



SISA Società Italiana per lo Studio della Arteriosclerosi Sezione Regionale Lombarda

**IX Giornata Studio
RICERCA CLINICA E DI BASE
NELL'AREA
CARDIOVASCOLARE
MILANO
3 OTTOBRE 2009**

**Aula Magna
Via Balzaretti 9
Dipartimento Scienze Farmacologiche
Facoltà di Farmacia
Università degli Studi di Milano**

COMITATO SCIENTIFICO

Presidente:

Alberico L. Catapano

Membri:

Antonio C. Bossi

Adriana Branchi

Laura Calabresi

Luigi Colombo

Alberto Corsini

Maurizio Crestani

Andrea Poli

Domenico Sommariva

RELATORI

Laura Calabresi

Università degli Studi di Milano, Milano

Andrea Poli

Centro Studi dell'Alimentazione - N.F.I. - Milano

SEGRETERIA SCIENTIFICA ED ORGANIZZATIVA

SISA Sezione Regionale Lombarda

Piazza Bernini 6 — 20133 Milano

Tel 02 26681313 - Fax. 02 26681107

Email: segreteria@sisalombardia.it

www.sisalombardia.it

RICERCA CLINICA E DI BASE NELL'AREA CARDIOVASCOLARE

Presiede: A. L. Catapano

- 09.00-09.15 Registrazione partecipanti
- 09.15-09.30 **Presentazione della Giornata di Studio**
A. L. Catapano
- 09.30-10.00 **Lettura - Moderatore: L. Colombo**
Novità del controllo non farmacologico della colesterolemia
A. Poli
- 10.00-12.45 **Comunicazioni orali in seduta plenaria - I Sessione**
Presiedono: *A. Branchi - A.C. Bossi - A. Poli*
- 12.45-13.00 **Consegna Premio "Giovanni Galli"**
Presiede: *Marzia Galli Kienle*
- 13.00-14.00 Intervallo lavori
- 14.00-14.30 **Lettura - Moderatore: D. Sommariva**
Le ipoalfalipoproteinemie
L. Calabresi
- 14.30-17.30 **Comunicazioni orali in seduta plenaria - II Sessione**
Presiedono: *L. Calabresi - A. Corsini - M. Crestani*
- 17.30 Assemblea dei Soci

INDICE DELLE SESSIONI ORALI

Sessione I - ore 10.00-12.45 - Aula A

1. Lucia Cutuli
2. Alessandra Bonomo
3. Gaia Cermenati
4. Patrizia Amadio
5. Elena Zacchi
6. Gianpaolo Tibolla
7. Enrico Ammirati
8. Katia Garlaschelli
9. Manuela Casula
10. Paola M Salvatore
11. Roberto Mereu
12. Lorenzo Maroni

Sessione II - ore 14.30-17.30 - Aula A

1. Nicola Ferri
2. Federica Gilardi
3. Silvana Pileggi
4. Elisa Volpi
5. Paola Conca
6. Sara Simonelli
7. Enrico Ammirati
8. Barbara Filippini
9. Ilaria Ferrari
10. Maurizio Coronelli
11. Luana Castiglioni
12. Anna Boggio
13. Pamela Maffioli

1) 15LIPOSSIGENASI E MODIFICAZIONE LIPOPROTEICA: EFFETTI SULL'ATTIVITA' ENDOTELIO PROTETTIVA DELLE HDL₃

Lucia Cutuli, Angela Pirillo, Nicola Ferri, Alberico L. Catapano
Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Milano

pag. 1

2) L'ACCUMULO DI COLESTEROLO FAVORISCE LA TRANS-DIFFERENZIAZIONE DI CELLULE MUSCOLARI LISCE IN CELLULE DI TIPO MACROFAGICO

Alessandra Bonomo, Monica Canavesi, Chiara Anelli, Alberto Corsini, Stefano Bellostà
Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Facoltà di Farmacia, Università di Milano, Milano, Italia

pag. 2

3) EFFETTI DELL'ATTIVAZIONE DI LXRS SULLA SINTESI DI NEUROSTEROIDI NEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE E PERIFERICO IN UN MODELLO DI NEUROPATIA DIABETICA

Cermenati G.*, Giatti S.[°], Maschi O.*, Pesaresi M.[°], Saez E.[¶], De Fabiani E.*, Crestani M.*, Caruso D.*, Melcangi R.C.*, and Mitro N.*

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

[°]Department of Endocrinology, Università degli Studi di Milano.

[¶]Scripps Research Institute, USA

pag. 3

4) IL FUMO DI SIGARETTA REGOLA L'ESPRESSIONE E L'ATTIVITA' DELLA PROSTAGLANDINA E SINTASI (PGES): RUOLO DELLA PROSTACICLINA E DELLA NADPH OSSIDASI.

Patrizia Amadio*, Silvia S. Barbieri*, Elena Zacchi*, Sara Gianellini*, Elena Tremoli[°]

*Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Milano;

[°]Centro Cardiologico Monzino, Milano

pag. 4

5) RUOLO DEI METABOLITI DELLA CICLOOSSIGENASI-2 (COX2) NELLA REGOLAZIONE DEL FATTORE TISSUTALE (TF) INDOTTO DA FUMO DI SIGARETTA

Elena Zacchi*, Silvia S. Barbieri*, Sara Gianellini*, Patrizia Amadio*, Elena Tremoli[°]

*Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Milano;

[°]Centro Cardiologico Monzino, Milano

pag. 5

6) RUOLO DELLA VARIANTE S447X DEL GENE LIPOPROTEINA LIPASI SULL'ATEROSCLEROSI CAROTIDEA

Tibolla G.^{1,2}, Norata G.D.^{1,2}, Garlaschelli K.², Tramontana S.², Grigore L.², Catapano A.L.²

1.Laboratorio di lipoproteine ed aterosclerosi, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli studi di Milano

2.Centro SISA per lo studio dell'aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo Milano

pag. 6

7) LIVELLI DEI LINFOCITI T REGOLATORI (TREG) NELLA MALATTIA ATEROSCLEROTICA CAROTIDEA E CORONARICA

Enrico Ammirati¹, Domenico Cianflone¹, Michela Banfi¹, Viviana Vecchio¹, Alessio Palini¹, Katia Garlaschelli², Angelo Arzuini³, Altin Pallosi³, Davide Tavano⁴, Flavio Airoidi⁴, Angelo A. Manfredi¹, Alberico Luigi Catapano², Attilio Maseri¹ e Giuseppe Danilo Norata²

¹Clinical Cardiovascular Biology Centre, San Raffaele Scientific Institute; ²Dipartimento di Farmacologia e Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi, Società Italiana per lo Studio della Aterosclerosi, ³Clinica Città Studi e ⁴Multimedia, Milano, Italia

pag. 7

8) UTILIZZO DI UNA NUOVA TECNOLOGIA AD ALTA PROCESSIVITÀ PER LA DIAGNOSI GENETICA DI IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE

Garlaschelli K.^{*}, Norata G.D.^{*§}, Grigore L.^{*}, Pellegatta F.^{*§}, Calandra S.[°] e Catapano A.L.^{*§}

^{*}Centro SISA per lo Studio della Aterosclerosi, H.Bassini, Cinisello Balsamo, Milano

[§]Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

[°]Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Modena e Reggio Emilia

pag. 8

9) LIVELLI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE E TARGET LIPIDICI: LO STUDIO CHECK

Manuela Casula¹, Andrea Poli^{1,2}, Elena Tragni¹, Alessandro Filippi³, Alberico L Catapano¹

1-SEFAP (Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva), Università degli Studi di Milano

2-NFI (Nutrition Foundation of Italy), Milano

3-SIMG (Società Italiana di Medicina Generale)

pag. 9

10) VALUTAZIONE DI ALCUNI FATTORI DI RISCHIO CARDIOMETABOLICI IN UNA POPOLAZIONE INDIGENA PERUVIANA: IL PROGETTO ADB-PERU'

Paola M Salvatore¹, Alberto Bossi¹, Giovanna Crotto², Chiara Gnasso², Maria E. Huanca Amable¹, Paolo Morelli³, Andrea Rossi⁴, Francesco Cremasco⁴, José L. Lizarraga⁵, Antonio C. Bossi²

¹Associazione Diabetici Bergamaschi, ONLUS, e ²Unità Operativa Malattie Metaboliche e Diabetologia, A.O. Ospedale Treviglio-Caravaggio, Treviglio (BG);

³CROS-NT, Verona; ⁴Direzione Medica, Eli Lilly Italia S.p.A.; ⁵Centro Medico Santa Teresa, Abancay, Peru

pag. 10

11) EFFETTI DI SITAGLIPTIN O METFORMINA ASSOCIATI A PIOGLITAZONE IN PAZIENTI DIABETICI SCARSAMENTE CONTROLLATI

Roberto Mereu (1), Pamela Maffioli (1), Sibilla A.T. Salvadeo (1), Ilaria Ferrari (1), Alessia Gravina (1), Ilaria Palumbo (1), Sabrina Randazzo (1), Angela D'Angelo (1), Arrigo F.G. Cicero (2), Giuseppe Derosa (1).

(1) Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Clinica Medica II, Università di Pavia, Ambulatori di Diabetologia e Malattie Metaboliche, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo

(2) "G. Descovich" Centro per lo studio dell'aterosclerosi, "D. Campanacci", Dipartimento di Medicina clinica e Biotecnologia Applicata, Università di Bologna, BOLOGNA, Italia

pag. 11

12) PAZIENTI DISLIPIDEMICI AFFETTI DA STEATO-EPATITE NON ALCOLICA: RUOLO DELLA TERAPIA CON STATINA SU PROFILO LIPIDICO E FUNZIONE EPATICA

Lorenzo Maroni, Luigina Guasti, Luana Castiglioni, Franca Marino, Alessandra De Leo, Sara Contini, Valentina Macchi, Matteo Tozzi, Marco Cosentino, Achille Venco
Università dell'Insubria, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Varese

pag. 12

1) IDENTIFICAZIONE DI NUOVI INIBITORI SELETTIVI DELLA PROTEINA RAC1: POSSIBILI IMPLICAZIONI FARMACOLOGICHE

Nicola Ferri, Alessandro Contini e Alberto Corsini
Dipartimento di Scienze Farmacologiche

pag. 13

2) IL NUOVO AGONISTA PPAR ALFA/GAMMA LT175 MIGLIORA L'OMEOSTASI DEL GLUCOSIO E RIDUCE LA MASSA GRASSA IN UN MODELLO MURINO DI DIET-INDUCED OBESITY (DIO)

F. Gilardi¹, N. Mitro¹, M. Giudici¹, G. Cermenati¹, U. Guerrini¹, E. Tremoli¹, G. Rando¹, A. Maggi¹, F. Loiodice², G. Fracchiolla², A. Laghezza², G. Pochetti³, A. Lavecchia⁴, E. De Fabiani¹, D. Caruso¹ and M. Crestani¹

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano; ²Università di Bari; ³CNR, Montelibretti, Roma; ⁴Università di Napoli

pag. 14

3) CARATTERIZZAZIONE GENETICO-MOLECOLARE DEL GENE LCAT

Silvana Pileggi¹, Paola Conca², Alessandro Marocchi¹, Guido Franceschini², Silvana Penco¹, Laura Calabresi²

¹Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Genetica Medica, Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano

²Centro Grossi-Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Milano

pag. 15

4) I FUROSSANI INIBISCONO LA PROLIFERAZIONE CELLULARE MEDIANTE UN MECCANISMO ANTIOSSIDANTE? EVIDENZE IN CELLULE MUSCOLARI LISCE

L. Arnaboldi¹, E. Volpi[°], V. Nicolini¹, S. Volpe¹, L. Lazzarato², M. Crosetti², R. Fruttero², A. Gasco², A. Corsini¹.

[°]Dip. Med. Chirurg. Odont. e ¹Dip. Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, ²Dip. Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università degli Studi di Torino

pag. 16

5) IL PROCESSO DI ESTERIFICAZIONE DEL COLESTEROLO E' COMPROMESSO NEI PAZIENTI CON INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

Paola Conca^{*}, Silvana Pileggi[°], Silvana Penco[°], Ghil Busnach[#], Guido Franceschini^{*} e Laura Calabresi^{*}.

