFIN-PRIN2004067491]

## **Il profilo in acidi grassi plasmatici e' differente in soggetti iperlipemici fumatori rispetto a non fumatori**

Silvia Ghezzi, Patrizia Risé, Damiano Baldassarre, Claudio Galli

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

I livelli ed il metabolismo degli acidi grassi (AG) sono modulati da diversi fattori quali dieta, ormoni, farmaci (statine, fibrati, calcio-antagonisti) e composti tossici (es. ossisteroli) sia in vitro che in vivo. In particolare il fumo di sigaretta influenza negativamente il metabolismo degli acidi grassi poliinsaturi (AGP) a lunga catena (sia della serie n-3 che della serie n-6) in modo dose-dipendente, in vitro. I dati in vivo sono tuttavia scarsi. Pawlosky et al. (Lipids, 1999) hanno evidenziato differenze nel metabolismo degli AG della serie n-6 tra soggetti fumatori e non fumatori: vi è una diminuzione sia della conversione di 20:3 a 20:4 n-6, indice di attività della delta 5 desaturasi, sia dei livelli di acido linoleico (LA, 18:2 n-6) e acido arachidonico (AA, 20:4 n-6). Scopo della nostra ricerca è stato la valutazione ed il confronto dei livelli di AG nel plasma di soggetti iperlipemici fumatori (F) e non fumatori (NF). I 2 gruppi di soggetti sono entrambi ipercolesterolemici, e sono paragonabili in termini di età media e di livelli di HDL, LDL e trigliceridi (TG). L'analisi degli acidi grassi mostra che il gruppo F ha livelli maggiori di acidi grassi saturi (AGS) e monoinsaturi, in particolare di 16:0, 16:1 e 18:1, rispetto al gruppo NF, mentre i livelli di AGP, in particolare di LA, AA e DHA (acido docosaesaenoico, 22:6 n-3) sono più bassi in F. Infine, correlando i livelli dei singoli AG con quelli di TC, TG e lipoproteine, nel gruppo NF è stata osservata la presenza di 2 correlazioni positive: LA vs LDL e LA vs TC. Nel gruppo F le correlazioni positive trovate sono: 18:0 vs LDL, 18:0 vs TC, 16:0 vs TG, 16:1 vs TG, AGS vs TG, e AA vs HDL. Lo stesso gruppo presenta invece le seguenti correlazioni negative: DHA vs TC, DHA vs TG ed EPA (acido eicosapentaenoico, 20:5 n-3) vs TG. Queste correlazioni sono in parte spiegate dalla differente distribuzione ed incorporazione dei singoli AG nei diversi pool lipidici.

## **Disfunzione endoteliale nelle ipoalfalipoproteinemie: il paradosso apoA-I MILANO**

Monica Gomaraschi, Damiano Baldassarre, Mauro Amato, Sonia Eligini, Cesare R. Sirtori, Guido Franceschini e Laura Calabresi.

Centro Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano e Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Milano.

I portatori della variante apoA-IMILANO (A-IM, R173C) sono protetti dall'insorgenza di malattie cardiovascolari nonostante il loro profilo lipidico, caratterizzato da basse concentrazioni di colesterolo HDL (HDL-C) e da una moderata ipertrigliceridemia. Scopo del presente lavoro è valutare la presenza di segni di disfunzione endoteliale, tipica nei soggetti con ridotte concentrazioni di HDL-C, nei portatori della variante A-IM.

A tal fine, la concentrazione plasmatica delle forme solubili delle molecole di adesione cellulare (CAMs) e le variazioni di compliance arteriosa dell'avambraccio (FAC) durante iperemia reattiva sono state valutate in 21 portatori, 21 controlli selezionati tra i parenti non portatori della variante e 21 soggetti sani con basse concentrazioni di HDL-C. I soggetti con basse HDL presentano concentrazioni plasmatiche di CAMs più elevate e variazioni della compliance ridotte rispetto ai controlli; al contrario, non sono state rilevate differenze significative tra il gruppo dei portatori e quello dei controlli, a dimostrazione che nonostante i bassi livelli di HDL-C i portatori della variante A-IM non mostrano segni di disfunzione endoteliale. In seguito, le HDL sono state separate dal plasma di soggetti controllo e di portatori della variante; esperimenti condotti in vitro su cellule endoteliali dimostrano che le HDL dei portatori sono più efficaci delle HDL dei soggetti controllo nell'inibire l'espressione di VCAM-1 indotta da TNF $\alpha$  e nell'indurre l'espressione di eNOS. I dati indicano, quindi, che i portatori della variante A-IM sono protetti dall'insorgenza di malattie cardiovascolari non solo grazie ad un trasporto inverso del colesterolo particolarmente efficiente, come dimostrato in passato, ma anche grazie ad una superiore capacità delle loro HDL di prevenire e correggere segni tipici della disfunzione endoteliale.

## **Efficacia e sicurezza del pioglitazone o rosiglitazone in combinazione con metformina su pazienti diabetici dislipidemici**

Giuseppe Derosa, Alessia Gravina, Angela D'Angelo, Arrigo F. G. Cicero<sup>1</sup>, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Fabio Pricolo, Sibilla A. T. Salvadeo, Ilaria Ferrari, Elena Fogari, Raffaella Fassi, Roberto Fogari

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; <sup>1</sup>“G. Descovich” Centro di studio dell'Aterosclerosi, “D. Campanacci” Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

Introduzione e scopo dello studio: È stato dimostrato che gli effetti di pioglitazone o rosiglitazone su pazienti diabetici dislipidemici sono differenti. Resta ancora da chiarire se questa differenza è dovuta all'aggiunta di metformina al pioglitazone o rosiglitazone. Questo studio ha valutato l'efficacia e la tollerabilità di queste due combinazioni su pazienti diabetici dislipidemici a 12 mesi.

Materiali e metodi: Questo studio prospettico, in doppio cieco, a due braccia, comparativo è stato condotto su 96 pazienti con diabete di tipo 2 e sindrome metabolica già trattati con metformina a partire da 1500 mg sino a 3000 mg, che sono stati randomizzati a ricevere 15 mg di pioglitazone o 4 mg di rosiglitazone per 12 mesi. L'emoglobina glicosilata [HbA1c] al momento dell'arruolamento era > 7.5%. TC, LDL-C, HDL-C, trigliceridi, apo A-I, apo B e Lp(a) sono stati misurati al basale e a 3, 6, 9, e 12 mesi.

Risultati: In ciascun gruppo sono stati arruolati 48 pazienti. Un miglioramento significativo di TC, LDL-C, HDL-C, Tg, apo A-1, e apo B ( $p < 0.05$ ) era presente nel gruppo con pioglitazone dopo 12 mesi rispetto al basale, e queste variazioni erano significative tra i gruppi. Nessuna variazione di TC, LDL-C, Tg, apo A-I, e apo B, infatti, era presente nel gruppo con rosiglitazone dopo 12 mesi rispetto al basale.

Conclusioni: Questo studio ha dimostrato che a 12 mesi la combinazione pioglitazone e metformina era significativamente più efficace rispetto alla combinazione rosiglitazone e metformina su HDL-C, LDL-C, Tg, apo A-1 e apo-B. Entrambe le combinazioni sono risultate ben tollerate.

