

# Libro degli abstract

## Presentazioni Giovani Ricercatori



*Sezione Regionale Lombarda*

Convegno Regionale SISA Lombardia  
XIII GIORNATA STUDIO

### IL SOGGETTO AD ALTO RISCHIO CARDIOVASCOLARE: Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi

Milano, 24-25 ottobre 2014 ATAHOTEL EXECUTIVE Viale Don Luigi Sturzo 45

Congresso SISA Sezione Regionale Lombarda  
in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari  
Università degli Studi di Milano  
con la partecipazione di AMD e SID Sezioni Lombarde



## PROGRAMMA

**VENERDÌ, 24 OTTOBRE 2014**

**09.15 - 09.30 APERTURA CONVEGNO**  
Domenico Sommariva

### I SESSIONE

**09.30 - 10.30 LETTURA**  
Moderatori: Adriana Branchi, Laura Calabresi  
**Lipoproteine ricche in trigliceridi, un ruolo nell'aterogenesi?**  
Relatore: Danilo Norata

**10.30 - 11.00 COFFEE BREAK**

**11.00 - 13.00 PRESENTAZIONI ORALI GIOVANI RICERCATORI**  
Moderatori: Monica Gomaschi, Cinzia Parolini  
(ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi)

**13.00 - 14.00 PAUSA PRANZO**

**13.30 - 14.00 POSTER GIOVANI RICERCATORI**  
Moderatori: Giulia Chiesa, Danilo Norata, Domenico Sommariva

### II SESSIONE

**14.00 - 15.00 LETTURA**  
Moderatori: Maurizio Crestani, Luigina Guasti  
**Progressione e regressione di aterosclerosi: lezioni dai modelli animali**  
Relatore: Giulia Chiesa

**15.00 - 17.00 PRESENTAZIONI ORALI GIOVANI RICERCATORI**  
Moderatori: Lorenzo Arnaboldi, Marina Camera  
(ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi)

**17.00 - 17.30 LETTURA PREMIO ALLA CARRIERA "G. GALLI"**  
Moderatori: Corrado L. Galli, Marzia Galli Kienle

**17.30 ASSEMBLEA SOCI SISA LOMBARDIA**

## PROGRAMMA

**SABATO 25 OTTOBRE 2014**

### SIMPOSIO CONGIUNTO AMD – SID – SISA

Moderatori: Antonino Cimino, Giuseppe Lepore, PierMarco Piatti

#### 9.30 – 13.30 LETTURE IN SESSIONE PLENARIA

##### **Incretine e fattori di rischio cardiovascolare**

Relatore: Antonio C. Bossi

##### **Gestione del rischio cardiovascolare nel paziente diabetico**

Relatore: Antonino Cimino

##### **Effetti clinici dei fibrati sulla progressione della retinopatia diabetica**

Relatore: Domenico Sommariva

#### DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

#### 13.30 PREMIAZIONI E APERITIVO DI SALUTO

#### CONSIGLIO DIRETTIVO SISA - Sezione Lombarda

**PRESIDENTE**  
Alberico L. Catapano

**VICE PRESIDENTE**  
Domenico Sommariva

**CONSIGLIERI**  
Adriana Branchi  
Laura Calabresi  
Luigi Colombo  
Alberto Corsini  
Maurizio Crestani  
PierMarco Piatti

**SEGRETARIO**  
Andrea Poli

#### RELATORI/MODERATORI

Dott. Lorenzo Arnaboldi  
Dott. Antonio C. Bossi  
Dott.ssa Adriana Branchi  
Prof.ssa Laura Calabresi  
Dott.ssa Marina Camera  
Dott.ssa Giulia Chiesa  
Dott. Antonino Cimino  
Prof. Maurizio Crestani  
Prof. Corrado L. Galli  
Prof.ssa Marzia Galli Kienle  
Dott.ssa Monica Gomasaschi  
Prof.ssa Luigina Guasti  
Dott. Giuseppe Lepore  
Dott. Danilo Norata  
Dott.ssa Cinzia Parolini  
Dott. Piermarco Piatti  
Dott. Domenico Sommariva

## COMUNICAZIONI ORALI

### Venerdì, 24 Ottobre 2014

**11.00-13.00**

#### **Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi**

*Moderatori: M. Gomaraschi, C. Parolini*

Presentazione di lavori scientifici clinico-sperimentali in seduta plenaria

Il tempo a disposizione per le presentazioni è di 11 min più 4 min di discussione

- 1 Laura Rossetti
- 2 Fabrizia Bonacina
- 3 Anna Pulcina
- 4 Marta Brambilla
- 5 Ashish Dhyani
- 6 Susanna Fiorelli
- 7 Chiara Ricci
- 8 Martina Berteotti

**15.00-17.00**

#### **Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi**

*Moderatori: L. Arnaboldi, M. Camera*

Presentazione di lavori scientifici clinico-sperimentali in seduta plenaria

Il tempo a disposizione per le presentazioni è di 11 min più 4 min di discussione

- 1 Alice Ossoli
- 2 Martina Berteotti
- 3 Davide Soranna
- 4 Giulia Ganzetti
- 5 Alessandra Ferrari
- 6 Pamela Maffioli
- 7 Federica Dellerà

## SESSIONE POSTER

**Venerdì, 24 Ottobre 2014**

13.30-14.00

### **Sessione Poster**

*Moderatori: G. Chiesa, D.G. Norata, D. Sommariva*

- 1 Lorenzo Arnaboldi
- 2 Katia Garlaschelli
- 3 Valentina Viganò
- 4 Chiara Pavanello
- 5 Manuela Casula
- 6 Giulia Ganzetti
- 7 Federica Dellerà

La Sessione Poster è prevista durante la pausa pranzo

Con il patrocinio delle Società Scientifiche:



SISF Società Italiana  
di Scienze Farmaceutiche

S.I.Te.C.S.  
SOCIETÀ ITALIANA DI TERAPIA CLINICA E SPERIMENTALE



Società Italiana  
per lo studio  
del Nutraceutici e degli  
Integratori Alimentari



Società Italiana di Diabetologia

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

SISA - Società Italiana per lo Studio dell'Arteriosclerosi

Sezione Regionale Lombarda

Via Balzaretti, 7 - 20133 Milano - Tel. +39 02 49635289 Fax +39 02 49633384

e-mail: [segreteria@sisalombardia.it](mailto:segreteria@sisalombardia.it) - [www.sisalombardia.it](http://www.sisalombardia.it)

# Grazie al contributo di:

Aegerion®  
Pharmaceuticals

AstraZeneca 

  
DOC  
GENERICI PER *SCELTA*

 **MSD** PRIMARY CARE 



SPA - Società Prodotti Antibiotici S. p. A.

**1) RISCHIO TROMBOTICO DEI PAZIENTI CON MALATTIA CORONARICA E DIABETE MELLITO DI TIPO 2: COINVOLGIMENTO DEL FATTORE TESSUTALE PIASTRINICO**

L. Rossetti<sup>1</sup>, M. Brambilla<sup>1</sup>, P. Canzano<sup>1</sup>, D. Trabattoni<sup>1</sup>, G. Teruzzi<sup>1</sup>, A. Bartorelli<sup>1</sup>, E. Tremoli<sup>1,2</sup>, M. Camera<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Centro Cardiologico Monzino IRCCS

<sup>2</sup>Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

**pag. 1**

**2) LA DIFFERENZIAZIONE DEI LINFOCITI T CD4+ VERSO UN FENOTIPO EFFETTORE VIENE PROMOSSA IN CONDIZIONI DI DISLIPIDEMIA**

F. Bonacina<sup>1</sup>, F. Sala<sup>1</sup>, Fabio Pellegatta<sup>2</sup>, L. Grigore<sup>2</sup>, A. Baragetti<sup>1,2</sup>, A.L. Catapano<sup>1,3</sup>, G.D. Norata<sup>1,2,4</sup>

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano (Milano), 2 Centro SISA per lo studio dell'aterosclerosi, Ospedale Bassini (Cinisello Balsamo, Milano), 3 IRCSS Multimedica, (Milano), 4 The Blizard Institute, Centre for Diabetes, Barts and The London School of Medicine & Dentistry, Queen Mary University (Londra)

**pag. 2**

**3) VARIAZIONE DI ALCUNI FATTORI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE IN SOGGETTI PORTATORI DI DIABETE MELLITO TIPO 2 DOPO TRATTAMENTO A MEDIO-LUNGO TERMINE CON LIRAGLUTIDE**

Anna Pulcina, Giulia Buonaiuto\*, Rita Carpinteri\*, Francesca Coletti\*, Annalisa Balini\*, Denise Berzi\*, Giancarla Meregalli\*, Giovanni Veronesi°, Antonio C. Bossi\*

Università degli Studi di Milano, Scuola di Specializzazione in Scienza dell'Alimentazione; \*U.O. Malattie Metaboliche e Diabetologia, A.O. Ospedale Treviglio-Caravaggio (Bg); °EPIMED – Centro di Epidemiologia e Medicina Preventiva, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi dell'Insubria, Varese