^{*}Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

[°]Laboratorio di Genetica Medica, Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano

[#]Dipartimento di Nefrologia, Dialisi e del Trapianto Renale, Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano

pag. 17

6) UN CASO DI DEFICIT DI LCAT SECONDARIO A LINFOMA MALIGNO NON-HODGKIN

Sara Simonelli, Elisabetta Gianazza, Giuliana Mombelli, Cesare R. Sirtori, Guido Franceschini, Laura Calabresi

Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Italia

pag. 18

7) PATTERN CITOCHINICO DISTINTIVO NEI PAZIENTI CON INFARTO MIOCARDICO ACUTO CON SOPRALIVELLAMENTO DEL TRATTO ST (STEMI) E ALTI LIVELLI CIRCOLANTI DI INTELEUCHINA-6 (IL-6)

Enrico Ammirati¹, Carlo V. Cannistraci², Nicole A. Cristell¹, Viviana Vecchio¹, Anna M. Paganoni³, Laura M. Sangalli³, Alessio Palini¹, Alberto Monello¹, Michela Banfi¹, Monica De Metrio⁴, Giancarlo Marenzi⁴, Dayi Hu⁵, Neal Uren⁶, Timothy Ravasi⁷, Domenico Cianflone¹, Angelo A. Manfredi¹ e Attilio Maseri¹

¹Clinical Cardiovascular Biology Centre, San Raffaele Scientific Institute, Milano

²Dipartimento di Meccanica e CMP Group Microsoft Research, Politecnico di Torino, ³MOX, Dipartimento di Matematica, Politecnico di Milano, ⁴Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Dipartimento di Scienza Cardiovascolari, Università di Milano, ⁵People's Hospital of Beijing, China, ⁶Royal Infirmary of Edinburgh, United Kingdom e ⁷Department of Medicine and Bioengineering, University of California San Diego, La Jolla, USA

pag. 19

8) VALUTAZIONE DEL DOSAGGIO DI MIELO-PEROSSIDASI PLASMATICA E DI ALCUNI FATTORI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE IN PAZIENTI DIABETICI TIPO 2

Filippini B., Balini A., Berzi D., Meregalli G., Cremonesi B., Biffi M.*, Calatroni S., Costardi A.*, Vernocchi A.*, Tragni E.°, Catapano A.L.°, Bossi A.C.

U.O. Malattie Metaboliche e Diabetologia. e *U.O. Medicina di Laboratorio, A.O. Treviglio – Caravaggio (BG); Dipartimento Scienze Farmacologiche, Università di Milano, Centro Studio e Prevenzione Aterosclerosi Treviglio (BG)

pag. 20

9) EFFETTI DI UN ANNO DI TRATTAMENTO CON EXENATIDE PARAGONATO A GLIBENCLAMIDE IN PAZIENTI DIABETICI DI TIPO 2

Ilaria Ferrari (1), Sibilla A.T. Salvadeo (1), Pamela Maffioli (1), Roberto Mereu (1), Alessia Gravina (1), Ilaria Palumbo (1), Sabrina Randazzo (1), Angela D'Angelo (1), Arrigo F.G. Cicero (2), Giuseppe Derosa (1).

(1) Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Clinica Medica II, Università di Pavia, Ambulatori di Diabetologia e Malattie Metaboliche, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo

(2) "G. Descovich" Centro per lo studio dell'aterosclerosi, "D. Campanacci", Dipartimento di Medicina clinica e Biotecnologia Applicata, Università di Bologna, BOLOGNA, Italia

pag. 21

10) IL RUOLO DELLA MICROALBUMINURIA NEL PAZIENTE DIABETICO: STUDIO OSSERVAZIONALE PRESSO L'AMBULATORIO DEL MEDICO DI MEDICINA GENERALE

M. Coronelli, M. Mezzadra, I. Coronelli.

ASL 312 Pavia

pag. 22

11) "PATTERNS" DI DEPOSITO DI CALCIO-FOSFORO NELLE PLACCHE CAROTIDEE NELL'UOMO

Castiglioni L*, Guasti L*, Maroni L*, Marino F*, Congiu T[§], Tozzi M[°], Schembri L*, Maio RC*, Quacci DE[§], Dell'Orbo C[§], Castelli P[°], De Leo A*, Contini S*, Cosentino M*, Venco A*.

*Dipartimento di Medicina Clinica.

§Dipartimento di Morfologia Umana.

°Dipartimento di Scienze Chirurgiche.

pag. 23

12) SINDROME METABOLICA E FATTORI DI RISCHIO ASSOCIATI IN UNA POPOLAZIONE AMBULATORIALE DI SOGGETTI DISLIPIDEMICI: PREVALENZA E DIFFERENZE DI GENERE.

Boggio A., Fiscella M.[°], Malnis D.*, Muzio F[°], Fiorenza A.M.

Centro Aterosclerosi A.O.G. Salvini, Garbagnate Milanese; *Medicina Specialistica ASL1Milano; °Nutrizione Clinica A.O.L. Sacco, Milano

pag. 24

13) EFFETTI DI UN ANNO DI TRATTAMENTO CON VILDAGLIPTIN ASSOCIATO A PIOGLITAZONE O GLIMEPIRIDE IN PAZIENTI DIABETICI SCARSAMENTE CONTROLLATI

Pamela Maffioli (1), Sibilla A.T. Salvadeo (1), Ilaria Ferrari (1), Roberto Mereu (1), Alessia Gravina (1), Ilaria Palumbo (1), Sabrina Randazzo (1), Angela D'Angelo (1), Arrigo F.G. Cicero (2), Giuseppe Derosa (1)

(1) Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Clinica Medica II, Università di Pavia, Ambulatori di Diabetologia e Malattie Metaboliche, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo

(2) "G. Descovich" Centro per lo studio dell'aterosclerosi, "D. Campanacci", Dipartimento di Medicina clinica e Biotecnologia Applicata, Università di Bologna, BOLOGNA, Italia

pag. 25

15LIPOSSIGENASI E MODIFICAZIONE LIPOPROTEICA: EFFETTI SULL'ATTIVITA' ENDOTELIO PROTETTIVA DELLE HDL₃

Lucia Cutuli, Angela Pirillo, Nicola Ferri, Alberico L. Catapano

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Milano

Le HDL svolgono un importante ruolo nel promuovere il trasporto inverso di colesterolo e mantengono la funzionalità endoteliale attraverso la produzione di ossido nitrico (NO). La 15-lipossigenasi (15-LO) è in grado di modificare le HDL₃ riducendo la loro efficienza come accettori di colesterolo, l'attività antinfiammatoria ed endotelio-protettiva.

Scopo di questo lavoro è quello di valutare l'effetto dell'ossidazione delle HDL₃ sulla produzione di NO e l'attivazione ed espressione di ossido nitrico sintetasi endoteliale (eNOS).

Le HDL₃ aumentano sia l'espressione che la fosforilazione ($1,82 \pm 0,46$ $p < 0,05$ vs Ctrl) di eNOS in cellule endoteliali umane, effetto che non si osserva in cellule trattate con 15LO-HDL₃. Questo si traduce in un aumento della concentrazione di NO in cellule incubate con HDL₃, l'NO aumenta di circa 4 volte nelle cellule trattate con 300µg/ml di HDL₃ rispetto alle cellule controllo, mentre questo non si osserva in cellule trattate con 15LO-HDL₃.

Poiché SR-BI è il recettore attraverso il quale le HDL₃ attivano eNOS a livello delle caveole, è stato valutato il ruolo di HDL₃ e 15LO-HDL₃ sull'espressione di SR-BI, di caveolina-1 (CAV-1) e di eNOS in una linea cellulare overesprimente SR-BI (Eahy-SR-BI). Queste cellule sono caratterizzate da un'elevata espressione di SR-BI (aumenta di circa 150 volte mRNA e di circa sei volte la proteina rispetto alle cellule wild type), con conseguente aumentata interazione con HDL₃. In tali cellule, l'espressione di eNOS mRNA è aumentata di circa due volte in condizioni basali mentre non si osservano differenze nell'espressione di CAV-1 mRNA rispetto alle cellule Eahy non overesprimenti SR-BI. L'incubazione delle cellule Eahy-SR-BI con HDL₃ determina inoltre un aumento dei livelli di CAV-1, SR-BI ed eNOS mRNA, aumenti che non si osservano in seguito ad incubazione di queste cellule con 15LO HDL₃.

In conclusione i dati ottenuti suggeriscono che la modificazione delle HDL₃ con 15-lipossigenasi riduce in vitro le caratteristiche ateroprotettive delle HDL, suggerendo un possibile ruolo di questo enzima nella disfunzione endoteliale, che rappresenta uno degli eventi più precoci nello sviluppo dell'aterosclerosi.

L'ACCUMULO DI COLESTEROLO FAVORISCE LA TRANS-DIFFERENZIAZIONE DI CELLULE MUSCOLARI LISCE IN CELLULE DI TIPO MACROFAGICO

Alessandra Bonomo, Monica Canavesi, Chiara Anelli, Alberto Corsini, Stefano Bellosta

Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Facoltà di Farmacia, Università di Milano, Milano, Italia

I macrofagi, accumulando colesterolo ed esteri del colesterolo attraverso l'azione dell'enzima esterificante ACAT, diventano cellule schiumose e partecipano in tal modo alla formazione dell'ateroma. E' noto che le cellule schiumose originano dai monociti circolanti richiamati nella parete dei vasi, ma è anche possibile che alcune cellule schiumose possono originare da cellule muscolari lisce (CML). Rong (PNAS, 2003) ha dimostrato in vitro che, dopo il caricamento con colesterolo, le CML assumono rapidamente l'aspetto di cellule schiumose e perdono l'espressione di markers delle CML. Sulla base di queste osservazioni, abbiamo voluto caratterizzare ulteriormente il processo di transdifferenziazione delle CML in macrofagi. Pertanto, cellule muscolari lisce sono state isolate dall'aorta di topi C57/BL6 e caricate con colesterolo libero complessato con metil-beta-ciclodestrina. Dopo il caricamento con colesterolo, le CML hanno perso l'espressione dei markers del fenotipo muscolare, come la miosina e l'alfa-actina, e rapidamente hanno assunto l'aspetto di cellule schiumose con goccioline lipidiche (rilevate con colorazione con Oil Red O).

Il contenuto del colesterolo cellulare totale (soprattutto colesterolo estere) è aumentato di 2-3 volte, incremento dovuto per la maggior parte all'aumento dell'attività dell'enzima ACAT, attività che può essere inibita da un ACAT-inibitore o in presenza di HDL. L'aggiunta sia di colesterolo non ipoproteico (veicolato in etanolo), sia di lipoproteine come le LDL e LDL modificate non ha avuto nessun effetto sull'attività di ACAT. Infine, il caricamento con colesterolo ha indotto l'espressione di ABCA1 (sia come proteina che come mRNA) e la produzione di ossido nitrico, sebbene l'espressione di molecole di adesione, come ICAM-1 e VCAM-1, non è stata alterata. Questi risultati indicano che le cellule muscolari lisce, dopo il caricamento con colesterolo, possono trasformarsi in cellule macrofagiche di tipo schiumoso con alcune caratteristiche pro-aterogeniche.