## Il rischio cardiovascolare nel paziente nefropatico

Grigore L1, Raselli S1, Garlaschelli K1, Redaelli L1, Vettoretti S2, Baragetti I2, Buccianti G2, Catapano AL1

1Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano  
2Dip.Nefrol e Dialisi, Ospedale Bassini, Cinisello B.mo, Milano

La malattia renale cronica (CKD) rappresenta un importante problema di sanità pubblica mondiale. L'incidenza di insufficienza renale terminale (uremia) che richiede un trattamento sostitutivo della funzione renale mediante dialisi o trapianto in Italia ha un costo annuo pari al 3% della spesa sanitaria totale, per un totale di circa 55000 persone trattate. Nei pazienti con CKD, le complicanze cardiovascolari rappresentano la principale causa di morte ed invalidità permanente: il loro rischio cardiovascolare è 5-20 volte maggiore rispetto alla popolazione generale.

E' quindi evidente la necessità di individuare obiettivi terapeutici per rallentare il decorso della malattia. In questo ambito abbiamo deciso di valutare il ruolo di alcuni fattori di rischio nel determinare i valori di alcuni predittori di malattia, quale lo spessore intimale carotideo (IMT) e la vasodilatazione flusso mediata all'arteria brachiale (FMD).

Popolazione: sono stati arruolati 44 pazienti affetti da CKD (25% donne) di età  $68 \pm 10$  anni, IMC  $29.9 \pm 6$  kg/m<sup>2</sup>, PAS  $143 \pm 18$  mmHg, PAD  $90 \pm 17$  mmHg di cui il 69.2% diabetici.

Metodi: è stato valutato il profilo lipidico e la glicemia, la clearance della creatinina (CCr) come indice di funzionalità renale, la FMD come indice di funzionalità endoteliale e l'IMT come indice surrogato di aterosclerosi. I dati sono espressi come media  $\pm$  DS.

Risultati: I principali valori biochimici sono riportati di seguito: Colesterolo totale  $198 \pm 41$  mg/dL, C-HDL  $46 \pm 11$  mg/dL, trigliceridi  $186 \pm 151$  mg/dL, C-LDL  $119 \pm 34$  mg/dL, glicemia  $134 \pm 47$  mg/dL. CCr pari a  $83.6 \pm 52$  ml/min. La FMD e' risultata essere  $11 \pm 6$  %, IMT  $0.845 \pm 0.243$  mm. Tra questi pazienti, il 75.9% mostra almeno una placca ateromasica a livello carotideo.

Predittori indipendenti di IMT si sono dimostrati essere i livelli di trigliceridi e di C-LDL (beta pari a 0.580 e 0.312 rispettivamente). FMD correla in modo diretto con i livelli di C-HDL ( $r=0.613$ ,  $p=0.015$ ) e in modo inverso con i trigliceridi ( $r=-0.670$ ,  $p=0.006$ ). Tra i diversi fattori di rischio cardiovascolari, età e C-LDL sono i determinanti più forti della CCr (beta 0.52 e 0.29 rispettivamente).

Conclusioni: emerge in modo significativo il ruolo che le LDL rivestono anche nel paziente con CKD e la necessità quindi di controllare questo fattore di rischio. Interessante sarà valutare l'effetto di un trattamento ipolipemizzante sui parametri di funzionalità renale ed endoteliale anche sui pazienti nefropatici.

## **Attivazione infiammatoria del tessuto adiposo epicardico nell'angina instabile**

S. Langheim, L. Dreas, F. Maisano, S. Ferrarello, F. Figini, D. Piraino, R. Rusconi, C. Foglieni, A. Maseri, G. Ruotolo.

Dipartimento Cardio-Toraco-Vascolare, Istituto Scientifico Universitario San Raffaele, Milano, e Divisione di Cardiochirurgia, Ospedali Riuniti, Trieste.

Studi recenti hanno dimostrato l'importante ruolo del tessuto adiposo epicardico umano quale fonte di diversi mediatori di flogosi in pazienti con aterosclerosi coronarica. In questo studio abbiamo paragonato l'espressione di molecole infiammatorie nei depositi di grasso epicardico di pazienti con angina stabile (SA) ed instabile (UA).

A questo scopo abbiamo studiato 69 pazienti sottoposti a CABG per SA (n=26), UA (n=23) e riparazione/sostituzione valvola mitralica (n=20, gruppo di riferimento). I campioni di tessuto adiposo epicardico prelevati sono stati analizzati per valutare l'espressione locale di citochine infiammatorie, chemochine ed adipochine tramite TaqMan real-time RT-PCR (mRNA di adiponectina, leptina, resistina, IL-6, TNF-alfa, IL-1 beta, MCP-1, PAI-1) ed ELISA multiplex (secrezione proteica di adiponectina, leptina, resistina, IL-6, MCP-1 e PAI-1 dopo 24 ore di coltura), e la presenza di infiltrati di cellule infiammatorie mediante immunistochemica (T linfociti, macrofagi e mastociti).

I pazienti con UA mostravano livelli significativamente più elevati di mRNA per il gene della resistina nei depositi adiposi epicardici rispetto ai pazienti con SA. Inoltre i livelli proteici di adiponectina e PAI-1 erano significativamente più elevati nel mezzo di coltura del tessuto adiposo epicardico dei pazienti con UA rispetto a quelli con SA. Infine queste variazioni erano accompagnate dalla presenza significativamente aumentata di infiltrati di cellule CD68+ nei depositi adiposi epicardici dei pazienti con UA rispetto a quelli con SA.

In conclusione, l'aumentata presenza di infiltrati di cellule CD68+ nel grasso epicardico pericoronarico strettamente collegata all'aumentata espressione locale di resistina potrebbe giocare un ruolo centrale nell'instabilità della placca aterosclerotica associata all'angina instabile.

## **Espressione del recettore per l'angiotensina di tipo 1 in sottopopolazioni leucocitarie di soggetti ad alto rischio per patologie cardiovascolari: effetto del trattamento con simvastatina**

Ramona Consuelo Maio, Elena Cereda, Franca Marino, Luigina Guasti, Marco Cosentino, Marco Ferrari, Emanuela Rasini, Maria Grazia Cimpanelli, Chiara Crespi, Achille Venco, Sergio Lecchini

Dipartimento di Medicina Clinica, Sezione di Farmacologia Sperimentale e Clinica, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi dell'Insubria, Varese

L'angiotensina (Ang) II è un peptide proinfiammatorio e contribuisce al processo aterosclerotico attraverso l'attivazione dei recettori tra cui principalmente implicato in questo processo il recettore di tipo 1 (AT1Rs). E' ben noto che tra i farmaci ipolipemizzanti, le statine interferiscono direttamente con gli effetti dell'Ang II.

Lo scopo del presente studio è stato quello di investigare l'espressione del recettore AT1Rs sui leucociti circolanti di soggetti ad alto rischio (Adult Treatment Panel (ATP) III) per eventi cardiovascolari (28 soggetti (8 F, 20 M; età(media±DS): 57±11 anni) prima e durante il trattamento (a 3 e a 30 giorni) con simvastatina (simvastatin, 20 mg/die assunta alle 10.00 PM) e su soggetti sani appaiati per sesso ed età(8 F, 20 M; età (media±DS): 54±14 anni). Le sottopopolazioni leucocitarie sono state separate con tecniche di sorting immunomagnetico e l'espressione del AT1R è stata valutata con metodica di real time PCR. Inoltre i livelli di RAC 1 sono stati misurati con metodiche di Western Blot su leucociti isolati da donatori sani.