**pag. 3**

**4) IL TRATTAMENTO CON CAPTOPRIL RIDUCE L'ESPRESSIONE DEL FATTORE TISSUTALE CIRCOLANTE NEI RATTI STROKE-PRONE**

M. Brambilla<sup>1</sup>, P. Gelosa<sup>1</sup>, L. Rossetti<sup>1</sup>, B. Perancin<sup>1</sup>, L. Castiglioni<sup>2</sup>, L. Sironi<sup>2</sup>, E. Tremoli<sup>1,2</sup>, M. Camera<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro Cardiologico Monzino IRCCS, <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

**pag. 4**

**5) THE IDOL N342S GENE VARIANT IS NOT ASSOCIATED WITH PLASMA LIPID PROFILE AND PRE-CLINICAL CAROTID ATHEROSCLEROSIS IN AN ITALIAN FREE LIVING POPULATION**

Ashish Dhyani<sup>1</sup>, Gianpaolo Tibolla<sup>1,2</sup>, Andrea Baragetti<sup>3</sup>, Katia Garlaschelli<sup>3</sup>, Liliana Grigore<sup>3</sup>, Giuseppe Danilo Norata<sup>1,3</sup> and Alberico Luigi Catapano<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan, Italy

<sup>2</sup> I.R.C.C.S MultiMedica, Milan, Italy

<sup>3</sup> SISA center for the study of atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello B.mo, Italy

**pag. 5**

**6) ETEROGENEITA' MORFOLOGICA DI MACROFAGI UMANI DIFFERENZIATI IN VITRO: CARATTERIZZAZIONE DEL PROFILO PROTEICO**

Susanna Fiorelli<sup>1</sup>, Maura Brioschi<sup>1</sup>, Sonia Eligini<sup>1</sup>, Elena Tremoli<sup>1,2</sup>, Susanna Colli<sup>2</sup>, Cristina Banfi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Cardiologico Monzino I.R.C.C.S, Milano.

<sup>2</sup>Dipartimento di scienze farmacologiche e biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

**pag. 6**

**7) TOPI PCSK9 KNOCK-OUT SONO PROTETTI DALLA FORMAZIONE DELL'ISPESSIMENTO NEOINTIMALE CAROTIDEO IN RISPOSTA A MANIPOLAZIONE PERIVASCOLARE**

C. Ricci, <sup>1,2</sup>G. Tibolla, <sup>1,3</sup>R. Baetta, <sup>1</sup>A. Corsini, <sup>1,2</sup>A.L. Catapano, <sup>1,2</sup>N. Ferri.

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Italy; <sup>2</sup>IRCCS Ospedale Multimedica, Milano, Italia; <sup>3</sup>Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milano, Italia

**pag. 7**

**8) APPLICABILITA' DELLE LINEE GUIDA DI PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE NEL MONDO REALE. RISULTATI DI UNO STUDIO CASO-CONTROLLO PROSPETTICO MULTIETNICO**

Martina Berteotti, Marco Magnoni, Luca Rosario Limite, Giovanni Peretto, Giuseppe Danilo Norata<sup>°</sup>, Domenico Cianflone.

Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

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

**pag. 8**



**1) EFFETTO DELL'INTERAZIONE TRA LCAT E APOA-I SUL METABOLISMO LIPIDICO IN TOPI DOPPI TRANSGENICI PER hLCAT E hApoA-I**

A. Ossoli<sup>1,2</sup>, B. Vaisman<sup>1</sup>, M. Pryor<sup>1</sup>, M. Sampson<sup>1</sup> and A.T. Remaley<sup>1</sup>

1 Lipoprotein Metabolism Section, National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, United States

2 Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

**pag. 9**

**2) UTILITA' DEL RAPPORTO APOB/APOA1 NELLA PREDIZIONE DI INFARTO MIOCARDICO ACUTO INDIPENDENTEMENTE DAL PUNTEGGIO DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE NELLA POPOLAZIONE CINESE**

Martina Berteotti, Marco Magnoni, Luca Rosario Limite, Giovanni Peretto, Giuseppe Danilo Norata<sup>°</sup>, Domenico Cianflone.

Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

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

**pag. 10**

**3) UTILIZZO DI STATINE GENERICI E BRAND: RISCHIO DI EVENTI CARDIOVASCOLARI**

Soranna Davide<sup>1,2</sup>, Giovanni Corrao<sup>1</sup>, Andrea Arfè<sup>1</sup>, Manuela Casula<sup>3</sup>, Elena Tragni<sup>3</sup>, Luca Merlinò<sup>4</sup>, Giuseppe Mancía<sup>2,5</sup>, Alberico L. Catapano<sup>3,6</sup>

1 Dipartimento di Statistica e Metodi Quantitativi, Sezione di Biostatistica, Epidemiologia e Sanità Pubblica, Università di Milano-Bicocca, Milano, Italia

2 IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia

3 Centro Universitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Italia

4 Unità Organizzativa Servizi Sanitari Territoriali, Regione Lombardia, Milano

5 Dipartimento di Medicina Clinica e Prevenzione, Università Milano-Bicocca, Milano, Italia

6 IRCCS Multimedica, Sesto San Giovanni, Milano, Italia

**pag. 11**

**4) LA DELEZIONE DELL'APOLIPOPROTEINA A-I IN TOPI APOE-KO AUMENTA LO SVILUPPO DI ATEROSCLEROSI AORTICA E CORONARICA**

G.S. Ganzetti, C. Parolini, S. Manzini, F. Dellera, C.R. Sirtori, G. Chiesa, M. Busnelli  
Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Italia

**pag. 12**

**5) LE ISTONE DEACETILASI DI CLASSE I REGOLANO LA FASE PRECOCE DEL DIFFERENZIAMENTO ADIPOCITARIO**

A. Ferrari, E. Fiorino, S. Barilla, M. Giudici, U. Guerrini, M. Crestani

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

**pag. 13**

**6) EFFETTI DI UNA COMBINAZIONE FISSA DI BERBERIS ARISTATA/SILYBUM MARIANUM SUL PROFILO LIPIDICO IN PAZIENTI DISLIPIDEMICI INTOLLERANTI ALLE STATINE AD ALTI DOSAGGI**

Pamela Maffioli, Davide Romano, Lucio Bianchi, Angela D'Angelo, Giuseppe Derosa

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo, Pavia, Italia

**pag. 14**

**7) IL LIPIDOMA A LIVELLO DI PLACCA AORTICA IN TOPI APOE -/- SOTTOPOSTI A DIFFERENTI TRATTAMENTI DIETETICI: CONFRONTO CON LESIONI ATROSCLEROTICHE UMANE**

F. Dellerà<sup>1</sup>, M. Busnelli<sup>1</sup>, S. Manzini<sup>1</sup>, G.S. Ganzetti<sup>1</sup>, R. Hurme<sup>2</sup>, R. Laaksonen<sup>2</sup>, C. Parolini<sup>1</sup> and G. Chiesa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

<sup>2</sup>Zora Biosciences Oy, Espoo, Finlandia

**pag. 15**

**1) EFFETTO DELL'EUROSIL85 IN UN MODELLO DI STEATOSI-STEATOEPATITE INDOTTA IN RATTI: DATI BIOCHIMICI SIERICI**

L. Arnaboldi<sup>\*</sup>, R. Sala<sup>\*</sup>, V. Vignati<sup>\*</sup>, S. Trabucco<sup>\*</sup>, A. Granata<sup>\*</sup>, S. Persiani<sup>^</sup>, M. Colovic<sup>^</sup>, L. Cavicchioli<sup>^</sup>, A. Corsini<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

<sup>^</sup>Rottapharm Biotech, Monza

**pag. 16**

**2) IDENTIFICAZIONE DI DUE NUOVE MUTAZIONI DEL GENE CHE CODIFICA PER IL RECETTORE DELLE LDL IN DUE FAMIGLIE ITALIANE AFFETTE DA IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE**

F. Pellegatta<sup>1</sup>, K. Garlaschelli<sup>1</sup>, A. Baragetti<sup>1,2</sup>, L. Grigore<sup>1</sup>, A. Pirillo<sup>1,3</sup> and AL. Catapano<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup> Centro per lo Studio della Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello B.mo, Milano

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

<sup>3</sup> IRCCS MultiMedica, Sesto San Giovanni, Milano

**pag. 17**

**3) RUOLO DI LCAT NEL METABOLISMO DELLE LIPOPROTEINE CEREBRALI**

V. Viganò<sup>1</sup>, C. Vitali<sup>1</sup>, A. Ossoli<sup>1</sup>, G. Balzarotti<sup>1</sup>, C. Parolini<sup>1</sup>, A. C. Rossetti<sup>1</sup>, R. Molteni<sup>1</sup>, L. Calabresi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Enrica Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

**pag. 18**

**4) INTERVALLI QT E IMT CAROTIDEO IN PAZIENTI DISLIPIDEMICI IN PREVENZIONE PRIMARIA A DIFFERENTI CLASSI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE (ESC/EAS)**

<sup>1</sup>C. Pavanello, <sup>1</sup>G. Mombelli, <sup>1</sup>S. Castelnuovo, <sup>1</sup>CR. Sirtori.