EFFETTI DELL'ATTIVAZIONE DI LXRS SULLA SINTESI DI NEUROSTEROIDI NEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE E PERIFERICO IN UN MODELLO DI NEUROPATIA DIABETICA

Cermenati G.*, Giatti S.[°], Maschi O.*, Pesaresi M.[°], Saez E.[¶], De Fabiani E.*, Crestani M.*, Caruso D.*, Melcangi R.C.*, and Mitro N.*

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

[°]Department of Endocrinology, Università degli Studi di Milano.

[¶]Scripps Research Institute, USA.

L'aumento di steroidi neuroattivi a livello del sistema nervoso rappresenta un possibile approccio terapeutico per la neuropatia diabetica. Un simile effetto può essere ottenuto anche agendo sull'omeostasi del colesterolo. I recettori nucleari Liver X Receptors (LXRs) sono importanti nell'omeostasi del colesterolo, precursore per la sintesi degli steroidi. Lo scopo del lavoro è valutare se l'attivazione di questi recettori ha un ruolo nella modulazione della sintesi di neurosteroidi a livello del sistema nervoso centrale e periferico. Il modello di neuropatia diabetica utilizzato è rappresentato da ratti iniettati con streptozotocina (STZ). Dopo due mesi gli animali sono stati trattati per un mese con un ligando sintetico di LXRs (GW3965) oppure con il veicolo. Ratti non-diabetici presentavano una glicemia di circa 80 mg/dl, una sensibilità termica di circa 10 secondi e una conduttività nervosa di 30 m/sec. I ratti STZ presentavano una glicemia intorno a 700 mg/dl, una sensibilità termica di circa 25 secondi e la conduttività nervosa scendeva a 20 m/sec. La somministrazione di GW3965 ai ratti STZ non aveva effetto sui valori di glicemia ma migliorava i parametri di sensibilità termica e conduttività nervosa riportandoli ai livelli dei ratti non diabetici. Allo scopo di valutare l'effetto protettivo dell'attivazione di LXRs sulla neuropatia diabetica, abbiamo analizzato i livelli di neurosteroidi nel nervo sciatico e nel midollo mediante LC-MS/MS. I risultati hanno evidenziato un ridotto livello di androgeni e progestinici nei ratti STZ controllo. I ratti STZ trattati con GW3965 presentavano livelli di androgeni paragonabili agli animali STZ controllo, mentre la maggior parte degli steroidi progestinici risalivano ai livelli dei ratti non-diabetici nei due tessuti analizzati. In conclusione l'attivazione di LXRs migliora il fenotipo della neuropatia diabetica sia a livello del sistema nervoso centrale che periferico agendo principalmente sui livelli di steroidi neuroattivi.

IL FUMO DI SIGARETTA REGOLA L'ESPRESSIONE E L'ATTIVITA' DELLA PROSTAGLANDINA E SINTASI (PGES): RUOLO DELLA PROSTACICLINA E DELLA NADPH OSSIDASI.

Patrizia Amadio*, Silvia S. Barbieri*, Elena Zacchi*, Sara Gianellini*, Elena Tremoli**°

*Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Milano;

°Centro Cardiologico Monzino, Milano.

Il fumo di sigaretta è implicato in tutte le fasi dell'aterotrombosi: dalle disfunzioni endoteliali all'evento clinico acuto. Dati precedentemente da noi prodotti dimostrano che, in cellule endoteliali cardiache murine (MCEC), un estratto acquoso del fumo di sigaretta (TS) in associazione a una citochina infiammatoria (IL-1 β) aumenta la produzione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e della cicloossigenasi-2, enzima deputato alla produzione di prostanoidei.

Il presente studio esplora i meccanismi molecolari, in particolare il ruolo della NADPH-ossidasi, con cui il TS+IL-1 β modula in vitro e in vivo l'espressione e l'attività dell'enzima PGE sintasi (PGES) e prostaciclina sintasi (PGIS), i cui prodotti giocano un ruolo chiave nella disfunzione endoteliale. In MCEC il trattamento con TS+IL-1 β modula la produzione di PGE2 e PGI2. In particolare, aumenta la PGE2 e l'espressione di PGES (mRNA e proteina), mentre la PGI2 si riduce in seguito ad un processo di nitrosilazione dell'enzima PGIS. La diretta inibizione dell'enzima NADPH-ossidasi mediante inibitori farmacologici o il silenziamento della sua subunità catalitica p47phox, prevengono completamente la produzione di ROS e la sintesi e l'attività della PGES indotti da TS+IL-1 β . La preincubazione delle MCEC con carbaciclina, un analogo stabile della PGI2, modula negativamente la PGES, e riduce la produzione di ROS indotta da TS+IL-1 β . Inoltre, sia la ridotta produzione di PGI2, mediata dal silenziamento transiente della PGIS, che la sua impossibilità di interagire col recettore specifico, mediante l'utilizzo di un suo antagonista recettoriale, inducono l'attivazione della NADPH-ossidasi, la sintesi di PGES e la produzione di PGE2. Infine, in aorte di topi ApoE $^{-/-}$ esposti a fumo di sigaretta si osserva un aumento di PGIS nitrosilata, di traslocazione di p47phox alla membrana, indice dell'aumentata attivazione della NADPH-ossidasi, e di PGES rispetto ai topi controllo, analogamente a quanto osservato negli studi in vitro. In conclusione, il fumo di sigaretta in associazione a stimoli infiammatori riducendo la produzione di PGI2, mediante deattivazione per nitrosilazione della PGIS, induce l'attivazione della NADPH-ossidasi con conseguente produzione di ROS. ROS che a loro volta aumentano la sintesi di PGES e la produzione di PGE2, che può innescare una cascata di eventi favorevoli all'insorgenza della disfunzione endoteliale e delle patologie ad essa conseguenti.

RUOLO DEI METABOLITI DELLA CICLOOSSIGENASI-2 (COX2) NELLA REGOLAZIONE DEL FATTORE TISSUTALE (TF) INDOTTO DA FUMO DI SIGARETTA

Elena Zacchi*, Silvia S. Barbieri*, Sara Gianellini*, Patrizia Amadio*, Elena Tremoli*°

*Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Milano;

°Centro Cardiologico Monzino, Milano.

Fumare rappresenta uno dei fattori di rischio più importanti per l'insorgenza di patologie aterotrombotiche. Dati sperimentali dimostrano che l'esposizione di topi APOE^{-/-} al fumo di sigaretta aumenta l'espressione di cicloossigenasi-2 (COX2), enzima chiave nella risposta infiammatoria, e di fattore tissutale (TF), iniziatore della cascata coagulativa. Alla luce di questi dati, lo scopo dello studio è stato quello di valutare in cellule endoteliali se e come i metaboliti della COX2 (PGE2 e PGI2) modulano l'espressione e l'attività del TF indotto dal fumo di sigaretta.

L'esposizione di cellule endoteliali cardiache di origine murina (MCEC) ad un estratto acquoso di fumo di sigaretta (TS) in associazione con la citochina pro-infiammatoria IL-1 β induce la sintesi e l'attività del TF ed altera il bilancio fisiologico tra PGE2/PGI2, aumentando la produzione di PGE2 e riducendo la produzione di PGI2. L'inibizione di PGE2 mediante l'utilizzo di NS398 e di CAY10526, inibitori rispettivamente della COX2 e della PGE sintasi (PGES), o il silenziamento transiente della PGES, mediante specifico siRNA, riducono in modo marcato il TF indotto dalla combinazione dei due stimoli, TS/IL-1 β . Al contrario, l'aggiunta di PGE2 esogena, mediante l'utilizzo di un analogo stabile della PGE2, aumenta la sintesi di TF, in modo simile a quanto osservato incubando le MCEC con TS/IL-1 β . Abbiamo quindi circostanziato il ruolo dei recettori EP1, EP2, EP4, i solo presenti in MCEC, nella regolazione del TF. Mentre gli antagonisti del recettore EP1, AH6809 e SC19220 prevengono l'espressione di TF indotta da TS/IL-1 β , l'antagonista del recettore EP4 (GW627368X) non ha alcun effetto. Il coinvolgimento di EP2 ed EP4 è stato escluso in quanto misoprostolo, agonista di EP2/EP4, e butaprostolo, agonista di EP2, non sono in grado di indurre l'espressione di TF in MCEC. Inoltre, mentre l'antagonista del recettore della prostaciclina (PGI2) (CAY10441) induce la sintesi e l'attività del TF, l'analogo stabile della PGI2 (carbacciclina) ne previene l'aumento indotto dal trattamento. In conclusione, il fumo di sigaretta regola il TF sia mediante l'attivazione di una via PGE2/EP1 dipendente che l'inibizione di una via PGI2 dipendente, suggerendo ruoli contrapposti dei due metaboliti nell'ambito dell'aterotrombosi.

RUOLO DELLA VARIANTE S447X DEL GENE LIPOPROTEINA LIPASI SULL'ATEROSCLEROSI CAROTIDEA

Tibolla G.^{1,2}, Norata G.D.^{1,2}, Garlaschelli K.², Tramontana S.², Grigore L.², Catapano A.L.²

1.Laboratorio di lipoproteine ed aterosclerosi, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli studi di Milano

2.Centro SISA per lo studio dell'aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo Milano

INTRODUZIONE: La lipasi lipoproteica (LPL) è un enzima chiave del metabolismo lipidico, essa catalizza l'idrolisi dei trigliceridi contenuti nelle lipoproteine ricche in trigliceridi (TGRLP), come chilomicroni e VLDL. La variante del gene LPL S447X porta alla formazione di una proteina tronca con una maggiore efficienza di idrolisi che si associa con diminuiti livelli di trigliceridi plasmatici. Il ruolo però di questa variante sulla malattia cardiovascolare è controverso, scopo di questo studio è stato valutare l'effetto di LPL S447X sullo spessore medio intimale della carotide comune (IMT) e le possibili interazioni con gli aplotipi dell'apolipoproteina E (ApoE).

METODI E RISULTATI: La presenza del polimorfismo è stata determinata mediante real time PCR su 1541 soggetti arruolati nello studio PLIC. I risultati sono stati quindi correlati con il profilo cardiometabolico e con lo spessore medio intimale carotideo.

I portatori dell'allele S447X mostrano una diminuzione significativa dei livelli plasmatici di trigliceridi (TG) rispetto ai controlli (100,26 mg/dL vs 112,78 mg/dL, $p < 0,01$), mentre non sono state osservate differenze significative nei livelli di colesterolo totale e colesterolo LDL e nei valori di IMT. Considerando gli aplotipi del gene ApoE, i soggetti ApoE $\epsilon 2$ presentano valori di colesterolo plasmatico totale, colesterolo LDL e di IMT più bassi rispetto a soggetti ApoE $\epsilon 3$ e ApoE $\epsilon 4$. Quando la presenza dell'allele S447X viene stratificata in base agli aplotipi del gene ApoE, i portatori dell'allele LPLS447X mostrano ancora livelli di trigliceridi plasmatici significativamente più bassi, indipendentemente dai valori di colesterolo totale e colesterolo LDL, senza alcun effetto aggiuntivo sui valori di IMT. Il ruolo del polimorfismo S447X sulla progressione di IMT è stato poi studiato in 848 soggetti che hanno effettuato la visita di follow up a distanza di due e sette anni, tuttavia anche in questo caso non sono state viste differenze tra i diversi genotipi, anche dopo combinazione con gli aplotipi di ApoE.