I risultati del presente studio mostrano che i granulociti polimorfonucleati e i monociti di soggetti ad alto rischio mostrano livelli di espressione di mRNA di AT1R più alti rispetto ai soggetti di controllo, mentre l'espressione del recettore nei linfociti B e T non differisce dai soggetti di controllo. Il trattamento con simvastatina induce una riduzione generalizzata dei livelli di espressione di mRNA in tutte le sottopopolazioni leucocitarie indagate e questa riduzione si osserva già a 3 giorni del trattamento. Inoltre è stata osservata una correlazione inversa tra le i livelli di mRNA per AT1R in tutte le sottopopolazioni leucocitarie studiate nei soggetti ad alto rischio prima del trattamento con simvastatina (visita 1) e le modificazioni indotte da 30 giorni di trattamento (differenza tra i livelli di mRNA per AT1R alla visita 3 e alla visita 1).

In vitro, Ang II-induce l'attivazione della GTP-binding protein Rac 1 e tale attivazione è inibita dalla preincubazione con simvastatina.

In conclusione i dati del presente studio mostrano come la simvastatina sia in grado di ridurre l'espressione del mRNA per AT1R nei leucociti di soggetti ad alto rischio per eventi cardiovascolari e che il suo effetto si esplica probabilmente interferendo con l'attività dell'Ang II. Questi dati supportano ulteriormente le informazioni sulla capacità delle statine di avere un effetto antiinfiammatorio che contribuisce a chiarire i suoi effetti clinici sul processo aterosclerotico.

## **Modulazione di PTX3 durante l'aterogenesi: il ruolo delle HDL**

Marchesi P1, Norata GD1,2, Fazio M3, Cipollone F3, Mezzetti A3 Chiesa G1, Garlanda C4 Mantovani A4 ,Catapano AL1,2.

1Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Italia. 2Centro SISA per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia. 3Università G. D'Annunzio, Chieti, Italia. 4Istituto Clinico Humanitas, Rozzano, Italia.

**Introduzione:** La presenza di pentraxina 3 (PTX3), un membro della famiglia delle pentraxine, proteine di fase acuta, sintetizzate e secrete durante una risposta infiammatoria, è stata recentemente osservata nelle lesioni aterosclerotiche umane. In particolare è stato dimostrato che viene prodotta da cellule endoteliali, macrofagi e cellule muscolari lisce. Tuttavia il suo ruolo nelle patologie cardiovascolari non è chiaro. Scopo della nostra ricerca è stato quello di studiare la modulazione e il ruolo di PTX3 nell'aterosclerosi.

**Risultati:** Cellule endoteliali umane (HUVECs) sono state incubate con HDL (200 mg/mL). L'analisi mediante real time Q-PCR ha evidenziato che le HDL inducono l'espressione di PTX3 (2.79 volte). Attraverso l'uso di inibitori specifici, è stato evidenziato che le vie di PI3k/Akt e di PKC sono responsabili dell'aumentata espressione di PTX3 indotta dalle HDL. In vivo, è stato osservato che topi transgenici privi dell'apolipoproteina A-I murina, ma overesprimenti Apo AI umana (hAI) mostrano un'aumentata espressione di mRNA PTX3 a livello dell'aorta (3.44 volte) rispetto a topi privi di Apo AI. L'espressione di PTX3 risulta inoltre essere significativamente maggiore in placche carotidee di soggetti asintomatici (5.63 volte), rispetto a soggetti sintomatici. Per studiare l'effetto della mancanza di PTX3 sulla progressione dell'aterosclerosi in topi ApoE <sup>-/-</sup>, abbiamo sviluppato topi doppi KO (ApoE <sup>-/-</sup>, PTX3 <sup>-/-</sup>). Questi topi, in seguito a dieta aterogena, mostrano un aumento della lesione aterosclerotica a livello aortico (+37%) rispetto ai topi ApoE <sup>-/-</sup> e l'espressione genica a livello vascolare mostra l'aumento della presenza di SMC e la modulazione di molecole coinvolte nel rimodellamento della matrice extracellulare.

**Conclusione:** I risultati del nostro studio suggeriscono per la prima volta che PTX3, a differenza delle altre proteine di fase acuta, potrebbe svolgere un ruolo protettivo nello sviluppo e nella progressione delle patologie cardiovascolari quali l'aterosclerosi.

## **Ridotte concentrazioni dell'endocannabinoide endogeno anandamide sono predittive di ristenosi intra-stent in soggetti che ricevono stent medicati**

Piercarlo Minoretti, Calogero Barranco, Rossella Sangiorgio, Diego Geroldi  
Franco Vermiglio, Luigi Corsetti, Enzo Emanuele

Centro Interdipartimentale di Medicina Molecolare, Università di Pavia  
A.I.P.A Onlus Lecco

Recenti evidenze hanno suggerito che gli endocannabinoidi possono giocare un ruolo fisiopatologico nella proliferazione delle fibrocellule muscolari lisce e nell'iperplasia neointimale. L'endocannabinoide endogeno anandamide, inoltre, è risultato esercitare un effetto immunomodulatorio sulle cellule mieloidi e linfoidi a livello della parete vascolare. Poiché le alterazioni del sistema degli endocannabinoidi endogeni potrebbero influenzare il rischio di ristenosi dopo posizionamento di stent intracoronarico, in questo studio abbiamo valutato se i livelli plasmatici di anandamide fossero alterati nei pazienti che avevano presentato ristenosi intrastent (ISR) sintomatica. Sono stati arruolati un totale di 589 pazienti sottoposti a posizionamento di stent medicato (sirolimus o paclitaxel). Dopo estrazione lipidica da sangue intero, i campioni ematici sono stati analizzati mediante cromatografia liquida-spettrometria di massa per la determinazione dei livelli circolanti di anandamide. Le concentrazioni plasmatiche di anandamide sono risultate statisticamente ridotte nei pazienti con ISR (odds ratio per ISR nel primo quartile vs quarto quartile, 1.89, 95% CI 1.44-2.67,  $P < 0.001$ ) rispetto ai pazienti che non hanno presentato ISR. I pazienti con multipli siti di ristenosi presentavano livelli di anandamide significativamente inferiori rispetto ai pazienti con una singola lesione o nessuna lesione ( $P < 0.01$ ). L'associazione fra livelli di anandamide e ISR si è dimostrata indipendente dai livelli plasmatici di proteina C reattiva, dal numero, diametro e lunghezza totale degli stent posizionati. Nel loro insieme, i nostri risultati indicano per la prima volta come una alterazione nel sistema degli endocannabinoidi endogeni possa essere clinicamente rilevante nel processo di ristenosi e come esso possa costituire un potenziale target terapeutico nella prevenzione della ISR.

## Relazione tra genotipo e fenotipo nei deficit di LCAT

E.Moleri, S.Calandra\*, T.Fasano\*, S.Bertolini\*\*, G.Franceschini, L.Calabresi

Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano; \*Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Modena e Reggio Emilia; \*\*Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova

Mutazioni nel gene dell'LCAT causano il deficit familiare di LCAT (FLD) e il "fish-eye disease" (FED). Nei soggetti FLD omozigoti l'LCAT è assente o inattivo, con conseguente assenza di colesterolo esterificato nel plasma. Nei soggetti FED omozigoti, l'LCAT non è in grado di esterificare il colesterolo contenuto nelle HDL ma può esterificare il colesterolo in VLDL e LDL. Nel nostro laboratorio abbiamo identificato 14 probandi con deficit di LCAT originari da diverse regioni italiane. L'analisi genetica ha identificato 19 mutazioni: 2 mutazioni nonsense, 2 delezioni che causano una terminazione prematura della proteina e 15 mutazioni missenso. Tra gli omozigoti, sette probandi risultano affetti da FLD, mentre 4 sono affetti da FED.