<sup>1</sup>Centro Dislipidemie, Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano, Italia

**pag. 19**

**5) ACIDI GRASSI OMEGA-3 NELLA PREVENZIONE SECONDARIA DI EVENTI CARDIOVASCOLARI: METANALISI DI TRIAL**

Manuela Casula<sup>1</sup>, Davide Soranna<sup>2</sup>, Alberico L Catapano<sup>1</sup>, Giovanni Corrao<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

<sup>2</sup>Dipartimento di Statistica, Università degli Studi Milano-Bicocca, Milano

**pag. 20**

**6) IL PROFILO DI ESPRESSIONE DEL GENOMA DELL'AORTA DI TOPI APOEKO EVIDENZIA IL RUOLO SVOLTO DAL SISTEMA DEL COMPLEMENTO E DALLA VIA DI SEGNALE WNT DURANTE LE FASI INIZIALI DELL'ATEROSCLEROSI**

M. Busnelli<sup>1</sup>, S. Manzini<sup>1</sup>, M. Chiara<sup>2</sup>, C. Parolini<sup>1</sup>, G. S. Ganzetti<sup>1</sup>, C.R. Sirtori<sup>1</sup>, D.S. Horner<sup>2</sup>, G. Chiesa<sup>1</sup>

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari e 2 Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

**pag. 21**

**7) IL TRASCRIPTOMA DELL'AORTA DEI TOPI APO-EKO MOSTRA GENI DIFFERENZIALMENTE ESPRESSI NELL'ATEROSCLEROSI AVANZATA**

S. Manzini<sup>1</sup>, M. Busnelli<sup>1</sup>, M. Chiara<sup>2</sup>, C. Parolini<sup>1</sup>, G. S. Ganzetti<sup>1</sup>, F. Dellerà<sup>1</sup>, C.R. Sirtori<sup>1</sup>, D.S. Horner<sup>2</sup>, G. Chiesa<sup>1</sup>.

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari e 2 Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

**pag. 22**

## **RISCHIO TROMBOTICO DEI PAZIENTI CON MALATTIA CORONARICA E DIABETE MELLITO DI TIPO 2: COINVOLGIMENTO DEL FATTORE TESSUTALE PIASTRINICO**

L. Rossetti<sup>1</sup>, M. Brambilla<sup>1</sup>, P. Canzano<sup>1</sup>, D. Trabattoni<sup>1</sup>, G. Teruzzi<sup>1</sup>, A. Bartorelli<sup>1</sup>, E. Tremoli<sup>1,2</sup>, M. Camera<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Centro Cardiologico Monzino IRCCS

<sup>2</sup>Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

**Introduzione e scopo:** Il diabete (T2DM) è un ben noto fattore di rischio cardiovascolare e la sua presenza si associa a un'umentata reattività piastrinica e ad uno stato di ipercoagulabilità. Il Fattore Tessutale (TF) è una proteina chiave nell'attivazione della cascata della coagulazione e principale responsabile, insieme alle piastrine, della formazione dei trombi. Il nostro gruppo ha in precedenza dimostrato che nei pazienti con malattia cardiovascolare il TF associato alle piastrine (pTF) è significativamente aumentato rispetto ai volontari sani e questo si traduce in una aumentata capacità di generare trombina da parte delle piastrine.

**Scopo** di questo studio è stato valutare se il T2DM influenzi l'espressione di pTF e se questo influenzi la capacità di generare trombina e la funzione emostatica globale in pazienti con angina stabile (SA).

**Materiali e metodi:** L'espressione di pTF è stata valutata mediante citofluorimetria in sangue intero in 60 pazienti con angina stabile, 30 con e 30 senza T2DM, in 28 pazienti con T2DM senza SA e in 37 volontari sani. Il potenziale protrombotico piastrinico è stato analizzato con saggio di generazione di trombina (TG) e la funzione emostatica globale mediante tromboelastometria.

**Risultati:** I pazienti diabetici presentano un aumento significativo del numero di piastrine TF positive rispetto ai non diabetici ( $27,5 \pm 2,1$  vs.  $14,9 \pm 1$ ,  $p < 0,001$ ) e questo si associa ad una più rapida TG piastrinica. Il trattamento dei campioni con un anticorpo (Ab) anti-TF determina un aumento nel Lag Time e nel Time-to-peak che è significativamente maggiore nei pazienti con T2DM. Risultati simili sono stati ottenuti eseguendo il saggio su campioni di plasma. I parametri tromboelastometrici indicano un aumento significativo della consistenza e della cinetica di formazione del coagulo nei pazienti con T2DM rispetto a quelli senza T2DM.

**Conclusioni:** I pazienti con SA e T2DM presentano un maggior numero di piastrine TF positive. pTF è funzionalmente attivo poiché innesca la generazione di trombina che risulta aumentata nei diabetici e selettivamente inibita da un Ab specifico. Questi dati contribuiscono a caratterizzare i meccanismi responsabili dell'aumentato fenotipo protrombotico associato al T2DM e aprono interessanti prospettive per possibili interventi terapeutici.

## **LA DIFFERENZIAZIONE DEI LINFOCITI T CD4+ VERSO UN FENOTIPO EFFETTORE VIENE PROMOSSA IN CONDIZIONI DI DISLIPIDEMIA**

F. Bonacina<sup>1</sup>, F. Sala<sup>1</sup>, Fabio Pellegatta<sup>2</sup>, L. Grigore<sup>2</sup>, A. Baragetti<sup>1,2</sup>, A.L. Catapano<sup>1,3</sup>, G.D. Norata<sup>1,2,4</sup>

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano (Milano), 2 Centro SISA per lo studio dell'aterosclerosi, Ospedale Bassini (Cinisello Balsamo, Milano), 3 IRCSS Multimedica, (Milano), 4 The Blizard Institute, Centre for Diabetes, Barts and The London School of Medicine & Dentistry, Queen Mary University (Londra)

Studi recenti mostrano come la risposta immunitaria giochi un ruolo importante nell'inizio e nella progressione della patologia aterosclerotica con una prevalenza di subsets di carattere effetore (TEM). E' tuttavia ancora dibattuto se la dislipidemia sia coinvolta nel priming della risposta immunitaria verso tale fenotipo effetore.

Scopo del lavoro è stato quello di studiare sia in modelli animali sia nell'uomo come la dislipidemia influenzi la differenziazione dei linfociti T CD4 naïve(TN) verso quelli effettori memoria(TEM).

Recenti analisi di citofluorimetria hanno mostrato come topi ApoE KO presentino un aumento dei livelli circolanti di TEM(CD4+CD44+CD62L-) e una riduzione di TN(CD4+CD44-CD62L+) rispetto a topi C57BL/6J. I livelli di TEM sono stati inoltre correlati con l'estensione della placca aterosclerotica nel seno aortico. Abbiamo quindi valutato l'impatto della dislipidemia in topi ApoE KO durante una risposta immunitaria: in un saggio in vitro di proliferazione i linfociti derivanti da topi ApoE KO proliferano di più rispetto a quelli di C57BL/6. Infine, in un saggio in vivo di allotrapianto di pelle, i roditori ApoE KO presentano un aumento di TEM nei linfonodi e un aumento della capacità migratoria dei linfociti verso CXCL10 (agonista di CXCR3), confermando ulteriormente l'impatto della dislipidemia nella risposta T effettrice in condizioni immuno-infiammatorie.

Nell'uomo abbiamo caratterizzato i linfociti T CD4 circolanti tramite citofluorimetria (CD3,CD4,CD45RO,CD45RA,CCR7,CCR5,CXCR3,HLA-DR) in 183 soggetti derivanti dalla popolazione generale (studio PLIC) e osservato che i livelli plasmatici di colesterolo sono significativamente correlati ai livelli di TEM indipendentemente da altri fattori di rischio metabolici e cardiovascolari. Successivamente i livelli circolanti di linfociti T sono stati investigati in funzione delle isoforme E2, E3 e E4 dell'apolipoproteinaE umana: i portatori dell'isoforma ApoE4, che presentano più alti livelli di colesterolo, hanno livelli significativamente aumentati di TEM rispetto ai portatori dell'isoforma ApoE2 ed E3. Infine, esperimenti di mix lymphocytes reaction mostrano un aumento della polarizzazione dei linfociti TN verso TEM nei portatori dell'isoforma ApoE4, rafforzando ulteriormente la correlazione tra dislipidemia e risposta mediata da linfociti T.

Complessivamente questi dati suggeriscono che alterazioni del metabolismo lipidico polarizzano il sistema immunitario verso una risposta effettrice TEM.