CONCLUSIONI: Il polimorfismo LPL S447X si associa con una diminuzione dei livelli di TG plasmatici, tale diminuzione, indipendente dai livelli di colesterolo totale e colesterolo LDL, non ha però alcun effetto significativo sull'aterosclerosi carotidea.

LIVELLI DEI LINFOCITI T REGOLATORI (TREG) NELLA MALATTIA ATEROSCLEROTICA CAROTIDEA E CORONARICA

Enrico Ammirati,¹ Domenico Cianflone,¹ Michela Banfi,¹ Viviana Vecchio,¹ Alessio Palini,¹ Katia Garlaschelli,² Angelo Arzuini,³ Altin Pallosi,³ Davide Tavano,⁴ Flavio Airoldi,⁴ Angelo A. Manfredi,¹ Alberico Luigi Catapano,² Attilio Maseri¹ e Giuseppe Danilo Norata²

¹Clinical Cardiovascular Biology Centre, San Raffaele Scientific Institute; ²Dipartimento di Farmacologia e Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi, Società Italiana per lo Studio della Aterosclerosi, ³Clinica Città Studi e ⁴Multimedia, Milano, Italia

INTRODUZIONE: Le Treg riducono la formazione dell'aterosclerosi sperimentale. L'analisi del comportamento delle Treg nell'uomo potrebbe avere implicazioni sulla comprensione dei meccanismi patologici e terapeutiche. L'obiettivo dello studio è di valutare i livelli di Treg circolanti negli stadi iniziali e tardivi dello sviluppo della placca aterosclerotica a livello carotideo e coronarico.

METODI E RISULTATI: Abbiamo studiato due distinte popolazioni: a) 119 selezionati dalla popolazione generale (studio PLIC), nella quale abbiamo misurato l'ispessimento medio intimale (intima-media thickness [IMT]) dell'arteria carotide comune, come marker surrogato di iniziale aterosclerosi. b) 124 pazienti con diverse manifestazioni della malattia coronarica (36 con angina cronica stabile [CSA], 49 con sindrome coronarica acuta senza sopralivellamento del tratto ST [NSTACS], 39 con infarto miocardico acuto con sopralivellamento del tratto ST [STEMI] e 75 controlli arruolati nello studio BLINK.

Nel primo gruppo abbiamo valutato i livelli di Treg mediante il citofluorimetro (CD3+CD4dimCD25highCD127low) e mediante l'espressione dell'mRNA di FoxP3 e IL-10. Non è stata trovata nessuna correlazione significativa tra i livelli di Treg e l'IMT osservata e similmente i livelli di Treg non cambiano confrontando i rapidi verso i lenti progressori di IMT (con 6 anni di follow up).

Nel secondo gruppo abbiamo valutato mediante tecnica citofluorimetrica a 5 colori (CD3, CD4, CD25, CD69 and CCR-5) i linfociti T CD3+CD4dimCD25highCCR5+Treg e i livelli circolanti della citochina antiinfiammatoria IL-10.

Le Treg sono risultate aumentate negli STEMI e ridotte nelle NSTACS rispetto ai controlli e ai pazienti con CSA ($P < 0.001$). I controlli e i pazienti con aterosclerosi coronarica critica stabile appartenenti al gruppo CSA non differivano per i livelli di Treg. Ad un follow up di circa 45 giorni si è osservato un significativo incremento delle Treg sia nei NSTACS che negli STEMI. I livelli di IL-10 hanno mostrato un simile comportamento delle Treg.

CONCLUSIONE: sebbene sono state osservate minime variazioni dei livelli di Treg associate con la destabilizzazione della placca coronarica, i livelli di Treg circolanti non appaiono differire in stadi differenti della malattia aterosclerotica umana. Questi dati suggeriscono che la rilevanza delle Treg circolanti possa essere limitata alle manifestazioni acute come gli STEMI e le NSTACS.

UTILIZZO DI UNA NUOVA TECNOLOGIA AD ALTA PROCESSIVITÀ PER LA DIAGNOSI GENETICA DI IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE

Garlaschelli K.*, Norata G.D.*[§], Grigore L.* , Pellegatta F.*[§], Calandra S.[°] e Catapano A.L.*[§]

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

[§]Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

[°]Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Modena e Reggio Emilia

L'ipercolesterolemia familiare (FH) è una patologia a base genetica relativamente frequente, trasmessa con carattere autosomico dominante e caratterizzata da alti livelli di colesterolo totale (TC) e colesterolo LDL (LDL-C) e da eventi cardiovascolari precoci. La malattia è principalmente determinata da un difetto del gene che codifica per il recettore delle LDL (LDL-R) che si associa ad un'alterazione del legame tra il recettore e le LDL. Più raramente l'ipercolesterolemia familiare è associata a difetti del gene che codifica per l'Apolipoproteina B (APOB) e per la proteina convertasi subtilisina/kexina, tipo 9 (PCSK9).

Nella pratica clinica, l'identificazione del paziente FH, avviene mediante l'utilizzo di uno score di diagnosi (MEDPED) basato sulla valutazione della presenza di storia familiare, eventi cardiovascolari precoci, valori di colesterolo LDL elevati, presenza di xantomi e arco corneale. Tuttavia, soprattutto per i pazienti eterozigoti, la certezza assoluta di diagnosi FH deriva dall'analisi genetica. Attualmente questa viene effettuata mediante amplificazione e sequenziamento delle regioni del DNA dei geni associati a FH. Questa metodica, pur essendo sicura ed affidabile, necessita, tuttavia, di un lungo lavoro che la rende poco utilizzabile nella pratica clinica. Negli ultimi anni lo sviluppo delle tecnologia ad alta processività ha permesso la realizzazione di piattaforme microarray per l'analisi di mutazioni e/o polimorfismi presenti nel genoma. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di testare un nuovo microarray in grado di valutare in contemporanea circa 300 tra le principali mutazioni note per essere associate ad FH nella popolazione caucasica. In una prima fase abbiamo investigato quattordici differenti campioni di pazienti FH precedentemente genotipizzati mediante sequenziamento classico. L'analisi mediante microarray ha individuato, in un giorno e, in tutti i campioni, le differenti mutazioni associate al gene codificante per LDL-R.

In una seconda fase abbiamo analizzato una coorte di 24 pazienti definiti FH secondo la classificazione basata su MEDPED e clinica effettuata presso il nostro ambulatorio di dislipidemie. L'analisi ha permesso l'identificazione di mutazioni associate al recettore LDL in quattordici pazienti. Per i dieci pazienti in cui non è stata riscontrata la presenza di mutazione, si sta valutando l'ipotesi che vi sia una mutazione nota, ma non ancora presente sul microarray oppure siano portatori di una mutazione non ancora identificata. In entrambi i casi, l'identificazione della mutazione permetterà di integrare queste informazioni nella versione definitiva del microarray con lo scopo di permettere, in tempi molto rapidi, la determinazione del 90-95% delle mutazioni associate ad FH presenti in Italia.

LIVELLI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE E TARGET LIPIDICI: LO STUDIO CHECK

Manuela Casula¹, Andrea Poli^{1,2}, Elena Tragni¹, Alessandro Filippi³, Alberico L Catapano¹

1-SEFAP (Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva), Università degli Studi di Milano

2-NFI (Nutrition Foundation of Italy), Milano

3-SIMG (Società Italiana di Medicina Generale)

CONTESTO Le linee guida internazionali per la prevenzione cardiovascolare indicano che gli interventi di riduzione del colesterolo LDL devono basarsi sulla valutazione del rischio cardiovascolare globale del paziente. Obiettivo di questa analisi è stato stimare il rischio cardiovascolare, individuare il target lipidico dei soggetti e valutare la distribuzione della distanza dal target in un campione rappresentativo della popolazione italiana

METODI Lo studio CHECK è uno studio osservazionale con base di popolazione, che ha coinvolto 5458 soggetti sani, di entrambi i sessi e di 40-79 anni, arruolati in modo randomizzato da medici di medicina generale su tutto il territorio nazionale. La coorte è stata stratificata in base al rischio cardiovascolare e ai livelli di LDL, secondo le linee guida ATP III (2004) per determinare la proporzione di soggetti a target.

RISULTATI Il 65,2% dei soggetti rientrava nella classe di rischio cardiovascolare basso, mentre il 10,5%, il 18,3% e il 6,0% aveva rispettivamente un profilo di rischio medio, alto e molto alto; l'8,2% era trattato con statine. Il 68,7% della coorte mostrava valori di LDL al di sotto del proprio target lipidico, calcolato secondo il profilo di rischio individuale. Tra il 31,3% dei soggetti non a target, il 50,5% aveva livelli di LDL che superavano il target di non più del 15%; nel 37,9% i valori erano del 15%-40% oltre il target e nell'11,6% la soglia era superata di oltre il 40%.

CONCLUSIONI Circa i due terzi degli adulti, in una nazione a basso rischio cardiovascolare come l'Italia, hanno livelli di colesterolo LDL a target, secondo quanto stabilito dalle linee guida correnti. Di conseguenza, per il 24,3% della coorte è necessario intraprendere – o continuare - il trattamento con ipolipemizzanti per il raggiungimento del target lipidico.

VALUTAZIONE DI ALCUNI FATTORI DI RISCHIO CARDIOMETABOLICI IN UNA POPOLAZIONE INDIGENA PERUVIANA: IL PROGETTO ADB-PERU'

Paola M Salvatore¹, Alberto Bossi¹, Giovanna Crotto², Chiara Gnasso², Maria E. Huanca Amable¹, Paolo Morelli³, Andrea Rossi⁴, Francesco Cremasco⁴, José L. Lizarraga⁵, Antonio C. Bossi²

¹Associazione Diabetici Bergamaschi, ONLUS, e ²Unità Operativa Malattie Metaboliche e Diabetologia, A.O. Ospedale Treviglio-Caravaggio, Treviglio (BG); ³CROS-NT, Verona; ⁴Direzione Medica, Eli Lilly Italia S.p.A.; ⁵Centro Medico Santa Teresa, Abancay, Peru

OBIETTIVO — Bassi livelli socioeconomici ed etnia sono fattori di rischio per lo sviluppo di diabete e altre malattie non-trasmissibili. Esistono poche informazioni sui diabetici delle regioni andine. Il nostro team di operatori sanitari volontari è stato coinvolto in un progetto di collaborazione con il Centro Medico Santa Teresa di Abancay, Apurimac, Perù, per valutare alcuni fattori di rischio cardio-metabolici della popolazione locale.

METODI — Abbiamo visitato 437 soggetti in Abancay e in due villaggi limitrofi, raccogliendo anamnesi, età, peso, altezza, BMI, massa grassa, livelli glicemici, ECG e Fundus Oculi, confrontando i dati raccolti tra soggetti diabetici e non diabetici. È stato utilizzato un modello di regressione logistica per identificare i fattori associati alla presenza di diabete.

RISULTATI — Presentiamo i dati (media \pm SD) di 409 indigeni nativi Peruviani (M/F 155/254): 305 non diabetici (ND) e 104 diabetici tipo 2 (DM). La circonferenza vita mostra maggior deposito di grasso viscerale nei DM (98.9 ± 13.1) rispetto ai ND (94.6 ± 2.6) ($p = 0.003$): tale differenza è dovuta più alla conformazione addominale femminile (DM 98.3 ± 14.6 vs. ND 93.7 ± 12.8 ; $p = 0.021$) che a quella maschile (DM 99.7 ± 11.1 vs. ND 96.3 ± 12.1 ; $p = 0.104$). Una maggior deposizione di adipe nelle donne DM si desume dalla misurazione della massa grassa (36.9 ± 6.2) vs. donne ND (34.8 ± 6.6) ($p = 0.044$). Il sesso maschile e una circonferenza addominale superiore al limite suggerito dalla International Diabetes Federation sono risultati significativamente associati con la presenza di diabete.