Allo scopo di valutare le basi molecolari dei difetti di LCAT, abbiamo condotto esperimenti di mutagenesi sito-specifica per 10 delle 15 mutazioni missenso da noi identificate. I mutanti dell'LCAT e l'LCAT wild-type sono stati espressi in cellule COS-1, e la concentrazione e l'attività dell'enzima sono state misurate nel medium cellulare.

Tutti i mutanti dell'LCAT sono espressi e misurabili, anche se in diversa quantità rispetto all'LCAT wild-type. L'attività specifica dei mutanti è molto variabile. Tutti i mutanti associati a FLD (T-13M, R147W, S181N, T274I, and V309M) sono totalmente inattivi e classificati come "possibly damaging" o "probably damaging" dal software predittivo PolyPhen. Il mutante V46E è totalmente inattivo e classificato come "probably damaging", anche se associato a FED. Gli altri mutanti associati a FED vengono classificati come "benign" o "possibly damaging" e hanno un'attività specifica variabile, che è 50-100% di quella dell'LCAT wild-type.

I risultati di questi studi dimostrano che il fenotipo FLD è sempre causato da mutazioni del gene LCAT che portano ad un enzima inattivo. Il fenotipo FED può essere associato a mutazioni che portano a un enzima inattivo, parzialmente attivo o completamente attivo. Questo potrebbe spiegare l'eterogeneità del fenotipo biochimico e clinico osservato nei soggetti FED.

## **Effetto di moderate variazioni nella composizione in macronutrienti della dieta sui fattori di rischio cardiovascolare in pazienti obesi con sindrome metabolica**

Luca Mondazzi, Fulvio Muzio, Domenico Sommariva, Adriana Branchi\*

Divisione di Medicina Interna 1, Ospedale G. Salvini, Garbagnate Milanese, Milano

\*Dipartimento di Medicina Interna, Università di Milano, Fondazione IRCCS, Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena, Milano.

La sindrome metabolica è un cluster di alterazioni metaboliche comprendente obesità addominale, ipertensione arteriosa, iperglicemia e dislipidemia, associato ad un aumento del rischio cardiovascolare. Sebbene sia opinione comune che i cambiamenti nello stile di vita e, primariamente, il calo ponderale, rappresentino il primo provvedimento terapeutico della sindrome metabolica, la dieta ideale per questa patologia rimane incerta. Infatti, non sono disponibili evidenze sperimentali che supportino la scelta di un rapporto tra proteine, carboidrati e lipidi piuttosto che un altro e le attuali raccomandazioni dietetiche consentono una discreta variabilità di combinazioni.

Per questo motivo, abbiamo condotto uno studio su 100 pazienti con sindrome metabolica confrontando gli effetti di due diete: una relativamente ricca in carboidrati (dieta A: carboidrati 65% dell'apporto calorico totale, proteine 13%, lipidi 22%, grassi insaturi 17%) e l'altra a minore contenuto in carboidrati ma più ricca in proteine e lipidi (dieta B: carboidrati 48%, proteine 19%, lipidi 33%, grassi insaturi 24%). Entrambe le diete sono state basate sulle comuni abitudini alimentari italiane con l'obiettivo della maggiore sostenibilità nel lungo termine.

Tutti i 100 pazienti hanno completato lo studio. Al termine dello studio tutte le componenti della sindrome metabolica (eccetto l'ipocolesterolemia HDL, che non si è modificata) si sono ridotte in entrambi i gruppi di dieta. Sebbene la percentuale di casi di remissione della sindrome metabolica (40% nel gruppo A e 54% nel gruppo B) non sia risultata significativamente diversa tra i due gruppi, la dieta B è risultata associata ad una maggiore riduzione della pressione arteriosa sistolica ( $P < 0.02$ ) e della trigliceridemia ( $P < 0.05$ ) rispetto alla dieta A. Il colesterolo LDL si è ridotto soltanto nel gruppo A ( $P < 0.01$ ) mentre la frequenza cardiaca è diminuita soltanto nel gruppo B ( $P < 0.01$ ).

In conclusione, la personalizzazione del contenuto in macronutrienti della dieta (ad esempio favorendo proteine e grassi monoinsaturi in coloro che abbiano ipertensione arteriosa o ipertrigliceridemia, oppure i carboidrati in coloro che in aggiunta alla sindrome metabolica presentino un elevato valore di colesterolo LDL) consente un approccio terapeutico più razionale nel controllo del rischio cardiovascolare nei pazienti con sindrome metabolica

## **Vasodilatazione rapida ed azione anti-infiammatoria indotta dal raloxifene nella parete arteriosa di ratto**

Valeria Pelosi, Paola Sanvito, Chiara Bolego, Alberto Corsini, Andrea Cignarella

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

Il raloxifene è un modulatore selettivo dei recettori degli estrogeni approvato per il trattamento dell'osteoporosi nella menopausa. Il farmaco è in grado di vasodilatare diversi tessuti vascolari arteriosi e venosi, e presenta attività anti-infiammatoria in tessuti non vascolari. In questo studio abbiamo indagato gli effetti del raloxifene sulla parete vascolare usando un duplice approccio: 1) in cellule muscolari lisce (SMC) isolate dall'aorta di ratto sono stati esaminati i potenziali effetti anti-infiammatori in seguito ad un trattamento prolungato; 2) in anelli di aorta di ratte con livelli stabili di estrogeni circolanti sono stati valutati gli effetti vasomotori acuti. Per studiare il contributo delle isoforme dei recettori degli estrogeni (ER) abbiamo utilizzato MPP, antagonista selettivo per il recettore ER $\alpha$ . Nelle SMC stimulate per 24 h con un mix di citochine e LPS, abbiamo valutato i livelli di espressione dell'enzima NO sintetasi inducibile (iNOS) e del recettore ER $\alpha$  mediante Western blotting. Abbiamo valutato anche i livelli di NO nel medium di coltura, utilizzando il metodo di Griess. Dopo la stimolazione delle SMC con le citochine l'iNOS è risultata rilevabile ma, in presenza di raloxifene, i livelli di proteina sono diminuiti in maniera concentrazione-dipendente senza alterare la vitalità cellulare. In parallelo è diminuita la concentrazione di metaboliti di NO nel medium. I livelli di proteina ER $\alpha$  sono diminuiti del 70% in presenza di citochine e sono stati parzialmente ripristinati dal trattamento con raloxifene. Il pretrattamento con MPP ha dimostrato che questi effetti del raloxifene nelle SMC sono mediati da ER $\alpha$ . In esperimenti condotti in anelli isolati di aorta, concentrazioni crescenti di raloxifene hanno indotto una vasodilatazione rapida NO-dipendente non sensibile all'inibizione da MPP. In conclusione, il raloxifene ha modulato l'attivazione dell'iNOS nelle SMC dopo trattamento prolungato e ha indotto vasodilatazione dopo trattamento acuto. Tuttavia, tali effetti sono solo parzialmente sovrapponibili a quelli del 17 $\beta$ -estradiolo. Poiché il raloxifene nella parete arteriosa agisce in parte attivando il recettore ER $\alpha$ , molecole di nuova generazione dotate di maggiore selettività recettoriale e tissutale potrebbero rivelarsi agenti terapeutici più efficaci e sicuri degli ormoni fisiologici.