## **VARIAZIONE DI ALCUNI FATTORI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE IN SOGGETTI PORTATORI DI DIABETE MELLITO TIPO 2 DOPO TRATTAMENTO A MEDIO-LUNGO TERMINE CON LIRAGLUTIDE**

Anna Pulcina, Giulia Buonaiuto\*, Rita Carpinteri\*, Francesca Coletti\*, Annalisa Balini\*, Denise Berzi\*, Giancarla Meregalli\*, Giovanni Veronesi°, Antonio C. Bossi\*

Università degli Studi di Milano, Scuola di Specializzazione in Scienza dell'Alimentazione; \*U.O. Malattie Metaboliche e Diabetologia, A.O. Ospedale Treviglio-Caravaggio (Bg); °EPIMED – Centro di Epidemiologia e Medicina Preventiva, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi dell'Insubria, Varese

**SCOPO DELLO STUDIO:** Liraglutide (Lira) è un farmaco iniettivo agonista recettoriale del GLP 1, prescrivibile a pazienti con diabete mellito tipo 2 (DMT2) in compenso glicometabolico non ottimale in associazione a dieta, attività fisica e terapia antidiabetica orale classica. Scopo del nostro lavoro è stato verificare l'evoluzione a medio-lungo termine (sino a 36 mesi) di alcuni fattori di rischio cardiovascolare con utilizzo “add-on” di Lira.

**MATERIALI E METODI:** sono state considerate retrospettivamente le principali variabili metaboliche e antropometriche rilevate all'inizio della terapia con Lira, dopo 6, dopo 12, 24 e 36 mesi di trattamento (durata media di follow-up:  $18,5 \pm 11$  mesi) in 149 pazienti ambulatoriali (69 F, 80 M; età media  $58,0 \pm 9,5$  anni) portatori DMT2 (durata media di malattia  $11,0 \pm 5,6$  anni) afferenti alle strutture ambulatoriali dell'A.O. Treviglio.

**RISULTATI E DISCUSSIONE:** durante il periodo di osservazione, 78 pazienti (52,3%) hanno sospeso il trattamento: 9 per effetti indesiderati (1 caso di iperamilasemia senza equivalenti clinici); 40 per inefficacia terapeutica; 1 per decesso da cause CV; 28 “drop-out”. I 71 soggetti che proseguono la terapia hanno presentato una soddisfacente riduzione del peso corporeo ( $-5,5 \pm 1,9\%$ ;  $p < .0001$ ) e dell'HbA1c ( $-10,3 \pm 4,9\%$ ;  $p < .0001$ ) evidenziabili già dopo i primi 6 mesi di trattamento con Lira, ma perduranti dopo 24 e 36 mesi (concetto di “durability”). L'adiposità addominale mostra invece un nadir dopo 24 mesi ( $-8,8 \pm 3,8\%$ ;  $p < .0001$ ), con relativo recupero al terzo anno.

**CONCLUSIONI:** lo studio è un'osservazione di pratica clinica “real-world”. Significativo il numero di pazienti che hanno interrotto il trattamento (la maggior parte per inefficacia terapeutica) e, purtroppo, l'elevato riscontro di “drop-out”. I sintomi gastro-enterici sono stati gli effetti “collaterali” più comunemente rilevati (peraltro con bassa incidenza): tuttavia la sensazione di ripienezza gastrica e le azioni centrali di Lira inducono il paziente ad assumere un minor quantitativo di cibo. L'osservata significativa riduzione del peso corporeo e il notevole miglioramento del profilo glicemico possono concorrere a determinare una diminuzione del rischio cardiovascolare globale nei soggetti portatori di DMT2.

## IL TRATTAMENTO CON CAPTOPRIL RIDUCE L'ESPRESSIONE DEL FATTORE TISSUTALE CIRCOLANTE NEI RATTI STROKE-PRONE

M. Brambilla<sup>1</sup>, P. Gelosa<sup>1</sup>, L. Rossetti<sup>1</sup>, B. Perancin<sup>1</sup>, L. Castiglioni<sup>2</sup>, L. Sironi<sup>2</sup>, E. Tremoli<sup>1,2</sup>, M. Camera<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro Cardiologico Monzino IRCCS, <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

**Introduzione e scopo.** Gli ACE inibitori si sono dimostrati efficaci nel ridurre l'incidenza di eventi ischemici ricorrenti, suggerendo un potenziale effetto antitrombotico a carico di questi farmaci che va oltre la loro azione anti-ipertensiva.

A questo proposito, dati ottenuti nel nostro laboratorio suggerivano che il captopril era in grado di ridurre l'espressione di Fattore Tissutale (TF), il principale attivatore di coagulazione del sangue, in monociti umani in coltura. Anche le piastrine (sia umane che di ratto), che con il TF svolgono un ruolo chiave nella formazione di un trombo, esprimono TF.

Scopo dello studio è stato quindi quello di valutare se il captopril era in grado di modulare l'espressione del TF sulla superficie delle piastrine di ratti SHRSP, animali spontaneamente ipertesi caratterizzati da sviluppo precoce di lesioni vascolari cerebrali.

**Metodi.** 20 ratti maschi del ceppo SHRSP sono stati randomizzati in tre gruppi sperimentali trattati per 4 settimane con: 1) dieta standard (n=4); 2) dieta ipersalina (n=6); 3) dieta ipersalina e captopril (somministrato negli ultimi 7 giorni, 50 mg/kg/die, n=12). Al sacrificio è stata analizzata l'espressione di TF su piastrine, leucociti e microvescicole mediante citofluorimetria e l'attività procoagulante del plasma mediante saggio di generazione di trombina.

**Risultati.** Gli animali trattati con dieta ipersalina hanno sviluppato ipertensione, proteinuria e ischemia cerebrale nell'arco di 4 settimane. In questi animali, la percentuale di leucociti ( $0.34 \pm 0.01\%$  vs  $5.8 \pm 3.2\%$ ;  $p=0.006$ ), di piastrine ( $6.7 \pm 0.8\%$  vs  $10.8 \pm 1.2\%$ ;  $p=0.0003$ ) e di microvescicole (600 vs 1800 MP/ $\mu$ l) che esprimono TF risultava significativamente superiore rispetto a quello degli animali mantenuti con dieta standard. Il trattamento con captopril riduceva la percentuale di leucociti ( $5.8 \pm 3.2$  vs  $0.5 \pm 0.2$   $p=0.006$ ), di piastrine ( $10.8 \pm 1.2$  vs  $4.4 \pm 1\%$ ;  $p<0.0001$ ) e di microvescicole, sia di origine leucocitaria ( $29 \pm 15\%$  vs  $7.6 \pm 5\%$ ;  $p=0.012$ ) che piastrinica ( $81.3 \pm 25\%$  vs  $38.4 \pm 21\%$ ;  $p=0.05$ ), che esprimevano TF. Anche la capacità del plasma di generare trombina risultava significativamente ridotta dopo trattamento con captopril.

**Conclusioni.** Questi dati suggeriscono come il captopril sia in grado di ridurre non solo l'espressione di TF leucocitario, ma anche quello espresso dalle piastrine e dalle microvescicole plasmatiche. L'effetto antitrombotico è inoltre confermato dalla sua efficacia nel ridurre la capacità plasmatica di generare trombina.



## THE IDOL N342S GENE VARIANT IS NOT ASSOCIATED WITH PLASMA LIPID PROFILE AND PRE-CLINICAL CAROTID ATHEROSCLEROSIS IN AN ITALIAN FREE LIVING POPULATION

Ashish Dhyani<sup>1</sup>, Gianpaolo Tibolla<sup>1,2</sup>, Andrea Baragetti<sup>3</sup>, Katia Garlaschelli<sup>3</sup>, Liliana Grigore<sup>3</sup>, Giuseppe Danilo Norata<sup>1,3</sup> and Alberico Luigi Catapano<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan, Italy

<sup>2</sup> I.R.C.C.S MultiMedica, Milan, Italy

<sup>3</sup> SISA center for the study of atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello B.mo, Italy

**AIM and Objective:** Mylip gene, known as IDOL (Inducible degrader of LDLR), encodes a E3 ubiquitin ligase, ubiquitously expressed that modulates the LDLR levels. The N342S allele (rs9370867 SNP) of the IDOL gene has been recently associated with high Total Cholesterol levels in a Mexican population, but this finding was not confirmed in a Brazilian Population. Aim of this study was to evaluate the possible association of the rs9370867 SNP with plasma lipid profile and carotid intima media thickness (cIMT) in the Italian general population enrolled in the PLIC study (Progression of lesions in the intima of carotid).

**Methods:** 1384 subjects enrolled in the PLIC study were genotyped for the IDOL rs9370867 SNP by Q-PCR allelic discrimination. The associations with anthropometric and lipid parameters and the cIMT and the impact on cardiovascular disease (CVD) were analysed.

**Results:** The N342S variant of IDOL gene was not associated with changes in plasma lipid profile, cIMT and CVD incidence. In general population, the frequencies of the IDOL rs9370867 "A" variant allele and "G" variant allele were found with 51.99% and 48.01% respectively. No significant differences in the genotypes distributions between men (n=485) and women (n=899) were observed. No major differences were found in the anthropometric and biochemical parameters, such as total cholesterol (TC), LDL-C, HDL-C, Triglycerides and Glycemia among carriers of different genotypes.