CONCLUSIONI — Diabete e malattie non trasmissibili sono, ad oggi, poco tenute in considerazione nella regione peruviana dell'Apurimac. La maggior parte delle persone visitate non erano a conoscenza di essere diabetiche, né erano consapevoli delle complicanze croniche del diabete e dei rischi legati a sovrappeso e obesità.

EFFETTI DI SITAGLIPTIN O METFORMINA ASSOCIATI A PIOGLITAZIONE IN PAZIENTI DIABETICI SCARSAMENTE CONTROLLATI

Roberto Mereu (1), Pamela Maffioli (1), Sibilla A.T. Salvadeo (1), Ilaria Ferrari (1), Alessia Gravina (1), Ilaria Palumbo (1), Sabrina Randazzo (1), Angela D'Angelo (1), Arrigo F.G. Cicero (2), Giuseppe Derosa (1).

(1) Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Clinica Medica II, Università di Pavia, Ambulatori di Diabetologia e Malattie Metaboliche, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo

(2) "G. Descovich" Centro per lo studio dell'aterosclerosi, "D. Campanacci", Dipartimento di Medicina clinica e Biotecnologia Applicata, Università di Bologna, BOLOGNA, Italia

SCOPO: valutare gli effetti di un anno di trattamento con sitagliptin o metformina in pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2 (T2DM) che non hanno raggiunto un adeguato controllo glicemico con pioglitazone.

MATERIALI E METODI: abbiamo arruolato 151 soggetti diabetici non adeguatamente controllati con pioglitazone 30 mg al giorno e li abbiamo randomizzati ad assumere 30 mg di pioglitazone più 100 mg di sitagliptin una volta al giorno, o 15 mg di pioglitazone più 850 mg di metformina due volte al giorno. Abbiamo valutato al basale e dopo 3, 6, 9 e 12 mesi i seguenti parametri: peso corporeo, indice di massa corporea (BMI), emoglobina glicata (HbA1c), glicemia a digiuno (FPG), glicemia post-prandiale (PPG), insulinemia a digiuno (FPI), indice HOMA di resistenza all'insulina (HOMA-IR), indice HOMA di sensibilità della beta cellula (HOMA-beta), proinsulinemia a digiuno (PPr), rapporto PPr/FPI, adiponectina (ADN), resistina (R), fattore di necrosi tumorale-alfa (TNF-alfa), e proteina C-reattiva ad alta sensibilità (Hs-CRP).

RISULTATI: abbiamo osservato una comparabile riduzione di HbA1c, FPG e PPG nei due gruppi e una riduzione del peso e del BMI dopo 12 mesi presente solo nel gruppo trattato con metformina. Abbiamo registrato una riduzione di FPI, PPr e HOMA-IR dopo 12 mesi con sitagliptin e dopo 9 e 12 mesi con metformina. Un aumento dell'HOMA-beta era presente dopo 9 e 12 mesi con sitagliptin e dopo 12 mesi con metformina. Una riduzione del rapporto PPr/FPI è stata riportata dopo 12 mesi con sitagliptin e dopo 6, 9 e 12 mesi con metformina. Abbiamo osservato un aumento di ADN, e una riduzione di R e TNF-alfa con metformina ma non con sitagliptin. Una comparabile riduzione di Hs-CRP è stata osservata dopo 12 mesi in entrambi i gruppi.

CONCLUSIONI: sitagliptin e metformina danno un comparabile miglioramento di HbA1c, FPG e PPG, ma il trattamento con metformina porta anche a una riduzione del peso corporeo e a un migliore e più veloce miglioramento dell'insulino resistenza e dei parametri infiammatori, anche se sitagliptin produce un migliore effetto di protezione della beta cellula.

PAZIENTI DISLIPIDEMICI AFFETTI DA STEATO-EPATITE NON ALCOLICA: RUOLO DELLA TERAPIA CON STATINA SU PROFILO LIPIDICO E FUNZIONE EPATICA

Lorenzo Maroni, Luigina Guasti, Luana Castiglioni, Franca Marino, Alessandra De Leo, Sara Contini, Valentina Macchi, Matteo Tozzi, Marco Cosentino, Achille Venco

Università dell'Insubria, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Varese

BACKGROUND: la steato-epatite non alcolica (NASH) è stata associata ad aumentato rischio di malattie cardiovascolari. La dislipidemia risulta strettamente associata a NASH. Sebbene pazienti con NASH abbiano indicazione a terapia con statina considerando il rischio vascolare, tali farmaci che potenzialmente possono alterare la funzione epatica sono sottoutilizzati in questi pazienti.

SCOPO DELLO STUDIO: determinare retrospettivamente se la terapia con statina in pazienti affetti da dislipidemia e NASH si associ alle previste variazioni del quadro lipidico e ad alterazioni di glutammico-ossalacetico transaminasi (GOT), glutammico-piruvico transaminasi (GPT) e gamma-glutamyl transpeptidasi (γ GT).

METODI: pazienti affetti da dislipidemia e concomitante NASH (43 soggetti, 39M, 14F; età media 54.5 ± 9.6 aa; rischio cardiovascolare secondo NCEP-ATP III: basso $n=13$, medio $n=15$, alto $n=15$) con valori alterati di GOT e/o GPT e/o γ GT in assenza di terapia ipolipemizzante e che avessero almeno un controllo successivo (primo controllo di follow-up: 5.4 ± 5.4 mesi) all'introduzione di monoterapia con statina [trattati con atorvastatina ($n=19$), rosuvastatina ($n=10$), simvastatina ($n=11$), fluvastatina ($n=2$), lovastatina ($n=1$)] sono stati analizzati retrospettivamente riguardo ai valori di transaminasi, γ GT e profilo lipidico.

RISULTATI: come atteso, il colesterolo totale risultava significativamente ridotto dopo terapia (basale: 289.8 ± 46 mg/dl; follow-up: 192.3 ± 33.8 mg/dl, $p < 0.001$), come colesterolo LDL e trigliceridi (rispettivamente: basale: 194.4 ± 41.3 mg/dl; follow-up: 110.9 ± 25.9 mg/dl, $p < 0.001$; basale: 212 ± 146.1 mg/dl; follow-up: 146.2 ± 105.8 mg/dl, $p = 0.001$); il colesterolo HDL risultava invariato (basale: 56.1 ± 16.4 mg/dl; follow-up: 54.3 ± 15.4 mg/dl, $p = 0.35$).

Al follow-up non si sono osservate variazioni statisticamente significative riguardo a GOT (basale: 26.3 ± 8.1 U/l; follow-up: 34.3 ± 31.6 U/l), GPT (basale: 37.6 ± 14.2 U/l; follow-up: 44.7 ± 30.4 U/l) e γ GT (basale: 76.4 ± 59 U/l; follow-up: 86.5 ± 93.3 U/l). Nessun paziente ha interrotto la terapia con statina.

CONCLUSIONI: l'analisi retrospettiva di pazienti affetti da dislipidemia e NASH trattati con statina ha confermato l'efficacia del trattamento anche in questi pazienti, evidenziando sicurezza d'uso riguardo alla funzione epatica.

IDENTIFICAZIONE DI NUOVI INIBITORI SELETTIVI DELLA PROTEINA RAC1: POSSIBILI IMPLICAZIONI FARMACOLOGICHE

Nicola Ferri, Alessandro Contini e Alberto Corsini

Dipartimento di Scienze Farmacologiche

Le proteine Rho ad attività GTPasica appartenenti alla superfamiglia Ras sono coinvolte nella regolazione di numerose funzioni cellulari associate a patologie cardiovascolari ed ai tumori. In particolare, numerose evidenze, sia in modelli sperimentali murini sia nell'uomo, suggeriscono come la proteina Rac1, facente parte della famiglia delle proteine Rho, sia coinvolta nella patogenesi dello scompenso cardiaco. Sulla base di queste evidenze, nel presente progetto, abbiamo voluto identificare e studiare nuovi potenziali inibitori farmacologici di Rac1. Per la loro identificazione abbiamo utilizzato uno screening virtuale del database ZINC composto da circa sette milioni di composti. In questo screening si sono prese in considerazione le informazioni strutturali dell'interazione Rac1-GEF (fattori di scambio nucleotide guanina), la struttura chimica del composto NSC23766, inibitore specifico dell'interazione di Rac1 con i GEF, Tiam1 e TrioN, e la struttura cristallografica di Rac1 complessata con il composto NSC23766. Quest'ultima è stata utilizzata per derivare un modello computazionale del recettore, da utilizzare per il docking molecolare. I composti che hanno mostrato energie di docking migliori rispetto a quelle ottenute per il composto NSC23766 (affinità < -4.2 , London dG < -7.5 , AD4 energia di legame < -6.4 kcal/mol) sono stati selezionati, per un totale di 106 molecole commercialmente disponibili. Dopo una analisi visiva delle pose di docking, sono stati selezionati 50 composti per la valutazione farmacologica. L'attività inibitoria di questi composti è stata valutata mediante saggio G-LISA per la determinazione del contenuto intracellulare di Rac1-GTP ad una concentrazione fissa di 50 μ M. Dei 50 composti saggiati 33 hanno mostrato un'attività inibitoria uguale o superiore al composto NSC23766, mentre 5 hanno mostrato una riduzione dei livelli intracellulari di Rac1-GTP, in risposta al PDGF-BB, superiori del 45%. In particolare tutti e 5 i composti hanno mostrato un effetto concentrazione dipendente con valori di IC50 compresi tra il 12.2 μ M ed il 24.1 μ M. I due composti più potenti hanno anche dimostrato di ridurre la formazione di lamellipodi in cellule 3T3, effetto mediato da Rac1, e di non inibire l'attività delle proteine omologhe a Rac1: RhoA e Cdc42. Infine, i composti selezionati, hanno mostrato di interferire con l'interazione delle proteine ricombinanti Rac1 e Tiam1 in vitro, effetto potenzialmente alla base del loro meccanismo d'azione inibitorio sull'attivazione della proteina Rac1 intracellulare. In conclusione, questo studio ha permesso di identificare due nuove classi di composti ad attività inibitoria delle proteine Rac1, e permetterà in futuro di valutarne l'effetto sullo scompenso cardiaco in modelli animali sperimentali.

Progetto EU 018671 CARDIOWORKBENCH.