## **Visualizzazione di cellule infiammatorie marcate con USPIO in un modello di ischemia cerebrale focale**

Alice Pigneri, Paolo Gelosa, Mauro Cimino, Uliano Guerrini, Elena Tremoli, Luigi Sironi e Luciana Mussoni.

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

Le tecniche di “immagine” della risonanza magnetica nucleare (MRI) sono comunemente usate per localizzare e quantificare i danni tissutali. La somministrazione di mezzi di contrasto come l’USPIO (Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide) aggiunge all’MRI altre possibilità di analisi. L’USPIO, che ha la peculiare caratteristica di essere internalizzato selettivamente da cellule fagocitiche, altera il tempo di rilassamento T2 dei tessuti circostanti diminuendo l’intensità delle immagini MRI. Obiettivo: visualizzare ed identificare le cellule infiammatorie coinvolte nell’uptake di USPIO in un modello di ischemia cerebrale. Metodologia: occlusione permanente dell’arteria cerebrale media in ratti maschi Sprague-Dawley e somministrazione di USPIO 5 ore dopo l’induzione del danno. Analisi MRI eseguite dopo 24, 48 e 72 ore dalla somministrazione di USPIO seguite da istologia ed immunoistochimica per la localizzazione ed identificazione delle cellule infiammatorie. Risultati: La somministrazione di USPIO è accompagnata dalla comparsa di una regione in cui si accumula l’agente di contrasto che, nelle scansioni MRI, appare come una un’area di segnale ipointenso nelle immagini T2 pesate. Tale regione si sovrappone alle immagini MRI che identificano l’area ischemica come edema citotossico. Nelle regioni ipointense alle analisi MRI la colorazione di Perl’s evidenzia la presenza di ferro all’interno di cellule localizzate nel bordo corticale ed all’interno della lesione cerebrale. Analisi istologiche ed immunoistochimiche condotte sulle medesime sezioni (i.e. bilocalizzazione), hanno permesso di identificare le cellule positive alla colorazione di Pearl’s prevalentemente come microglia e monociti/macrofagi. Tuttavia le tecniche di bilocalizzazione non permettono di escludere il coinvolgimento di altre cellule infiammatorie nell’uptake dell’USPIO. Esperimenti di trilocalizzazione dimostrano che il ferro localizza con le cellule infiammatorie indagate, ma è presente anche in altre cellule non microgliali o macrofagiche. Conclusioni: questo studio sperimentale fornisce importanti indicazioni sulla possibilità di seguire l’evoluzione temporale del processo infiammatorio associato ad un evento ischemico cerebrale. Inoltre conferma che il segnale di ipointensità visualizzato con MRI trova una corrispondenza a livello tissutale ed in particolar modo nelle cellule infiammatorie attratte dal danno ischemico e coinvolte nella fagocitosi dell’USPIO. Restano ancora da identificare gli altri tipi cellulari coinvolti nella captazione dell’USPIO oltre a monociti/macrofagi e microglia.

## **Imaging dei vasa vasorum periaavventiziali nell'aterosclerosi carotidea umana: studio ecocontrastografico**

Daniela Piraino, Filippo Figini, Santo Ferrarello, Marco Magnoni, Stefano Coli, Giulio Melisurgo, Massimiliano Marrocco-Trischitta, Roberto Chiesa, Domenico Cianflone, Attilio Maseri

Università Vita - Salute San Raffaele, Milano

**Introduzione:** i vasa vasorum (VV) localizzati nell'avventizia delle arterie sono associati al processo aterosclerotico. In modelli animali un aumento della loro densità era conseguente ad una dieta ipercolesterolemica. Scopo di questo studio è valutare se l'imaging ultrasonografico con mezzo di contrasto consenta la visualizzazione dei VV avventiziali nell'aterosclerosi carotidea umana.

**Metodi:** sono stati studiati 25 pazienti con stenosi carotidea > 50% (gruppo ATS) e, appaiati per età sesso e profilo di rischio cardiovascolare, 15 pazienti senza placche carotidee, con uno spessore medio-intimale (IMT) minore di 1.0 mm (gruppo CTRL). E' stato utilizzato un ecocardiografo con sonda lineare ad alta frequenza. La presenza di placche carotidee e l'entità della stenosi sono state valutate mediante esame B- mode e Doppler. Dopo l'infusione endovenosa periferica di Optison lo studio dei VV avventiziali è stato eseguito mediante imaging a basso indice meccanico e modalità B-flow per l'ottimizzazione del segnale.

**Risultati:** In tutti i pazienti l'ecocontrasto evidenzia un flusso di microbolle nell'area avventiziale. Come atteso dai criteri di inclusione l'IMT è maggiore nel gruppo ATS che in quello CTRL (media+DS: CTRL 0.73+0.13 mm; ATS 1.08+0.14 mm;  $p < 0.001$ ).

Lo spessore del segnale periaavventiziale è risultato maggiore nei pazienti con l'aterosclerosi rispetto al gruppo di controllo (media+DS: CTRL 0.80+0.06 mm; ATS 1.10+0.11 mm;  $p < 0.001$ ). Considerando l'intera popolazione in studio, lo spessore del segnale B-flow avventiziale correla significativamente con i valori dell'IMT ( $r = 0.88$ ,  $r^2 = 0.77$   $p < 0.0001$ ).

**Conclusioni:** nel nostro studio il segnale periaavventiziale: 1) è presente in tutti i pazienti; 2) è maggiore nei pazienti con aterosclerosi carotidea rispetto al gruppo di controllo; 3) correla con lo spessore medio-intimale. Queste osservazioni sono concordi con studi su modelli animali che mostrano il ruolo dei VV avventiziali nelle fasi iniziali del processo aterosclerotico. L'imaging di placca mediante ecocontrasto è utile per la valutazione dei VV periaavventiziali in tutte le fasi dell'aterosclerosi carotidea umana

## **Evoluzione temporale del sopraslivellamento del tratto ST e dello sviluppo di onde-Q dall'insorgenza dei sintomi nei pazienti con il primo infarto miocardico acuto (IMA) in Italia, Scozia e Cina**

Daniela Piraino, Filippo Figini, Santo Ferrarello, Nicole Cristell, Azeem Latib, Annalisa Pessina, Marco Magnoni, Domenico Cianflone, Attilio Maseri

Università Vita - Salute San Raffaele, Milano

**Introduzione:** nell'ambito dello studio multi-etnico, multicentrico ed osservazionale sui pazienti con primo IMA (FAMI) abbiamo valutato le possibili differenze nella presentazione elettrocardiografica.

**Metodi:** Abbiamo studiato i tracciati ECG di 423 pazienti (127 italiani, 104 scozzesi, 192 cinesi) con IMA con sopraslivellamento del tratto ST, come prima manifestazione di cardiopatia ischemica. I tracciati sono stati registrati al momento del ricovero in UTIC, entro 6 ore dall'insorgenza dei sintomi, prima dell'inizio della terapia.

Abbiamo studiato l'andamento delle modalità di presentazione ECG (entità del sopraslivellamento del tratto ST e presenza ed estensione dell'onda-Q) in relazione al tempo trascorso dall'insorgenza dei sintomi per evidenziare eventuali differenze fra gruppi etnici e fra pazienti con angina instabile (UA) pre-IMA e pazienti senza UA pre-IMA. Un ST score ed un Q-wave score ci hanno permesso di quantificare estensione ed entità delle variabili studiate.