In agreement with the protein levels of LDLR and the uptake of LDL was similar in macrophages from GG and AA carriers. Taken together our findings indicate that other variants are likely to be responsible for the relationship between plasma LDL-C levels and genetic variation in the IDOL gene evidenced by recent GWAS in Caucassian populations.

**Conclusion:** Our findings indicate that the IDOL rs9370867 variants do not associate with the lipid profile and with carotid atherosclerosis in the Italian population.

## **ETEROGENEITA' MORFOLOGICA DI MACROFAGI UMANI DIFFERENZIATI IN VITRO: CARATTERIZZAZIONE DEL PROFILO PROTEICO**

Susanna Fiorelli<sup>1</sup>, Maura Brioschi<sup>1</sup>, Sonia Eligini<sup>1</sup>, Elena Tremoli<sup>1,2</sup>, Susanna Colli<sup>2</sup>, Cristina Banfi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Cardiologico Monzino I.R.C.C.S, Milano

<sup>2</sup>Dipartimento di scienze farmacologiche e biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

Sommario: I macrofagi sono cellule del sistema immunitario che svolgono un ruolo fondamentale nella risposta infiammatoria. Partecipano a processi fisiologici e patologici quali l'arteriosclerosi, patologia su base infiammatoria che rappresenta la principale causa di infarto del miocardio, ictus e patologie vascolari periferiche.

I macrofagi sono caratterizzati da un'elevata eterogeneità e plasticità, proprietà evidenziate dalla capacità di acquisire morfologia e funzioni differenti a seconda del tipo di tessuto in cui si differenziano e delle caratteristiche del microambiente. Tale eterogeneità è stata evidenziata anche a livello della placca aterosclerotica, contesto in cui il fenotipo macrofagico prevalente può direzionare la progressione o la regressione della placca stessa.

Esperimenti da noi condotti in precedenza indicano che macrofagi ottenuti dal differenziamento spontaneo di monociti isolati da sangue periferico di soggetti sani sono caratterizzati da due morfotipi prevalenti (tondeggianti ed allungato) che coesistono nella stessa coltura. Lo scopo di questo studio è quello di definire il profilo proteico di tali morfotipi.

Metodi e risultati: I monociti, isolati mediante gradiente di Ficoll-Paque Plus sono stati posti in piastre DuplexDish 50 e coltivati in terreno M199 contenente il 10% di siero autologo. Al 7° giorno, in seguito a fissazione, i due morfotipi sono stati raccolti singolarmente mediante un microdissettore laser (PALM MicroLaser, Zeiss). Da 6000 cellule per ogni singolo morfotipo sono state estratte le proteine che, in seguito, sono state analizzate, in triplicato, mediante nanoUPLC-ESI-qTOF. I due morfotipi hanno mostrato profili proteici differenti: delle 137 proteine identificate, 11 sono presenti esclusivamente nelle cellule tondeggianti e 27 in quelle allungate. Per quanto riguarda le proteine presenti in entrambi i morfotipi, 17 sono più abbondanti nel fenotipo tondeggianti mentre solo una lo è nel fenotipo allungato. In particolare, i profili diversi hanno riguardato proteine coinvolte nel metabolismo lipidico, nella motilità cellulare e nel fenomeno dell' efferocitosi (fagocitosi di cellule apoptotiche).

Conclusioni: I due morfotipi macrofagici (allungato e tondeggianti) mostrano profili proteici differenti. In particolare, il proteoma delle cellule tondeggianti è compatibile con un fenotipo anti-infiammatorio e riparativo. L'identificazione di markers specifici associati ad un singolo morfotipo potrebbe rappresentare un elemento fondamentale per lo sviluppo di approcci farmacologici mirati.

## TOPI PCSK9 KNOCK-OUT SONO PROTETTI DALLA FORMAZIONE DELL'ISPESSIMENTO NEOINTIMALE CAROTIDEO IN RISPOSTA A MANIPOLAZIONE PERIVASCOLARE

<sup>1</sup>C. Ricci, <sup>1,2</sup>G. Tibolla, <sup>1,3</sup>R. Baetta, <sup>1</sup>A. Corsini, <sup>1,2</sup>A.L. Catapano, <sup>1,2</sup>N. Ferri.

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Italy; <sup>2</sup>IRCCS Ospedale Multimedica, Milano, Italia; <sup>3</sup>Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milano, Italia

La proproteina convertasi subtilisina kexina di tipo 9 (PCSK9) è un importante regolatore dei livelli epatici di colesterolo LDL. Il nostro gruppo di ricerca ha recentemente dimostrato che PCSK9 è espresso nelle cellule muscolari lisce (CML) in coltura ed è presente nella placca aterosclerotica umana. Lo scopo del presente studio è stato quello di analizzare la risposta vascolare indotta dal posizionamento di un collarino di silicone (costrittivo ma non occlusivo) per 9 settimane attorno alla carotide di topi PCSK9 WT e KO.

Come atteso, il colesterolo plasmatico è principalmente veicolato dalle particelle HDL e i topi PCSK9 KO presentano livelli di colesterolo totale significativamente ridotti rispetto ai topi WT ( $13.6 \pm 3.3$  mg/dl vs  $47.1 \pm 8.8$  mg/dl \* $P=0.01$ ).

Le carotidi con collarino dei topi PCSK9 KO (12 per gruppo) hanno mostrato un ispessimento neointimale meno marcato rispetto ai topi PCSK9 WT ( $19055 \pm 10158$   $\mu\text{m}^2$  vs.  $34989 \pm 12823$   $\mu\text{m}^2$ ; \* $P=0.05$ ), una diminuzione del rapporto tra neointima e media ( $0.82 \pm 0.70$  vs.  $2.54 \pm 1.67$  \* $P=0.05$ ) e una maggiore area del lume ( $18830 \pm 8816$   $\mu\text{m}^2$  vs.  $11821 \pm 7980$   $\mu\text{m}^2$ ). Le lesioni carotidiche dei topi WT presentavano, inoltre, un più elevato contenuto di CML ( $21.0 \pm 7.56\%$  vs.  $10.7 \pm 1.97\%$  \* $P=0.05$ ) e collagene ( $18.38 \pm 7.90\%$  vs.  $10.45 \pm 9.11\%$ ; \*\* $P=0.01$ ), mentre non è stata rilevata alcuna differenza nel contenuto di macrofagi tra i due gruppi.

Le CML in coltura, isolate dai topi WT, hanno mostrato livelli inferiori di  $\alpha$ -actina, marcatore contrattile della muscolatura liscia ( $-94 \pm 6\%$ ; \*\*\* $P=0.001$ ) e di calponina ( $-74 \pm 18\%$ ; \*\*\* $P=0.001$ ), mentre i livelli di RNA messaggero di Collagene di tipo 1 erano aumentati ( $2.30 \pm 0.3$  volte \*\*\* $P=0.001$ ). Infine, la velocità di proliferazione delle CML PCSK9 KO è risultata significativamente diminuita se confrontata con quella delle CML PCSK9 KO ricostituite con un plasmide codificante per PCSK9 (tempo di duplicazione cellulare di  $41.2 \pm 1.9$  h vs.  $32.2 \pm 3.1$  h; \*\*\* $P=0.01$ ).

Riassumendo, i risultati presentati suggeriscono che PCSK9 sia in grado di favorire la formazione dell'ispessimento neointimale in risposta a manipolazione carotidea, facilitando probabilmente il cambiamento fenotipico delle CML della media (da contrattile a sintetico) e la loro proliferazione. Non può comunque essere esclusa l'influenza dei differenti profili di colesterolo plasmatico caratterizzanti i topi WT e KO. Perciò, al fine di escludere l'influenza del colesterolo, verrà ulteriormente studiato il ruolo diretto di PCSK9 sulla formazione dell'ispessimento neointimale, generando topi con una delezione specifica di PCSK9 solo a livello delle CML.

Questo lavoro è stato finanziato dal progetto di Ricerca 2012-0549 della Fondazione Cariplo.

## **APPLICABILITA' DELLE LINEE GUIDA DI PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE NEL MONDO REALE. RISULTATI DI UNO STUDIO CASO-CONTROLLO PROSPETTICO MULTIETNICO**

Martina Berteotti, Marco Magnoni, Luca Rosario Limite, Giovanni Peretto, Giuseppe Danilo Norata<sup>°</sup>, Domenico Cianflone.

Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

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

**Background:** Le linee guida di prevenzione cardiovascolare ACC/AHA del 2013, hanno introdotto un nuovo sistema di predizione del rischio (Pooled Cohort Equations, PCE) e ridotto la soglia di prescrizione delle statine. Il conseguente potenziale ampliamento del numero di soggetti destinati al trattamento è oggetto di controversie.