IL NUOVO AGONISTA PPAR ALFA/GAMMA LT175 MIGLIORA L'OMEOSTASI DEL GLUCOSIO E RIDUCE LA MASSA GRASSA IN UN MODELLO MURINO DI DIET-INDUCED OBESITY (DIO)

F. Gilardi¹, N. Mitro¹, M. Giudici¹, G. Cermenati¹, U. Guerrini¹, E. Tremoli¹, G. Rando¹, A. Maggi¹, F. Loiodice², G. Fracchiolla², A. Laghezza², G. Pochetti³, A. Lavecchia⁴, E. De Fabiani¹, D. Caruso¹ and M. Crestani¹

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università di Milano; ²Università di Bari; ³CNR, Montelibretti, Roma; ⁴Università di Napoli

I Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPARs) sono recettori nucleari che regolano il metabolismo lipidico e glucidico e sono bersaglio di farmaci antidiabetici e ipolipidemizzanti il cui uso è associato all'insorgenza di diversi effetti collaterali. Per migliorare il profilo farmacologico di questi composti la ricerca si è orientata allo sviluppo di agonisti che attivino le isoforme recettoriali alfa e gamma. Recentemente abbiamo descritto l'attività di un nuovo agonista doppio PPARalfa/gamma, LT175, che si comporta da agonista parziale di PPARgamma e interagisce con una nuova regione del ligand-binding domain del recettore. L'analisi dell'attività adipogenica mostra che LT175 attiva il programma genico di differenziamento degli adipociti inducendo un minor accumulo di lipidi rispetto al rosiglitazone. La somministrazione di LT175 a topi con obesità indotta dalla dieta riduce il peso corporeo (24+3,1g LT175 vs 28,6+1,6g Ctrl) e il tessuto adiposo viscerale, come dimostrato mediante MRI, ma aumenta la massa del tessuto adiposo bruno. OGTT e ITT evidenziano un chiaro miglioramento dell'omeostasi del glucosio e della sensibilità all'insulina, con una riduzione del 50% della glicemia a digiuno e del 39,8% dei livelli plasmatici di insulina accompagnate da un aumento di 3,5 volte dell'adiponectina circolante. Inoltre LT175 riduce rispettivamente del 55%, del 25% e del 55% i livelli di NEFAs, trigliceridi e colesterolo totale nel sangue. Infine, l'analisi condotta nei topi reporter PPRE-Luc dimostra che LT175 attiva la trascrizione PPAR-dipendente in diversi organi bersaglio. In conclusione LT175 è un ligando dei PPARs che modula il metabolismo lipidico e glucidico senza indurre adipogenesi, e potrebbe essere utilizzato come modello per il disegno di nuove molecole con un migliore profilo farmacologico per il trattamento di disordini metabolici.

(Finanziato da MUR, PRIN e Giovanni Armenise-Harvard Foundation)

CARATTERIZZAZIONE GENETICO-MOLECOLARE DEL GENE LCAT

Silvana Pileggi¹, Paola Conca², Alessandro Marocchi¹, Guido Franceschini², Silvana Penco¹, Laura Calabresi²

¹Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Genetica Medica, Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano

²Centro Grossi-Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Milano

La lecitina:colesterolo aciltransferasi (LCAT) è una glicoproteina sintetizzata nel fegato e secreta nel plasma, deputata all'esterificazione del colesterolo. La sua azione si esplica principalmente su una classe di lipoproteine, definita HDL pre- β , di piccole dimensioni e di forma discoidale. Nell'uomo l'enzima LCAT è codificato da un gene di 4.2 Kb, localizzato sul cromosoma 16 (16q22) e costituito da 6 esoni. Esistono oltre 60 mutazioni a carico di questo gene che inattivano totalmente o parzialmente l'enzima con conseguente innalzamento del livello di colesterolo non esterificato nel sangue. Questi difetti genetici sono responsabili di due diverse sindromi: FLD (Deficit Familiare di LCAT) in cui si ha la mancanza totale dell'attività catalitica e FED (Fish Eye Disease) in cui la perdita è parziale ed è soprattutto a discapito di HDL, con un residuo di esterificazione del colesterolo legato alle altre lipoproteine. L'accumulo di lipidi nei tessuti aumenta la predisposizione a sviluppare disturbi cardiovascolari e renali.

Lo screening molecolare mediante sequenziamento automatico dei 6 esoni del gene LCAT in soggetti con bassi livelli di HDL colesterolo ci ha permesso di identificare 11 mutazioni rare: 10 soggetti sono risultati eterozigoti (due con la stessa mutazione) e 1 soggetto eterozigote composto.

Delle 11 mutazioni, 10 sono variazioni nucleotidiche con conseguente sostituzione aminoacidica identificate prevalentemente nell'esone 6 (6/11) e una è una delezione di una tripletta, anch'essa nell'esone 6. L'analisi di 100 soggetti controllo mediante DHPLC ci ha permesso di definire tali mutazioni rare; di queste solo 3 sono già descritte in letteratura e associate alla patologia.

I soggetti eterozigoti identificati presentano ridotti livelli plasmatici di HDL-C (27.4 ± 8.8 mg/dl, v.n. > 40 mg/dl), un significativo aumento del rapporto FC/TC ($35.7 \pm 6.6\%$, v.n. $< 30\%$) e una riduzione della velocità di esterificazione del colesterolo (27.4 ± 5.4 nmol/ml/h, v.n. 30-60 nmol/ml/h), dell'attività LCAT (20.4 ± 7.3 nmol/ml/h, v.n. 25-55 nmol/ml/h) e della concentrazione plasmatica di LCAT (3.68 ± 0.76 μ g/ml, v.n. 3.1-6.7 μ g/ml).

I FUROSSANI INIBISCONO LA PROLIFERAZIONE CELLULARE MEDIANTE UN MECCANISMO ANTIOSSIDANTE? EVIDENZE IN CELLULE MUSCOLARI LISCE

L. Arnaboldi¹, E. Volpi[°], V. Nicolini¹, S. Volpe¹, L. Lazzarato², M. Crosetti², R. Fruttero², A. Gasco², A. Corsini¹.

[°]Dip. Med. Chirurg. Odont. e ¹Dip. Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, ²Dip. Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università degli Studi di Torino

La proliferazione delle cellule muscolari lisce (CML), il rilascio di NO e i meccanismi ossidoriduttivi sono validi bersagli nel controllo dell'aterosclerosi. In questo studio ci siamo focalizzati sull'effetto antiproliferativo di composti ibridi contenenti una porzione antiossidante (derivati fenolici, vit. E) ed una donatrice di NO (mono-, diesteri nitrici, furossani), dimostrando come la proliferazione delle CML fosse inibita unicamente dai furossani. All'interno di questa classe, i 4 fenilfurossani sostituiti con un gruppo elettronattrattore in 3 si sono rivelati i più potenti, in quanto l'apertura dell'anello furossanico è favorita. Siccome il conseguente rilascio di NO non sembra responsabile dell'effetto antiproliferativo, abbiamo verificato quali fossero i meccanismi molecolari alla base di ciò. In un primo tempo, in una serie di esperimenti sul ciclo cellulare, abbiamo notato come tutti i composti attivi sulla proliferazione bloccassero la transizione G1/S. Sulla base di dati che suggeriscono un meccanismo d'azione implicante l'apertura necessaria dell'anello furossanico e la successiva inibizione di enzimi cellulari, abbiamo considerato l'ipotesi che quelli deputati alla detossificazione potessero essere il bersaglio dell'azione dei composti. Pertanto, abbiamo incubato CML con diversi furossani, in presenza od assenza di antiossidanti quali vitamina C e N-acetilcisteina (NAC), dimostrando come solo la NAC fosse in grado di prevenirne completamente l'effetto antiproliferativo. Ad escludere un effetto extracellulare, abbiamo documentato come la NAC sia ancora attiva anche se aggiunta 1,5 ore dopo l'incubazione con furossano. Questi dati suggeriscono un'azione mirata da parte dei furossani sui sistemi antiossidanti cellulari contenenti gruppi tiolici. A conferma di ciò, è stato recentemente pubblicato come i furossani presentino un'attività antischistosomiale dovuta all'interazione con l'enzima TGR, omologo della glutatione riduttasi (GR) nei mammiferi. Pertanto, stiamo valutando l'effetto dei furossani sull'attività della GR e su proteine coinvolte nel ciclo cellulare tramite ELISA, Western blot e citofluorimetria.

IL PROCESSO DI ESTERIFICAZIONE DEL COLESTEROLO E' COMPROMESSO NEI PAZIENTI CON INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

Paola Conca^{*}, Silvana Pileggi[°], Silvana Penco[°], Ghil Busnach[#], Guido Franceschini^{*} e Laura Calabresi^{*}.

^{*}Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano

[°]Laboratorio di Genetica Medica, Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano

[#]Dipartimento di Nefrologia, Dialisi e del Trapianto Renale, Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano

L'insufficienza renale cronica (IRC) è associata ad una profonda alterazione del profilo lipidico e lipoproteico, caratterizzata da ridotti livelli plasmatici di HDL e da elevate concentrazioni di trigliceridi nel plasma. Nel presente studio sono stati analizzati il profilo lipidico, il processo di esterificazione del colesterolo e la distribuzione delle sottopopolazioni delle HDL in campioni di plasma di 140 pazienti affetti da IRC terminale sottoposti a trattamento dialitico e di 40 pazienti con IRC di stadio IV e V. I dati ottenuti sono stati confrontati con quelli di un gruppo di soggetti controllo.

I pazienti sottoposti a trattamento dialitico mostrano una significativa riduzione dei livelli plasmatici di HDL, da attribuirsi prevalentemente ad una riduzione delle particelle contenenti sia apolipoproteina A-I che A-II (LpA-I:A-II). Il rapporto colesterolo libero/esterificato è significativamente maggiore nei soggetti in dialisi, mentre la velocità di esterificazione del colesterolo, l'attività dell'enzima lecitina:colesterolo aciltransferasi (LCAT) e la sua concentrazione plasmatica risultano essere significativamente ridotte rispetto a quelle osservate nel gruppo dei soggetti controllo. Pazienti affetti da IRC di stadio IV e V mostrano un fenotipo intermedio. La distribuzione delle sottopopolazioni delle HDL e la percentuale delle pre β -HDL risultano essere invariate nei tre gruppi di soggetti analizzati. Non sono state riscontrate mutazioni nel gene che codifica per LCAT nei campioni analizzati.

In conclusione, l'IRC è associata ad un compromesso processo di esterificazione del colesterolo probabilmente dovuto ad una ridotta concentrazione plasmatica di LCAT; questa compromissione, più accentuata nei soggetti in dialisi, sembra progredire con il peggioramento della malattia.

UN CASO DI DEFICIT DI LCAT SECONDARIO A LINFOMA MALIGNO NON-HODGKIN

Sara Simonelli, Elisabetta Gianazza, Giuliana Mombelli, Cesare R. Sirtori, Guido Franceschini, Laura Calabresi

Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano, Italia

Nel maggio 2007, una donna di 71 anni si è presentata presso il nostro Centro per le dislipidemie con una grave ipoalfalipoproteinemia (HDL-C=5 mg/dl), associata a ridotta concentrazione di colesterolo totale (111 mg/dl). Analisi più approfondite hanno in seguito evidenziato come tutto il colesterolo circolante si trovasse nel plasma in forma non esterificata; la velocità di esterificazione del colesterolo (CER) era nulla (v.n. 30-60 nmol/ml/h) mentre l'LCAT activity era ridotta (13.6 nmol/ml/h, v.n. 25-55 nmol/ml/h), a dispetto di una concentrazione plasmatica di LCAT del tutto normale (3.5 µg/ml, v.n. 3.1-6.7 µg/ml). L'analisi genetica ha dimostrato l'assenza di mutazioni a carico del gene dell'LCAT. Curiosamente, precedenti analisi della paziente evidenziavano un profilo lipidico nella norma. In seguito, alla paziente è stato diagnosticato un linfoma maligno non-Hodgkin.

Abbiamo quindi ipotizzato la presenza di un inibitore dell'LCAT nel siero della paziente. Per provare la nostra ipotesi, abbiamo effettuato una prova di inibizione misurando la CER dopo aver miscelato (1:1, v:v) il siero della paziente con quello di un soggetto controllo; a conferma della presenza dell'inibitore, la CER non era misurabile nel campione costituito dalla miscela dei due sieri. Nel novembre 2007, dopo remissione dal linfoma, il profilo lipidico della paziente risultava essere nella norma così come la CER e l'LCAT activity (42.6 e 25.0 nmol/ml/h rispettivamente). Anche il test di inibizione risultava negativo. Nel tentativo di identificare l'inibitore, si è valutata la presenza di un anticorpo anti-LCAT utilizzando il siero della paziente per rivelare l'LCAT umano immobilizzato su una membrana di nitrocellulosa. Il risultato ottenuto è stato negativo a suggerimento del fatto che l'inibitore potrebbe essere un componente proteico. In conclusione, abbiamo mostrato per la prima volta un caso di completo deficit di LCAT secondario a un linfoma maligno non-Hodgkin e dovuto a un inibitore in grado di inattivare completamente l'enzima LCAT.