**Risultati:** nei tre gruppi etnici l'andamento temporale della media dell' ST score è sovrapponibile, mentre la media del Q-wave score a 4-6 ore dall'insorgenza dei sintomi è minore nei cinesi rispetto agli italiani ( $p=0,03$ ) e agli scozzesi ( $p=0,007$ ). Questa osservazione assume maggior rilevanza dato che i cinesi giungono al ricovero più tardivamente ( $p<0,001$ ) e hanno una prevalenza di malattia coronarica multivasale significativamente maggiore ( $p=0,04$ ). Il minor sviluppo di onde-Q osservato nei cinesi è probabilmente correlato alla presenza di un circolo collaterale stimolato dal maggior burden aterosclerotico.

Pazienti con storia di UA pre-infartuale sviluppano meno onde-Q nelle ore più tardive dall'insorgenza dei sintomi rispetto al gruppo senza UA pre-IMA ( $p=0,016$ ); questa osservazione può derivare dalla presenza del preconditionamento ischemico.

**Conclusioni:** i pazienti cinesi al primo IMA presentano una gravità elettrocardiografica minore, nonostante un ricovero più tardivo ed una maggiore estensione della malattia coronarica. La presenza di UA pre-IMA è associata ad una minore estensione ECG del danno miocardico

## **Pioglitazone o rosiglitazone in associazione con metformina nei pazienti con diabete di tipo 2 e sindrome metabolica: effetto sui fattori di rischio cardiovascolare convenzionali e non convenzionali**

Giuseppe Derosa, Fabio Pricolo, Angela D'Angelo, Arrigo F. G. Cicero<sup>1</sup>, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Sibilla A. T. Salvadeo, Alessia Gravina, Ilaria Ferrari, Elena Fogari, Raffaella Fassi, Roberto Fogari

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; <sup>1</sup> "G. Descovich" Centro di studio dell'Aterosclerosi, "D. Campanacci" Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

**Introduzione e scopo dello studio:** Il diabete di tipo 2 è associato ad un aumentato rischio di morbilità e mortalità cardiovascolare. Questo rischio aumenta quando è presente la cosiddetta sindrome metabolica. I tiazolidinedioni sono una categoria di potenti farmaci antidiabetici ad uso orale che hanno mostrato effetti pleiotropici al di là della loro azione sul metabolismo dei carboidrati. Questo studio ha valutato l'efficacia del trattamento a 12 mesi con pioglitazone o rosiglitazone in combinazione con metformina sui fattori di rischio cardiovascolare convenzionali e non convenzionali.

**Materiali e metodi:** 96 pazienti con diabete di tipo 2 e sindrome metabolica già trattati con metformina a partire da 1500 mg sino a 3000 mg sono stati randomizzati a ricevere 15 mg di pioglitazone o 4 mg di rosiglitazone per 12 mesi. HbA1c al momento dell'arruolamento era > 7.5%. Abbiamo valutato gli effetti sulla pressione arteriosa sistolica e diastolica (SBP, DBP), lipoproteina(a) [Lp(a)], homocisteina (Hcy), inibitore-1 dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1), attivatore tissutale del plasminogeno (t-PA), e fibrinogeno (Fg).

**Risultati:** In ciascun gruppo sono stati arruolati 48 pazienti. Dopo 12 mesi, SBP, DBP, Hcy, e PAI-1 sono significativamente diminuiti in entrambi i gruppi. È stata osservata una significativa diminuzione dei livelli di Lp(a) nel gruppo di pazienti con pioglitazone. Nessun effetto è stato evidenziato sul t-PA e Fg.

**Conclusioni:** I pazienti con diabete di tipo 2 e sindrome metabolica che non sono risultati controllati dalla terapia con metformina o hanno sviluppato effetti collaterali, hanno beneficiato dell'aggiunta di entrambi i tiazolidinedioni con una riduzione dei fattori di rischio cardiovascolare convenzionali e non convenzionali.

## **Rischio di danno vascolare precoce, valutato mediante lo spessore medio-intimale dell'arteria carotide in pazienti con steatosi epatica non alcolica: studio caso controllo**

Pulixi E, Fracanzani AL, Burdick L, Raselli S\*, Pedotti P°, Grigore L\*, Santarelli G, Valenti L, , Catapano A\*, Fargion S.

Dipartimento di Medicina Interna, Università di Milano, \*Centro Studi Aterosclerosi Università di Milano, °Unità di Epidemiologia Genetica e Molecolare Ospedale Maggiore IRCCS

La steatosi epatica non-alcolica (NAFLD) è stata recentemente inclusa tra le manifestazioni della sindrome metabolica, un'apatologia ad elevato rischio di eventi cardiovascolari. Per valutare la presenza di danno vascolare precoce da aterosclerosi e per definire i fattori responsabili del danno vascolare abbiamo analizzato un 125 pazienti con NAFLD (109 maschi e 16 femmine), (età media  $49 \pm 13$ ), senza precedente diagnosi di diabete, ipertensione e malattie cardiovascolari precedente alla diagnosi di NAFLD, e da 250 controlli normali, provenienti dalla stessa area geografica, accoppiati per sesso, età e indice di massa corporea (BMI). La presenza di danno vascolare da aterosclerosi è stata definita dalla valutazione dello spessore medio-intimale (IMT) dell'arteria carotide comune, misurata mediante ultrasonografia B mode. Pazienti e controlli differivano significativamente per colesterolo HDL ( $40.2 \pm 11$  vs  $50.2 \pm 12$ ,  $p = .0001$ ), trigliceridi ( $158 \pm 96$  vs  $122 \pm 7$ ,  $p = .0001$ ), glicemia basale ( $96.6 \pm 19$  vs  $92.5 \pm 13$ ,  $p = .01$ ) e rischio cardiovascolare secondo lo score di Framingham ( $14.5 \pm 10$  vs  $9.5 \pm 7.6$ ,  $p = .0001$ ). La sindrome metabolica era presente in 50 (40.3%) pazienti e in 30 (12%) controlli ( $p = .0001$ ). Il valore medio di IMT carotideo era  $0.89 \pm 0.26$  mm in pazienti con NAFLD e  $0.64 \pm 0.14$  mm nei soggetti normali ( $p = .0001$ ). È stato arbitrariamente considerato come aumentato un valore di IMT  $> 0.64$  mm (valore medio osservato nei controlli normali). Nei pazienti e nei controlli IMT  $> 0.64$  mm è risultato associato ad età ( $p = .0001$ ), pressione sistolica ( $p = .004$ ), colesterolo totale e LDL ( $p = .02$ ,  $p = .01$ ), glicemia basale ( $p = .0001$ ), e rischio cardiovascolare ( $p = .0001$ ) e, solo nei controlli, con sindrome metabolica ( $p = .0001$ ) e BMI ( $p = .0003$ ). All'analisi multivariata nell'intero gruppo di soggetti (pazienti e controlli) il più forte fattore indipendente predittivo di aumentato IMT era la presenza di steatosi (O.R.6.8; C.I.3.40-13.6), l'età (O.R.5.4; C.I. 2.9-10.1), la pressione sistolica (O.R. 2.3; C.I.1.2-4.4) e il rischio cardiovascolare. (O.R.1.6; C.I.0.9-2.8). In conclusione, i pazienti con NAFLD dovrebbero essere attentamente monitorati non solo per la patologia epatica, ma anche per le complicanze cardiovascolari.