**Scopo:** Valutare l'applicazione delle linee guida dell'ACC/AHA e dell'Adult Treatment Panel III (ATP-III) come modelli ex-post del trattamento preventivo nella popolazione di uno studio caso-controllo, prospettico e multietnico.

**Metodi:** La popolazione dello studio è costituita da 1478 soggetti, arruolati nello studio FAMI in Italia, Scozia e Cina, di cui 739 casi con STEMI come prima manifestazione di malattia coronarica e 739 controlli appaiati per sesso, età e gruppo etnico. Attraverso l'integrazione delle informazioni relative ai fattori di rischio e le analisi centrali del profilo lipidico è stato calcolato il punteggio di rischio secondo i modelli dall'ATP-III e PCE, stimando la proporzione di casi e controlli per i quali la terapia con statina sarebbe stata preventivamente indicata dalle linee guida e calcolando i livelli di capacità di discriminazione dei modelli.

**Risultati:** L'applicazione del modello ACC/AHA determina un aumento della sensibilità all'indicazione del trattamento preventivo [ACC/AHA 0.94 (95%CI,0.91-0.95) vs ATP-III 0.65 (95%CI,0.61-0.68),  $p<0.0001$ ] a fronte di una riduzione della specificità [ACC/AHA 0.19 (95%CI,0.15-0.22) vs ATP-III 0.55 (95%CI,0.51-0.59),  $p<0.0001$ ] con accuratezza simile [ACC/AHA 0.56 (95%CI,0.53-0.59) vs ATP-III 0.59 (95%CI,0.57-0.63),  $p=ns$ ].

L'accuratezza delle linee guida ACC/AHA è risultata superiore nella popolazione europea [Europei 0.58 (95%CI,0.55-0.62) vs Cinesi 0.53 (95%CI,0.48-0.57),  $p=0.003$ ] e ulteriormente migliorata nei soggetti europei più giovani (uomini<55 anni; donne<65 anni) anche nei confronti dell'ATP-III [ACC/AHA 0.71 (95%CI,0.66-0.76) vs ATP-III 0.62 (95%CI,0.57-0.68),  $p=0.002$ ].

**Discussione:** L'applicazione delle linee guida ACC/AHA potrebbe ridurre il numero di pazienti con STEMI che potenzialmente non sarebbero stati trattati preventivamente con statine a scapito di un eccesso di prescrizione nei soggetti sani con dei livelli di accuratezza globale del modello significativamente influenzati dall'etnia e all'età della popolazione.

## **EFFETTO DELL'INTERAZIONE TRA LCAT E APOA-I SUL METABOLISMO LIPIDICO IN TOPI DOPPI TRANSGENICI PER hLCAT E hApoA-I**

A. Ossoli<sup>1,2</sup>, B. Vaisman<sup>1</sup>, M. Pryor<sup>1</sup>, M. Sampson<sup>1</sup> and A.T. Remaley<sup>1</sup>

1 Lipoprotein Metabolism Section, National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health, Bethesda, MD, United States.

2 Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

La lecitina:colesterolo aciltransferasi (LCAT) è l'enzima responsabile dell'esterificazione del colesterolo nel plasma e svolge un ruolo chiave nel processo ateroprotettivo di trasporto inverso di colesterolo. Il ruolo di LCAT nell'aterosclerosi non è però ben definito e diversi studi sia nell'uomo che in modelli animali hanno portato a risultati contrastanti. Con lo scopo di chiarire il ruolo di LCAT nell'aterosclerosi è stato sviluppato un nuovo modello murino transgenico sia per LCAT umano (hLCAT) e apoA-I umana (hapoA-I), il principale attivatore di LCAT nel plasma. I valori lipidici e la distribuzione lipoproteica dei topi doppi transgenici sono stati confrontati con quelli di topi wild-type, singoli transgenici per hapoA-I o hLCAT e apoE knock-out. I topi doppi transgenici mostrano un marcato aumento di colesterolo totale nel plasma che arriva fino a 1000 mg/dL, significativamente più alto rispetto al colesterolo totale di topi apoE-KO. L'analisi FPLC mostra che la maggior parte del colesterolo è accumulato nella frazione HDL e il plasma di questi animali, così arricchito in HDL, aumenta la sua capacità di promuovere l'efflusso di colesterolo cellulare. L'analisi dell'espressione genica mostra inoltre una modulazione dei geni coinvolti nel metabolismo del colesterolo sia a livello epatico che nei tessuti periferici. Sebbene in seguito a dieta arricchita in grassi e colesterolo il profilo lipoproteico mostri un aumento di colesterolo anche nelle frazioni VLDL e LDL, l'aorta dei topi doppi transgenici è priva di lesioni aterosclerotiche. I risultati ottenuti suggeriscono quindi che l'aumento di espressione sia di LCAT che di apoA-I abbia un effetto sinergico sulla sintesi di HDL con un effetto globale anti-aterogeno.

## UTILITA' DEL RAPPORTO APOB/APOA1 NELLA PREDIZIONE DI INFARTO MIOCARDICO ACUTO INDIPENDENTEMENTE DAL PUNTEGGIO DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE NELLA POPOLAZIONE CINESE

Martina Berteotti, Marco Magnoni, Luca Rosario Limite, Giovanni Peretto, Giuseppe Danilo Norata<sup>°</sup>, Domenico Cianflone.

Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

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

Background: Precedenti studi hanno dimostrato che il rapporto ApoB/ApoA1 è un predittore di rischio per infarto miocardico (STEMI) indipendente dal profilo lipidico tradizionale e dai modelli di stima del rischio.

Le linee guida di prevenzione cardiovascolare ACC/AHA del 2013, hanno introdotto un nuovo sistema di predizione del rischio (Pooled Cohort Equations, PCE).

Scopo: Valutare l'influenza dell'etnia sul valore predittivo incrementale del rapporto ApoB/ApoA1 rispetto anche al punteggio di rischio PCE.

Metodi: La popolazione dello studio è costituita da 1478 soggetti, arruolati nello studio FAMI in Italia, Scozia e Cina, di cui 739 casi con STEMI come prima manifestazione di malattia coronarica e 739 controlli appaiati per sesso, età e gruppo etnico. Di tutti i soggetti sono stati misurati centralmente colesterolo totale (TC), LDL, HDL, Trigliceridi, ApoB e ApoA1 ed è stato calcolato il punteggio di rischio secondo PCE.

Risultati :Nella popolazione cinese i valori medi dei marcatori lipidici tradizionali erano significativamente inferiori rispetto agli europei (TC 208.6±47.4 vs 230.9±50.2, p<0.0001; LDL 137.0±43.7 vs 157.9±54.2, p<0.0001; HDL 41.4±9.7 vs 45.8±12.8, p<0.0001; Cinesi vs Europei, rispettivamente).

Il rischio medio delle popolazioni europea e cinese con STEMI calcolato con PCE è risultato simile (Europei 19%±12.4 vs Cinesi 19.6%±14.1; p=ns) con un'accuratezza di predizione del rischio inferiore, ai limiti della significatività, nella popolazione cinese [0.57 (95% CI 0.53-0.61) e 0.63 (95% CI 0.59-0.66), p=0.05].

L'incremento del rapporto ApoB/ApoA1 è risultato significativamente associato a un aumento progressivo del rischio di STEMI sia nella popolazione europea (OR II vs I terzile: 1.49; 95%CI 1.03-2.15; OR III vs I terzile: 2.68;95%CI 1.86-3.88) che in quella cinese (OR II vs I terzile: 1.98;95%CI 1.32-2.99; OR III vs I terzile: 3.84;95%CI 2.47-6.03).

Discussione: Il rapporto ApoB/ApoA1 risulta associato al rischio di STEMI indipendentemente dall'etnia di origine mantenendo un valore predittivo incrementale rispetto ai marcatori lipidici tradizionali e al nuovo modello di predizione del rischio.

## UTILIZZO DI STATINE GENERICI E BRAND: RISCHIO DI EVENTI CARDIOVASCOLARI

Soranna Davide<sup>1,2</sup>, Giovanni Corrao<sup>1</sup>, Andrea Arfè<sup>1</sup>, Manuela Casula<sup>3</sup>, Elena Tragni<sup>3</sup>, Luca Merlini<sup>4</sup>, Giuseppe Mancia<sup>2,5</sup>, Alberico L. Catapano<sup>3,6</sup>

1 Dipartimento di Statistica e Metodi Quantitativi, Sezione di Biostatistica, Epidemiologia e Sanità Pubblica, Università di Milano-Bicocca, Milano, Italia

2 IRCSS Istituto Auxologico Italiano, Milano, Italia

3 Centro Universitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Italia

4 Unità Organizzativa Servizi Sanitari Territoriali, Regione Lombardia, Milano

5 Dipartimento di Medicina Clinica e Prevenzione, Università Milano-Bicocca, Milano, Italia

6 IRCSS Multimedica, Sesto San Giovanni, Milano, Italia

**Introduzione.** Negli ultimi anni il Servizio Sanitario Nazionale ha raccomandato la prescrizione di farmaci generici bioequivalenti ai corrispettivi farmaci brand. Tuttavia vi è la preoccupazione, tra i pazienti e i medici, che i farmaci generici possono essere clinicamente inferiori a quelli di marca. Questo studio ha lo scopo di confrontare i pazienti trattati con statine generici e statine brand sul rischio di insorgenza di eventi cardiovascolari.