PATTERN CITOCHINICO DISTINTIVO NEI PAZIENTI CON INFARTO MIOCARDICO ACUTO CON SOPRALIVELLAMENTO DEL TRATTO ST (STEMI) E ALTI LIVELLI CIRCOLANTI DI INTELEUCHINA-6 (IL-6)

Enrico Ammirati¹, Carlo V. Cannistraci², Nicole A. Cristell¹, Viviana Vecchio¹, Anna M. Paganoni³, Laura M. Sangalli³, Alessio Palini¹, Alberto Monello¹, Michela Banfi¹, Monica De Metrio⁴, Giancarlo Marenzi⁴, Dayi Hu⁵, Neal Uren⁶, Timothy Ravasi⁷, Domenico Cianflone¹, Angelo A. Manfredi¹ e Attilio Maseri¹

¹Clinical Cardiovascular Biology Centre, San Raffaele Scientific Institute, Milano
²Dipartimento di Meccanica e CMP Group Microsoft Research, Politecnico di Torino, ³MOX, Dipartimento di Matematica, Politecnico di Milano, ⁴Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Dipartimento di Scienza Cardiovascolari, Università di Milano, ⁵People's Hospital of Beijing, China, ⁶Royal Infirmary of Edinburgh, United Kingdom e ⁷Department of Medicine and Bioengineering, University of California San Diego, La Jolla, USA

INTRODUZIONE: Abbiamo esaminato l'ipotesi che gli alti livelli di IL-6 circolanti osservati in circa un terzo dei pazienti con STEMI riflettano un sottostante stato infiammatorio non conseguente al danno miocardico, e identificano un fenotipo di STEMI con un significativo sbilanciamento citochinico.

METODI: Abbiamo valutato 254 soggetti dello studio multi-etnico First Acute Myocardial Infarction (FAMI) composto da 1099 primi STEMI raccolti entro 6 ore dall'insorgenza dei sintomi e 878 controlli. Per limitare effetti confondenti sono stati esclusi i soggetti >75 anni e/o i casi di infarti complicati. Abbiamo così studiato 61 pazienti ad alti livelli IL-6 (mediana di IL-6 14.2 pg/ml, chiamati IL-6highSTEMI) rispetto a 84 pazienti a bassi livelli di IL-6 (1.7 pg/ml, IL-6lowSTEMI) e 103 controlli. Abbiamo misurato i livelli circolanti di 20 citochine e usato degli algoritmi di Machine Learning per identificare dei network citochinici come possibili biomarkers che meglio discriminassero il fenotipo di IL-6highSTEMI. Per una validazione dei networks abbiamo utilizzato delle analisi di interazione proteina-proteina e analisi di pathway.

RISULTATI: Sebbene i pazienti IL-6highSTEMI e IL-6lowSTEMI risultassero simili per fattori clinici, ematochimici, compresa l'estensione del danno miocardico, presentavano sostanziali differenze relative ai livelli citochinici. Un nuovo algoritmo di Machine Learning ha identificato due networks di citochine, il primo composto da IL-10, IL-8, MIP-1 α e proteina C reattiva e il secondo da MCP-1, MIP-1 β and MIG che meglio differenziano del singolo marker citochinico i pazienti a IL-6highSTEMI dagli IL-6lowSTEMI e controlli; mentre gli IL-6lowSTEMI sono indistinguibili dai controlli. Le analisi di interazione proteina-proteina e dei pathway hanno evidenziato che le citochine nei due networks appartengono a due pathway distinti funzionalmente fornendo una validazione biologica della separazione di queste citochine in due networks. I controlli con alti livelli di IL-6 (16.4 pg/ml) hanno un simile pattern citochinico rispetto ai restanti controlli (1.2 pg/ml).

CONCLUSIONI: Un selettivo pattern infiammatorio caratterizza un sottogruppo di pazienti con il primo STEMI, identificati da alti livelli di IL-6 circolanti indipendentemente dai possibili elementi confondenti legati all'evento acuto. I networks citochinici individuati supportano la presenza di un fenotipo di STEMI con uno sbilanciamento infiammatorio citochinico, fornendo una possibile stratificazione patogenetica dei pazienti con STEMI.

VALUTAZIONE DEL DOSAGGIO DI MIELO-PEROSSIDASI PLASMATICA E DI ALCUNI FATTORI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE IN PAZIENTI DIABETICI TIPO 2

Filippini B., Balini A., Berzi D., Meregalli G., Cremonesi B., Biffi M.*, Calatroni S., Costardi A.*, Vernocchi A.*, Tragni E.°, Catapano A.L.°, Bossi A.C.

U.O. Malattie Metaboliche e Diabetologia. e *U.O. Medicina di Laboratorio, A.O. Treviglio – Caravaggio (BG); Dipartimento Scienze Farmacologiche, Università di Milano, Centro Studio e Prevenzione Aterosclerosi Treviglio (BG).

INTRODUZIONE: la mieloperossidasi (MPO) viene secreta durante l'attivazione di neutrofili, monociti e macrofagi tissutali dopo stimolo flogistico; è considerabile un legame tra stato di infiammazione persistente, stress ossidativo e progressione dell'aterosclerosi. Un suo utilizzo è di notevole interesse clinico nella malattia diabetica in cui le complicanze macroangiopatiche costituiscono la più frequente causa di morbilità/mortalità.

PAZIENTI E METODI: sono stati studiati 76 soggetti (media±DS): 19 NGT (13M e 6F) età 53±9 anni; 30 pazienti DMT2 senza complicanze croniche (22M, 8F), età 59±5 anni; durata malattia 9±6 anni; 27 pazienti DMT2 con note complicanze macrovascolari, (24M, 3F), età 62±5 anni; durata malattia 10±6 anni. Sono stati valutati gli usuali parametri antropometrici, i seguenti dati clinici (PAO; ECG basale; IMT; ABI; calcolo del rischio cardiovascolare sec. ISS); sono stati dosati i seguenti analiti: HbA1c, glicemia e profilo lipidico, hs-PCR, ApoA1 e ApoB, microalbuminuria; emocromo con formula e dosaggio MPO (metodo immunometrico chemiluminescente automatizzato - Abbott Diagnostics).

RISULTATI: sono stati rilevati i seguenti valori: BMI 28.5±6; circonferenza vita 97.5±14 cm; HbA1c 7.4±1.5%; glicemia basale 145±51 mg/dL; MPO 95.5±58 pmol/L; Apo A 1.38±0.2 g/L; Apo B 1.0±0.2 g/L; hs-PCR 2.3±3.8 mg/L. I dati sono stati sottoposti ad analisi statistica effettuando test per il Coefficiente di Correlazione Spearman; test di significatività a 2 code utilizzando software SAS. Vengono qui forniti i dati di correlazione fra MPO e gli altri parametri clinici e laboratoristici. Si segnala significatività statistica della correlazione tra MPO e glicemia basale (p=0.032); MPO e Apo B (p=0.021).

CONCLUSIONI: i dati preliminari di questo studio pilota consigliano di approfondire la valutazione su una popolazione più estesa. Peraltro, la rilevata correlazione positiva con glicemia e Apolipoproteina B (noti fattori di rischio per malattia aterosclerotica) lasciano presupporre che MPO possa risultare utile indicatore di evoluzione di complicanza macroangiopatica. E' indispensabile procedere con un follow-up clinico di questi pazienti per valutare l'incidenza di eventi cardio-cerebrovascolari.

EFFETTI DI UN ANNO DI TRATTAMENTO CON EXENATIDE PARAGONATO A GLIBENCLAMIDE IN PAZIENTI DIABETICI DI TIPO 2

Ilaria Ferrari (1), Sibilla A.T. Salvadeo (1), Pamela Maffioli (1), Roberto Mereu (1), Alessia Gravina (1), Ilaria Palumbo (1), Sabrina Randazzo (1), Angela D'Angelo (1), Arrigo F.G. Cicero (2), Giuseppe Derosa (1).

(1) Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Clinica Medica II, Università di Pavia, Ambulatori di Diabetologia e Malattie Metaboliche, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo

(2) "G. Descovich" Centro per lo studio dell'aterosclerosi, "D. Campanacci", Dipartimento di Medicina clinica e Biotecnologia Applicata, Università di Bologna, BOLOGNA, Italia

SCOPO: Valutare gli effetti di un anno di trattamento con exenatide paragonato a glibenclamide in pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2 (T2DM).

MATERIALI E METODI: abbiamo arruolato 128 pazienti diabetici non adeguatamente controllati e li abbiamo randomizzati ad assumere exenatide 5 mcg due volte al giorno o glibenclamide 2,5 mg tre volte al giorno fino a un dosaggio di exenatide 10 mcg due volte al giorno o glibenclamide 5 mg tre volte al giorno dopo un mese. Questi soggetti erano intolleranti a metformina al massimo dosaggio (3000 mg al giorno) e stavano assumendo differenti dosaggi (1000-2000 mg al giorno). Abbiamo valutato al basale e dopo 3, 6, 9 e 12 mesi i seguenti parametri: peso corporeo, indice di massa corporea (BMI), emoglobina glicata (HbA1c), glicemia a digiuno (FPG), glicemia post-prandiale (PPG), insulinemia a digiuno (FPI), indice HOMA di resistenza all'insulina (HOMA-IR), indice HOMA di sensibilità della beta cellula (HOMA-beta), proinsulinemia a digiuno (PPr), rapporto PPr/FPI, resistina (R), proteina 4 legante il retinolo (RBP-4) e proteina C-reattiva ad alta sensibilità (Hs-CRP).

RISULTATI: un comparabile miglioramento di HbA1c, FPG, e PPG è stato osservato in entrambi i gruppi, tuttavia abbiamo osservato una riduzione di FPI con exenatide e un aumento di FPI con glibenclamide. C'è stata una riduzione del peso corporeo e del BMI dopo 6, 9 e 12 mesi con exenatide, e un aumento dopo 12 mesi con glibenclamide. Una riduzione dell'HOMA-IR e un aumento dell'HOMA-beta sono stati registrati con exenatide ma non con glibenclamide. Una riduzione di PPr era presente con entrambi i trattamenti; inoltre abbiamo osservato una riduzione del rapporto PPr/FPI con glibenclamide ma non con exenatide. E' stata registrata una riduzione di R e RBP-4 con exenatide, e un aumento di R e RBP-4 con glibenclamide. Exenatide ha, inoltre, portato a una riduzione di Hs-CRP non ottenuta con glibenclamide.

CONCLUSIONI: exenatide e glibenclamide danno un comparabile miglioramento del controllo glicemico ma solo exenatide dà un miglioramento dell'insulino resistenza e preserva la beta cellula dando anche una riduzione del peso corporeo e dei parametri infiammatori.

IL RUOLO DELLA MICROALBUMINURIA NEL PAZIENTE DIABETICO: STUDIO OSSERVAZIONALE PRESSO L'AMBULATORIO DEL MEDICO DI MEDICINA GENERALE

M. Coronelli, M. Mezzadra, I. Coronelli.

ASL 312 Pavia

Uno degli aspetti clinici più importanti di tutte le forme di diabete è rappresentato dall'associazione a gravi complicanze organiche. La comparsa di microalbuminuria è un indice molto importante di progressione verso la proteinuria franca (>300 mg/die) o la nefropatia conclamata.