## **Prevenzione cardiovascolare e progressione a 2 anni dell'IMT carotideo in soggetti asintomatici per aterosclerosi. Lo studio PLIC (Presenza e progressione delle Lesioni Intimali Carotidee)**

Raselli S, Grigore L, Redaelli L, Garlaschelli K, Maggi F, Catapano AL

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano

Lo spessore medio-intimale delle arterie carotidi (IMT) valutato in modo non invasivo tramite l'ultrasonografia costituisce un valido indice di aterosclerosi: oltre che essere correlato ai diversi fattori di rischio per malattie cardiovascolari (CVD), è un forte predittore indipendente di eventi cardiovascolari. I dati presentati (media  $\pm$  DS) si riferiscono alla popolazione dello studio PLIC, disegnato allo scopo di verificare la presenza e la progressione nel tempo delle lesioni aterosclerotiche carotidee nella popolazione generale, la relazione tra IMT e fattori di rischio per CVD ed eventualmente identificare nuovi markers di aterosclerosi. La popolazione è stata suddivisa in gruppi di trattamento allo scopo di confrontare la variazione dell'IMT nei 2 anni di osservazione.

Popolazione in studio: di 2141 soggetti arruolati, sono disponibili i dati di 1817 soggetti che si sono presentati alla visita a 2 anni così suddivisi: n=1188 soggetti sani, non in trattamento con ipolipemizzanti, antiipertensivi o anticoagulanti (gruppo SF); n=385 in terapia con ipolipemizzante (gruppo IL), n=244 soggetti in trattamento con altri farmaci vasoattivi (gruppo VA). Di tutti i soggetti è stato valutato il quadro clinico, lipidico, la glicemia e IMT sia all'arruolamento (t0) che dopo 2 anni di follow-up (t2).

Risultati: in tutti i gruppi si è rilevato un aumento dell'IMT. In particolare nel gruppo SF, IMT aumenta a  $0.661 \pm 0.127$  mm vs  $0.630 \pm 0.132$  mm,  $p < 0.0001$ ; nel gruppo IL, IMT va a  $0.739 \pm 0.153$  mm vs  $0.706 \pm 0.158$  mm,  $p < 0.0001$ ; nel gruppo VA, IMT passa a  $0.714 \pm 0.153$  mm vs  $0.681 \pm 0.158$  mm,  $p < 0.0001$ . Confrontando la variazione di IMT nei diversi gruppi (ANOVA), si ottiene per il gruppo SF un aumento di  $0.0332 \pm 0.0671$  mm, sovrapponibile a quelle dei gruppi VA e IL (rispettivamente pari a  $0.031 \pm 0.0672$  mm e  $0.0334 \pm 0.0708$  mm). Estrapolando all'interno del gruppo in trattamento con ipolipemizzanti i soggetti trattati anche con antiipertensivi, n=99, si può notare una variazione dell'IMT a 2 anni inferiore rispetto agli altri gruppi e pari a  $0.0246 \pm 0.0695$  mm.

Conclusioni: in una popolazione sana, la progressione dell'IMT è pari a 0.0165 mm/anno. Il controllo di fattori di rischio quali dislipidemie e ipertensione, soprattutto se concomitanti, rallenta la progressione dell'aterosclerosi carotidea a 0.0123 mm/anno. Probabilmente l'effetto farmacologico risulta evidente solo in soggetti ad alto rischio in quanto il periodo di osservazione è relativamente breve.

## **Effetti metabolici di telmisartan e irbesartan nei pazienti diabetici di tipo 2 con sindrome metabolica trattati con rosiglitazone**

Giuseppe Derosa, Sibilla A.T. Salvadeo, Arrigo F.G. Cicero<sup>1</sup>, Angela D'Angelo, Leonardina Ciccarelli, Mario N. Piccinni, Fabio Pricolo, Ilaria Ferrari, Alessia Gravina, Raffaella Fassi, Roberto Fogari

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia, PAVIA; "G. Descovich" 1Centro di studio dell'Aterosclerosi, "D. Campanacci" Dipartimento di Clinica Medica e Biotecnologie Applicate, Università di Bologna, BOLOGNA.

Scopo dello studio: Valutare gli effetti metabolici di telmisartan e irbesartan in soggetti trattati con rosiglitazone.

Materiali e metodi: Abbiamo arruolato 188 pazienti diabetici di tipo 2 con sindrome metabolica. A tutti i pazienti è stata somministrata una dose fissa di rosiglitazone, 4 mg/die.

Abbiamo somministrato telmisartan (40 mg/die) o irbesartan (150 mg/die) e abbiamo valutato l'indice di massa corporea (BMI), il controllo glicemico (HbA1c, glicemia e insulinemia a digiuno [FPG, e FPI, rispettivamente], l'indice di insulino-sensibilità (indice Homa), il profilo lipidico [colesterolo totale (TC), lipoproteine a bassa densità (LDL-C), lipoproteine ad alta densità (HDL-C), e trigliceridi (Tg)], pressione arteriosa sistolica e diastolica (SBP and DBP), adiponectina, e resistina durante 12 mesi di trattamento.

Risultati: Una significativa diminuzione di HbA1c e FPG è stata osservata dopo 6 mesi nel gruppo con telmisartan, e dopo 12 mesi in entrambi i gruppi. Una significativa diminuzione di FPI è stata ottenuta a 12 mesi in entrambi i gruppi, e questa riduzione era significativamente minore nel gruppo con telmisartan. Una significativa diminuzione dell'indice Homa è stata ottenuta a 6 e 12 mesi in entrambi i gruppi, e l'abbassamento dell'indice Homa è risultato più significativo nel gruppo con telmisartan dopo 12 mesi. Significative variazioni di SBP, DBP, TC, e LDL-C sono state osservate dopo 6 e 12 mesi in entrambi i gruppi. I livelli di adiponectina sono aumentati dopo 6 mesi nel gruppo con telmisartan, e dopo 12 mesi in entrambi i gruppi e questa differenza era significativa dopo 12 mesi nel gruppo con telmisartan.

Una significativa diminuzione della resistina è stata ottenuta dopo 6 e 12 mesi nel gruppo con telmisartan, mentre è stato osservato un cambiamento significativo a 12 mesi nel gruppo con irbesartan e questa differenza era significativa dopo 12 mesi nel gruppo con telmisartan.

Conclusioni: Telmisartan sembra migliorare il controllo glicemico e lipidico e i parametri metabolici riguardanti la sindrome metabolica, rispetto all'irbesartan.