**Metodi .** Sono stati identificati gli assistiti della Regione Lombardia di età maggiore di 40 anni che hanno ricevuto la prima prescrizione di simvastatina nell'anno 2008 (prescrizione indice). Sono stati esclusi i pazienti che avevano assunto una qualsiasi statina e coloro che avevano sperimentato un qualsiasi evento cardiovascolare negli 8 anni precedenti alla prescrizione indice. Ogni membro della coorte finale accumulava anni-persona di follow-up dalla prescrizione indice fino al primo dei seguenti eventi: ospedalizzazione per un evento cardiovascolare maggiore, morte, migrazione o 31 Dicembre 2011. È stato implementato un modello di Cox per stimare l'Hazard Ratio (HR) tra coloro che iniziavano la terapia con statina generico rispetto a coloro che iniziavano con statina brand (analisi intension-to-treat) e tra i soggetti che durante il follow-up avevano utilizzato maggiormente farmaci generici in confronto a chi aveva utilizzato principalmente farmaci di marca (analisi as-treated).

**Risultati.** I pazienti che iniziavano la terapia con generico, in confronto a quelli iniziati con brand, non avevano un diverso rischio di insorgenza di eventi cardiovascolari (HR 0.98; 95% IC: 0.79, 1.22). Questo risultato è confermato dall'analisi as-treated, infatti i pazienti a cui erano maggiormente dispensati i farmaci generici non sperimentavano un differente rischio di ospedalizzazione cardiovascolare (HR 1.06; 95% IC: 0.83, 1.34).

**Conclusioni.** I farmaci generici non sembrano essere associati ad una diversa efficacia in termini di prevenzione cardiovascolare. Supponendo che ci sia l'equivalenza terapeutica, sembrerebbe consigliabile prescrivere farmaci generici al fine di ridurre la spesa clinica.

## **LA DELEZIONE DELL'APOLIPOPROTEINA A-I IN TOPI APOE-KO AUMENTA LO SVILUPPO DI ATEROSCLEROSI AORTICA E CORONARICA**

G.S. Ganzetti, C. Parolini, S. Manzini, F. Dellerà, C.R. Sirtori, G. Chiesa, M. Busnelli

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Italia

Uno dei modelli murini più utilizzati negli studi di aterosclerosi è il topo apoEKO, che sviluppa iperlipidemia e lesioni aterosclerotiche anche con una dieta a basso contenuto di grassi e priva di colesterolo (chow). Questi topi non manifestano aterosclerosi coronarica se non in tarda età. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare gli effetti della delezione di apoA-I murina sullo sviluppo di aterosclerosi nei topi apoEKO.

Topi apoEKO sono stati incrociati con topi apoA-IKO per ottenere topi apoEKO/apoA-IKO. Per il nostro studio sono stati arruolati topi apoEKO e apoEKO/apoA-IKO a partire da 8 settimane di età e sono stati mantenuti a dieta chow fino all'età di 30 settimane. La distribuzione del colesterolo nelle frazioni lipoproteiche è stata misurata tramite FPLC e lo sviluppo dell'aterosclerosi è stato valutato sia con analisi en-face sull'aorta sia mediante istologia a livello del seno aortico e delle arterie coronarie.

Nei topi apoEKO/apoA-IKO si è osservata la quasi totale assenza della frazione HDL, mentre l'accumulo di colesterolo nelle frazioni VLDL-LDL è risultato inferiore rispetto a quello riscontrato nei topi apoEKO. L'analisi en-face ha dimostrato che i topi apoEKO e un apoEKO/apoA-IKO hanno un'estensione simile delle placche aterosclerotiche a livello dell'arco aortico ( $6.9 \pm 5.6\%$ ,  $7.2 \pm 5.5\%$ , rispettivamente). In entrambi i genotipi invece non è stata osservata aterosclerosi nei segmenti dell'aorta toracica e addominale. Nel seno aortico i topi apoEKO/apoA-IKO hanno invece mostrato lesioni aterosclerotiche significativamente più estese rispetto ai topi apoEKO ( $6.2 \pm 0.5 \times 10^5 \mu\text{m}^2$  vs.  $3.2 \pm 0.7 \times 10^5 \mu\text{m}^2$ ,  $p < 0.001$ ). Si è osservato come nei topi apoEKO/apoA-IKO fossero presenti ateromi anche nelle arterie coronarie comuni ( $76,25 \pm 8,62\%$ ), contrariamente ai topi apoEKO.

I nostri risultati dimostrano che la delezione di apoA-I murina nei topi ApoEKO aggrava significativamente lo sviluppo di aterosclerosi aortica e coronarica. Sebbene sia necessaria un'accurata analisi dell'insorgenza di aterosclerosi coronarica, i nostri dati suggeriscono che i topi apoEKO/apoA-IKO potrebbero essere considerati come un modello innovativo di malattia coronarica.



## LE ISTONE DEACETILASI DI CLASSE I REGOLANO LA FASE PRECOCE DEL DIFFERENZIAMENTO ADIPOCITARIO

A. Ferrari, E. Fiorino, S. Barilla, M. Giudici, U. Guerrini, M. Crestani

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

Le istone deacetilasi (HDAC) sono regolatori epigenetici coinvolti nell'omeostasi metabolica. Il nostro laboratorio ha dimostrato che l'inibizione selettiva delle HDAC di classe I migliora il fenotipo obeso e diabetico in un modello murino di obesità indotta da una dieta ad alto contenuto di grassi (HFD, 60% di calorie da grassi). In topi C57BL6/J nutriti con dieta HFD per 17 settimane e trattati con l'inibitore selettivo delle HDAC di classe I MS275 abbiamo osservato una riduzione del 10% del peso corporeo e una migliore capacità di rimuovere il glucosio dal circolo. Inoltre abbiamo osservato, tramite risonanza magnetica nucleare, una significativa riduzione del grasso sottocutaneo. L'analisi istologica del tessuto adiposo bianco (WAT) sottocutaneo e viscerale ha mostrato, in entrambi i tessuti, una significativa riduzione della dimensione cellulare. L'analisi di espressione genica ha mostrato inoltre un aumento dei geni marker del differenziamento adipocitario e dei geni coinvolti nel catabolismo lipidico. Il passo successivo è stato quello di investigare il meccanismo tramite il quale MS275 esercita i propri effetti nel WAT. In questo tessuto esistono diverse popolazioni cellulari che includono pre-adipociti e adipociti terminalmente differenziati. Esperimenti *in vitro* nelle cellule mesenchimali staminali C3H10T1/2 hanno dimostrato che cellule differenziate in presenza di MS275 mostrano, a fine differenziamento, un'aumentata espressione di *Pparg*, il principale regolatore del differenziamento adipocitario, e dei suoi principali target (*Fabp4*, *Glut4*, *Acrp30*); questi effetti non sono stati osservati in cellule differenziate e trattate con MS275 per 24 ore alla fine del differenziamento. Ciò dimostra che le HDAC di classe I giocano un ruolo nella fase precoce di differenziamento adipocitario. Il trattamento con MS275 solo nei primi 3 giorni di differenziamento, inoltre, è risultato sufficiente per aumentare l'espressione dei geni sopracitati, sebbene in misura minore. Infine abbiamo osservato che cellule differenziate in presenza di MS275 mostrano interessanti differenze morfologiche: gli adipociti sono più piccoli e caratterizzati da gocce lipidiche di dimensioni ridotte.

Sorprendentemente nella linea cellulare 3T3-L1 (fibroblasti già indirizzati verso il destino adipocitario), MS275 ha mostrato effetti opposti in termini di differenziamento adipocitario. La nostra ipotesi è che la discrepanza degli effetti mediati da MS275 nelle due linee cellulari sia dovuta al fatto che il contesto epigenetico cambi in base allo stato di "*pluripotency/commitment*" delle cellule, e che quindi sia diverso in precursori ad uno stadio "*early*" (C3H10T1/2) e in cellule già indirizzate verso il destino adipocitario (3T3-L1).

I risultati *in vivo* e *in vitro* ottenuti fino ad oggi suggeriscono che l'inibizione selettiva delle HDAC di classe I migliori il fenotipo obeso e insulino-resistente, rendendo il tessuto adiposo più funzionale grazie ad una riprogrammazione del destino dei preadipociti. Saranno necessari ulteriori studi per chiarire a fondo il ruolo delle HDAC di classe I nello sviluppo e nel differenziamento dei precursori adipocitari.