OBIETTIVI DELLO STUDIO Fino ad ora l'ospedale ha rappresentato la struttura centrale degli interventi sanitari, lasciando al territorio un ruolo marginale sul piano organizzativo e di controllo del sistema. capacità di analisi del bisogno e di governo della domanda. L'obiettivo specifico di questo studio è gestire il percorso di cura di soggetti diabetici non insulino-dipendenti in carico a medici di famiglia che lavorano in gruppo e valutare la validità della microalbuminuria come marcatore di danno d'organo subclinico.

Lo studio, che secondo le nostre intenzioni deve durare 5 anni, è partito tre anni orsono e si è articolato in due fasi: una prima fase di tre mesi, organizzativa; una seconda fase, operativa, che sta durando tuttora. Al termine dei cinque anni i pazienti verranno rivalutati al fine di determinare l'incidenza di eventi di insufficienza renale in relazione alla presenza ed all'entità di microalbuminuria e, altro end-point, rilevare l'incidenza di eventi cerebro-vascolari e cardiovascolari.

MATERIALI E METODI Sono stati reclutati 207 pazienti (115 maschi e 92 femmine) affetti da diabete mellito non insulino-dipendente. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti diabetici insulino-dipendenti poiché la loro gestione è particolarmente difficoltosa. A questi pazienti vengono somministrati gli esami previsti dal protocollo. La concentrazione urinaria di albumina è misurata con metodo nefelometrico ed un rapporto albumina/creatinina (ACR) tra 2,38 e 19 (maschi) e tra 2,96 e 20 (femmine) è definito microalbuminuria.

Questo tipo di determinazione ha dimostrato una ottima sensibilità specifica nell'identificazione di escrezione urinaria di albumina tra i 20 e 200 µg/min.

RISULTATI Dato il lungo periodo che ci siamo posti come osservazione i risultati attualmente in nostro possesso non possono certamente essere definiti come finali, ma qualche dato di una certa significatività emerge comunque già adesso.

CONCLUSIONI Si può concludere che questa nuova organizzazione rappresenta un valore aggiunto per i cittadini che si rapportano solo al loro medico e per i medici, che recuperano ruolo, professionalità, autonomia e responsabilità.

I risultati sin qui raggiunti e l'apprezzamento che i pazienti esprimono ci confortano nella scelta fatta.

“PATTERNS” DI DEPOSITO DI CALCIO-FOSFORO NELLE PLACCHE CAROTIDEE NELL’UOMO

Castiglioni L*, Guasti L*, Maroni L*, Marino F*, Congiu T[§], Tozzi M[°], Schembri L*, Maio RC*, Quacci DE[§], Dell’Orbo C[§], Castelli P[°], De Leo A*, Contini S*, Cosentino M*, Venco A*.

*Dipartimento di Medicina Clinica.

§Dipartimento di Morfologia Umana.

°Dipartimento di Scienze Chirurgiche.

INTRODUZIONE. In letteratura sono riportati pochi dati inerenti la morfologia ultrastrutturale della placca aterosclerotica nell’uomo, in particolare riguardo alla tipologia delle calcificazioni e alla loro relazione con i cristalli di colesterolo presenti all’interno della placca stessa. Con questo studio ci proponiamo di valutare calcificazioni presenti in placche carotidEE umane attraverso le metodiche scanning electron microscopy (SEM) ed energy dispersive x-ray spectroscopy (EDAX).

METODI. Attraverso analisi SEM ed EDAX sono state valutate placche carotidEE dell’uomo, dopo essere state sottoposte a due protocolli di macerazione, per evidenziare la loro struttura.

RISULTATI. All’analisi ultrastrutturale sono stati evidenziati vari stadi di calcificazione. Sono visibili calcificazioni nodulari diffuse incapsulate da uno stroma inspessito, ma con larghe fenestrazioni. Sono presenti cristalli di colesterolo nella tunica media, che, con l’evolversi del processo aterosclerotico, si dispongono in lamine, circondate da nuclei di calcificazione diffusi, che nelle forme mature assumono l’aspetto di “granelli di pietra”. L’analisi spettrale indica la presenza di idrossiapatite nelle calcificazioni e conferma la presenza di fosfato di calcio nei depositi lamellari. Inoltre l’analisi elementare permette di evidenziare la presenza di nuclei di calcificazione non ancora visibili all’esame morfologico.

CONCLUSIONI. Accoppiando analisi morfologica e analisi elementare per la prima volta abbiamo mostrato in placche carotidEE umane la tipologia dei depositi di fosfato di calcio e la loro relazione con i depositi lamellari di colesterolo.

SINDROME METABOLICA E FATTORI DI RISCHIO ASSOCIATI IN UNA POPOLAZIONE AMBULATORIALE DI SOGGETTI DISLIPIDEMICI: PREVALENZA E DIFFERENZE DI GENERE.

Boggio A., Fiscella M.[°], Malnis D.*, Muzio F.[°], Fiorenza A.M.

Centro Aterosclerosi A.O.G. Salvini, Garbagnate Milanese; Medicina Specialistica ASL1Milano*; Nutrizione Clinica A.O.L. Sacco, Milano[°].

Le malattie cardiovascolari (CVD) rappresentano la principale causa di morbilità e mortalità sia per l'uomo che per la donna. Tuttavia, epidemiologia, sintomi e progressione delle CVD sono differenti nei due sessi; solitamente, nelle donne le CVD si manifestano con un ritardo di 10-15 anni rispetto ai maschi e tipicamente dopo la menopausa. I fattori di rischio che le determinano hanno una differente distribuzione e un diverso impatto nei due sessi. Inoltre da numerosi studi emerge che le donne ricevono un trattamento minore per quanto riguarda i fattori di rischio CV rispetto ai maschi. Il nostro studio ha incluso 347 pazienti affetti da dislipidemia familiare, di età compresa tra i 55 e i 75 anni (età media $60,9 \pm 7,9$ per i maschi e $65,9 \pm 8,5$ per le femmine), afferiti presso il Centro Aterosclerosi dell'A. O. Salvini di Garbagnate negli ultimi 2 anni (145 maschi e 202 femmine). Dallo studio sono stati esclusi i soggetti diabetici, distiroidei e nefropatici; anche le donne in premenopausa non sono state considerate allo scopo di escludere l'influenza dei fattori ormonali protettivi. Alla prima visita, circa la metà dei soggetti di sesso maschile aveva precedenti CV contro 1/3 circa delle femmine ($p < 0,05$). I maschi in prevenzione secondaria (n.71) mostrano, rispetto a quelli in prevenzione primaria (n.74), circonferenza vita e BMI significativamente maggiori. Anche la prevalenza di SM, diagnosticata in base ai criteri ATP III, risulta superiore nei maschi in prevenzione 2[°] ($p < 0,01$) in relazione al cluster dei fattori di rischio composto da glicemia basale, trigliceridi e circonferenza vita. Anche per quanto riguarda le donne, tra quelle in prevenzione secondaria (n.65) vi è una maggiore prevalenza di SM, al limite della S.S., rispetto a quelle in prevenzione primaria (n.137) grazie al solo fattore della glicemia basale. Tra tutti i soggetti in prevenzione secondaria, la prevalenza di SM è del 37% nelle femmine e del 49% nei maschi ($p > 0,05$). Anche estendendo l'osservazione ad una casistica d'età più ampia (n.601 pazienti, età compresa tra i 18 e gli 85 anni) emerge che, mentre nelle donne > 55 anni la prevalenza della SM è paragonabile a quella degli uomini ($p > 0,05$), nella fascia di età < 55 anni la prevalenza è nettamente inferiore. Nei soggetti in prevenzione secondaria il target di C-LDL < 100 mg/dl è raggiunto nel 58% dei maschi vs il 42% nelle femmine (NS) e il target < 70 mg/dl nel 19% dei maschi vs 4% nelle femmine (SS). In conclusione i nostri dati confermano il peso della SM nello sviluppo di malattia cardiovascolare sia nei maschi che nelle femmine in età postmenopausale e una correlazione tra livelli elevati di glicemia e malattia cardiovascolare nel sesso femminile e tra glicemia, trigliceridi e circonferenza vita nei maschi. Inoltre si conferma il minore raggiungimento del target LDL nelle femmine rispetto ai maschi: da ciò la necessità di una maggiore attenzione al trattamento della SM e dei fattori di rischio associati sia nell'uomo che nella donna.

EFFETTI DI UN ANNO DI TRATTAMENTO CON VILDAGLIPTIN ASSOCIATO A PIOGLITAZIONE O GLIMEPIRIDE IN PAZIENTI DIABETICI SCARSAMENTE CONTROLLATI

Pamela Maffioli (1), Sibilla A.T. Salvadeo (1), Ilaria Ferrari (1), Roberto Mereu (1), Alessia Gravina (1), Ilaria Palumbo (1), Sabrina Randazzo (1), Angela D'Angelo (1), Arrigo F.G. Cicero (2), Giuseppe Derosa (1)

(1) Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Clinica Medica II, Università di Pavia, Ambulatori di Diabetologia e Malattie Metaboliche, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo

(2) "G. Descovich" Centro per lo studio dell'aterosclerosi, "D. Campanacci", Dipartimento di Medicina clinica e Biotecnologia Applicata, Università di Bologna, BOLOGNA, Italia

SCOPO: valutare gli effetti di un anno di trattamento con vildagliptin associato a pioglitazone o glimepiride in pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2 (T2DM).

MATERIALI E METODI: abbiamo arruolato 168 pazienti con T2DM scarsamente controllato e li abbiamo randomizzati ad assumere pioglitazone 30 mg una volta al giorno più vildagliptin 50 mg due volte al giorno o glimepiride 2 mg tre volte al giorno più vildagliptin 50 mg due volte al giorno. Tutti i pazienti erano risultati non ben controllati con la dieta e l'attività fisica e con pioglitazone 30 mg al giorno o glimepiride 6 mg al giorno. Abbiamo valutato al basale e dopo 3, 6, 9 e 12 mesi i seguenti parametri: peso corporeo, indice di massa corporea (BMI), emoglobina glicata (HbA1c), glicemia a digiuno (FPG), glicemia post-prandiale (PPG), insulinemia a digiuno (FPI), indice HOMA di resistenza all'insulina (HOMA-IR), indice HOMA di sensibilità della beta cellula (HOMA-beta), proinsulinemia a digiuno (PPr), rapporto PPr/FPI, adiponectina (ADN), resistina (R), fattore di necrosi tumorale-alfa (TNF-alfa), e proteina C-reattiva ad alta sensibilità (Hs-CRP).

RISULTATI: abbiamo osservato una comparabile riduzione di HbA1c, FPG e PPG in entrambi i gruppi, mentre una riduzione di FPI era presente con pioglitazone più vildagliptin, ma non con glimepiride più vildagliptin. Una significativa riduzione dell'HOMA-IR e un significativo aumento dell'HOMA beta erano presenti in entrambi i gruppi ma i valori ottenuti con pioglitazone più vildagliptin erano migliori di quelli ottenuti con glimepiride più vildagliptin. C'è stata una significativa riduzione di PPr e del rapporto PPr/FPI con pioglitazone più vildagliptin mentre non è stata registrata alcuna variazione con glimepiride più vildagliptin.

Abbiamo osservato un aumento di ADN e una riduzione di R e TNF-alfa con pioglitazone più vildagliptin ma non con glimepiride più vildagliptin. Una comparabile riduzione di Hs-CRP era presente in entrambi i gruppi.

CONCLUSIONI: pioglitazone più vildagliptin e glimepiride più vildagliptin danno un comparabile miglioramento dei controlli glicemici, ma l'associazione pioglitazone più vildagliptin dà anche un migliore e più rapido miglioramento dei parametri di insulino-resistenza, di funzione della beta cellula e dei parametri infiammatori.