## **La durata della deprivazione estrogenica modula la funzionalità dell'aorta di ratto in risposta a trattamenti farmacologici**

Paola Sanvito, Chiara Bolego, Valeria Pelosi, Andrea Cignarella, Christian Pinna

Dipartimento di Scienze farmacologiche, Università degli Studi di Milano

Il  $17\beta$ -estradiolo esercita vari effetti protettivi a livello vascolare, tra cui il rilassamento endotelio-dipendente attraverso la regolazione genomica e non genomica della NO sintasi endoteliale (eNOS). La vasodilatazione rapida indotta dall'estradiolo è mediata dall'isoforma recettoriale  $ER\alpha$  ed è modulata dai livelli plasmatici di estrogeni. È stato ipotizzato che il tempo di inizio del trattamento estrogenico dopo la menopausa sia importante per riprodurre alcuni degli effetti cardiovascolari del  $17\beta$ -estradiolo. Pertanto, questo studio si è riproposto di determinare gli effetti rapidi dell'agonista  $ER\alpha$ -selettivo PPT su preparati di aorta di ratti trattati per 5 giorni con estrogeno o placebo a diversi tempi dall'ovariectomia (1, 4 o 8 mesi) e valutare l'espressione di eNOS e della sua forma attiva fosforilata (peNOS) nei rispettivi lisati endoteliali. Sia il PPT che il  $17\beta$ -estradiolo hanno indotto un rilassamento rapido di circa il 23% nei preparati precontratti di aorta dei ratti trattati con estrogeno dopo 1 e 4 mesi dall'ovariectomia, mentre non hanno avuto alcun effetto sui tessuti degli animali trattati con placebo. Dopo 8 mesi dall'ovariectomia, né il PPT né il  $17\beta$ -estradiolo hanno indotto vasodilatazione nei due gruppi di animali. L'acetilcolina ha indotto un rilassamento completo nei tessuti dei ratti ovariectomizzati da 1 e 4 mesi, ma tale effetto è risultato significativamente attenuato e solo parzialmente ripristinato dal trattamento estrogenico dopo 8 mesi dall'ovariectomia. La proteina eNOS è stata rilevata tramite immunoistochimica in tutti i gruppi sperimentali. Tuttavia, l'espressione di eNOS, valutata tramite Western blotting, è risultata più elevata nei lisati endoteliali di aorta dei ratti trattati con estrogeno. Anche l'espressione della peNOS è aumentata in seguito a trattamento estrogenico dopo 1 e 4 mesi, ma non dopo 8 mesi dall'ovariectomia. Questi risultati evidenziano come la durata della deprivazione estrogenica influenzi le risposte vascolari, suggerendo che un intervento tempestivo con agenti estrogenici potrebbe preservare la funzionalità dell'endotelio.

## **Lesioni aterosclerotiche e marker di infiammazione vasale in topi APP23 con deficit di Apolipoproteina E**

G.Tibolla<sup>1,2</sup>, G.D.Norata<sup>1,2</sup>, P.Uboldi<sup>1</sup>, A.L.Catapano<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di scienze farmacologiche Università degli studi di Milano, Italia.  
<sup>2</sup>Centro SISA per lo studio dell'aterosclerosi Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia.

**Introduzione:** Numerose evidenze sperimentali suggeriscono una stretta associazione nell'uomo tra la patologia aterosclerotica e la malattia di Alzheimer (AD) e l'angiopatia amiloidea cerebrale (CAA), tuttavia la natura di questo legame è ancora poco chiara.

Proposito di questo lavoro è stato studiare l'effetto dell'amiloidosi cerebrale sulla progressione dell'aterosclerosi in un modello murino di AD e CAA privo di Apolipoproteina E.

**Materiali e metodi:** I topi usati in questo studio sono stati generati incrociando topi APP23 (overesprimenti a livello neuronale APP751 umana con la mutazione Svezia) con topi ApoE KO. A partire dalla nona settimana di vita gli animali sono stati nutriti per 8 settimane con dieta iperlipidica western-type, dopo il sacrificio è stato effettuato il dosaggio dei lipidi plasmatici, l'analisi morfometrica delle lesioni aterosclerotiche aortiche, lo studio del profilo delle lipoproteine plasmatiche e dell'espressione genica nella parete vasale.

**Risultati:** I livelli di lipidi plasmatici e il profilo del contenuto di colesterolo all'interno delle lipoproteine plasmatiche sono risultati simili nei due gruppi di animali. Tuttavia i topi APP23/ApoE KO hanno sviluppato lesioni aterosclerotiche significativamente maggiori rispetto ai topi ApoE KO (+49% a livello della valvola tricuspide e +79% a livello dell'arco aortico,  $p=0.03$ ).

L'analisi dell'espressione genica a livello della parete vasale ha mostrato un significativo aumento dell'espressione di citochine pro-infiammatorie come MCP-1 ed IL-6 nei topi APP23/ApoE KO rispetto a topi ApoE KO. L'espressione di geni marker per macrofagi e cellule muscolari lisce non ha evidenziato differenze significative mentre è stato riscontrato un decremento significativo dell'espressione dell'antigene CD4, marker dei linfociti T, nei topi APP23/ApoE KO.

**Conclusioni:** I nostri dati suggeriscono che uno stato di amiloidosi a livello cerebrale comporti il peggioramento della patologia aterosclerotica nell'aorta associato ad una aumentata infiammazione vasale. Ulteriori ricerche sono ora indirizzate ad investigare i meccanismi molecolari responsabili degli effetti osservati.

## Monitoraggio della safety delle statine in medicina generale

E Tragni (1), A Filippi (2), GP Mazzaglia (3), E Sessa (3), C Cricelli (2), AL Catapano (1)

1Servizio di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano; 2Società Italiana di Medicina Generale, Firenze; 3The Health Search Database, Firenze

Scopo Verificare la compliance dei medici di medicina generale (MMG) al monitoraggio dei parametri di laboratorio negli utilizzatori di statine, come raccomandato dalle linee-guida.

Metodi E' stato condotto uno studio retrospettivo utilizzando il database Health Search (HS) della Società Italiana di Medicina Generale (SIMG); nella cartella informatizzata, collegata ad HS, è disponibile uno strumento automatico che ricorda periodicamente al MMG di effettuare il controllo degli enzimi epatici nei pazienti in terapia con statine. Sono stati esaminati i soggetti che hanno ricevuto la prima prescrizione di statina nel periodo dal 29 novembre 1999 al 28 novembre 2002. Mediante query sono state raccolte tutte le richieste di determinazioni di CPK, ASL, AST, e creatinina ed i relativi valori precedenti e successivi alla prima prescrizione del farmaco. I tempi minimi e massimi di osservazione dei soggetti dopo la prescrizione sono stati 6 e 42 mesi. La prevalenza di prescrizione degli esami biochimici di monitoraggio è stata calcolata al basale e durante il follow-up per tutti i soggetti. Mediante regressione logistica è stato determinato il rischio (odds ratio [IC 95%]) dei pazienti di non essere monitorati durante la terapia in relazione ad alcune caratteristiche (età sesso, storia di CVD, insufficienza renale ed epatica, diabete).

Risultati Sono stati identificati 14120 primi utilizzatori di statine (maschi 47,4%). I dosaggi di CPK, AST, ALT e creatinina sono stati prescritti al basale almeno una volta nel 8,5%, 53,9%, 50,9%, e 64,0% dei pazienti, rispettivamente; durante il follow-up il 37,8%, 64,4%, 60,3%, e 61,5% dei pazienti ha ricevuto rispettivamente la prescrizione dei suddetti test. Non è stata osservata alcuna differenza significativa nella prevalenza di monitoraggio tra pazienti ad alto rischio (età=80 anni, creatinina serica  $\geq 1,5$  mg/dL) e tutti gli altri. Durante il follow-up livelli enzimatici maggiori di 3 x UNL sono stati registrati nello 0,4%, 0,1%, 0,1%, e 0,3% dei soggetti, rispettivamente per CPK, AST, ALT e creatinina.

Conclusioni L'aderenza alle raccomandazioni riguardanti il monitoraggio biochimico negli utilizzatori di statina, è molto basso tra i MMG italiani, anche nei pazienti ad alto rischio e non mostra trend specifici legati alle caratteristiche dei soggetti. Lo strumento automatico di reminder risulta inefficace.