## **EFFETTI DI UNA COMBINAZIONE FISSA DI BERBERIS ARISTATA/SILYBUM MARIANUM SUL PROFILO LIPIDICO IN PAZIENTI DISLIPIDEMICI INTOLLERANTI ALLE STATINE AD ALTI DOSAGGI**

Pamela Maffioli, Davide Romano, Lucio Bianchi, Angela D'Angelo, Giuseppe Derosa

Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo, Pavia, Italia

Scopo: valutare l'efficacia di Berberis aristata/Silybum marianum come agente ipocolesterolemizzante in pazienti dislipidemici intolleranti alle statine ad alti dosaggi. Materiali e Metodi: sono stati arruolati 137 soggetti, i pazienti sono stati considerati eleggibili per l'inclusione se intolleranti alle statine ad alti dosaggi. I soggetti sono stati considerati intolleranti se si era verificato uno dei seguenti eventi: un aumento del valore di CPK da tre a dieci volte il limite massimo di laboratorio e/o un aumento del valore di transaminasi da tre a cinque volte i limiti massimi di laboratorio e/o insorgenza di astenia, mialgia, rabdomiolisi. Durante il periodo di run-in, i pazienti sono stati sottoposti ad un mese di wash-out durante il quale le statine sono state sospese. Dopo un mese, se i parametri di sicurezza erano rientrati nella norma, le statine sono state reintrodotte ad un dosaggio dimezzato rispetto a quello precedentemente assunto.

Dopo un mese dalla reintroduzione delle statine, i pazienti che non avevano avuto eventi avversi sono stati randomizzati ad assumere placebo o Berberis aristata/Silybum marianum 588/105 mg/die, 1 compressa a pranzo e 1 compressa a cena, per sei mesi. Sono stati valutati alla randomizzazione, a 3 e a 6 mesi, i parametri antropometrici e metabolici.

Risultati: non abbiamo registrato alcuna variazione significativa del peso o delle circonferenze in nessuno dei due gruppi. Abbiamo osservato una riduzione della glicemia a digiuno, dell'insulinemia e dei livelli dell'indice HOMA dopo l'introduzione di Berberis aristata/Silybum marianum. Inoltre, glicemia, insulinemia e HOMA-IR ottenuti con Berberis aristata/Silybum marianum sono risultati più bassi rispetto a placebo. Il colesterolo totale e LDL e i trigliceridi non sono variati dopo 6 mesi dalla riduzione del dosaggio della statina e l'introduzione di Berberis aristata/Silybum marianum, mentre sono aumentati nel gruppo trattato con placebo. Il colesterolo totale, LDL e i trigliceridi sono risultati significativamente più alti con placebo rispetto a quelli ottenuti con Berberis aristata/Silybum marianum. Non abbiamo osservato alcun peggioramento dei parametri di sicurezza durante lo studio. Conclusioni: il nostro studio mostra l'efficacia e la sicurezza di Berberis aristata/Silybum marianum e un dosaggio ridotto di statine per il trattamento della dislipidemia in pazienti intolleranti alle statine ad alto dosaggio.

## **IL LIPIDOMA A LIVELLO DI PLACCA AORTICA IN TOPI APOE -/- SOTTOPOSTI A DIFFERENTI TRATTAMENTI DIETETICI: CONFRONTO CON LESIONI ATEROSCLEROTICHE UMANE**

F. Dellerà<sup>1</sup>, M. Busnelli<sup>1</sup>, S. Manzini<sup>1</sup>, G.S. Ganzetti<sup>1</sup>, R. Hurme<sup>2</sup>, R. Laaksonen<sup>2</sup>, C. Parolini<sup>1\*</sup> and G. Chiesa<sup>1\*</sup>

\* Gli autori hanno contribuito egualmente al lavoro

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

<sup>2</sup>Zora Biosciences Oy, Espoo, Finlandia

Gli approcci lipidomici sono di particolare interesse nello studio dell'aterosclerosi. Una questione ancora aperta è se, e in quale entità, diversi trattamenti dietetici possano influenzare il lipidoma della placca aterosclerotica.

Scopo del seguente studio è stato quello di valutare la lipidomica delle placche di topi apoE -/- sottoposti a regimi dietetici differenti per contenuto di lipidi e di colesterolo. Inoltre, i risultati dell'analisi lipidomica sono stati comparati con quelli ottenuti in placche umane.

Gli animali sono stati alimentati a dieta Chow (11% grassi, no colesterolo), a dieta Western (21% grassi, 0.2% colesterolo), o a dieta Paigen (16% grassi, 1.25% colesterolo, 0.5% sodio colato) per 12 settimane. Le lesioni sviluppatesi a livello aortico sono state quantificate tramite analisi en-face e sottoposte a caratterizzazione lipidomica. In parallelo è stato valutato il profilo lipidico molecolare di placche aterosclerotiche umane.

Come atteso, è stato osservato un aumento significativo dell'area di placca negli animali a dieta Paigen e Western rispetto a quella dei topi a dieta Chow. Nell'analisi lipidomica, ventuno classi lipidiche sono state analizzate. I risultati ottenuti per due classi lipidiche, gli esteri del colesterolo (CE) e le ceramidi (Cer), sono qui illustrati. Il contenuto dietetico di acidi grassi e colesterolo ha fortemente influenzato l'accumulo e la composizione di CE a livello delle placche murine. Al contrario, le Cer non sono apparse significativamente influenzate dai differenti contenuti dietetici in acidi grassi. Considerando le concentrazioni di CE/Cer e le distribuzioni percentuali all'interno delle lesioni, le placche dei topi apoE -/- più somiglianti alle umane appaiono essere quelle dei topi alimentati a dieta Chow. Il presente studio suggerisce quindi come il topo apoE -/- a dieta Chow possa essere considerato un valido modello sperimentale per studi focalizzati sulla lipidomica delle placche aterosclerotiche.

## **EFFETTO DELL'EUROSIL85 IN UN MODELLO DI STEATOSI-STEATOEPATITE INDOTTA IN RATTI: DATI BIOCHIMICI SIERICI**

L. Arnaboldi\*, R. Sala\*, V. Vignati\*, S. Trabucco\*, A. Granata\*, S. Persiani<sup>^</sup>, M. Colovic<sup>^</sup>, L. Cavicchioli<sup>^</sup>, A. Corsini\*

\*Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

<sup>^</sup>Rottapharm Biotech, Monza

Il fegato grasso non alcolico (NAFLD) è una patologia che spazia dalla semplice steatosi alla steatoepatite-fibrosi, i cui fattori di rischio principali sono obesità centrale, insulino-resistenza, iperglicemia a digiuno ed ipertrigliceridemia. Siccome secondo l'accreditata ipotesi dei "two hits", il primo insulto provoca accumulo lipidico epatico ed il secondo scatena infiammazione e fibrosi, lipidi, stress ossidativo ed infiammazione sono implicati nello sviluppo di NAFLD. Dal momento che finora non sono emersi trattamenti farmacologici efficaci e sicuri nella cura della NAFLD, si è alla costante ricerca di nuove molecole. Tra queste annoveriamo la silimarina, complesso di flavonolignani estratti dal *Silybum marianum*, con proprietà antiinfiammatorie, antifibrotiche, immunomodulatrici, antiossidanti, antiapoptotiche, antivirali ed epatoprotettive. La mancanza di effetti avversi significativi, assieme alla migliorata biodisponibilità della nuova forma farmaceutica della silimarina (Eurosil85) ci ha spinti a valutarne gli effetti nella NAFLD in ratti maschi Wistar. Gli animali sono stati divisi in 4 gruppi ed alimentati con: 1) dieta epatosteatogenica ricca in grassi, deficiente in metionina-colina (MCD), 2-3) dieta MCD addizionata in Eurosil85 40- o 200 mg/kg/die 4) dieta ricca in lipidi con metionina-colina (MCS; dieta controllo) per 1 (6 ratti/gruppo) o 3 mesi (8 ratti/gruppo). Stiamo analizzando lipidi, stress ossidativo, parametri infiammatori-fibrotici sia nel siero che nel fegato. I dati preliminari mostrano come la dieta MCS sia l'unica in grado di aumentare in modo costante il peso dei ratti. Il colesterolo sierico totale è aumentato nei ratti MCS- (178%) vs MCD (100%) e solamente la dose elevata di Eurosil85 ha ridotto questo parametro in modo significativo (-30% ad 1 e 3 mesi). D'altro canto, mentre la dieta MCS ha indotto un aumento (5-9 volte) dei trigliceridi ematici, Eurosil85 non ha alterato significativamente tale parametro rispetto ai ratti MCD. Infine, Eurosil85 ha significativamente migliorato il potere antiossidante del siero rispetto ai ratti MCD (+23,3-45% a diversi tempi e dosi). Riassumendo, questi dati dimostrano come Eurosil85 non peggiori i parametri lipidici sierici e possieda importanti proprietà antiossidanti, senza alterare la funzione epatica (ALT). I risultati sui parametri epatici saranno di fondamentale importanza per valutare gli effetti di Eurosil85 in vista di un possibile impiego nella NAFLD nell'uomo.

## IDENTIFICAZIONE DI DUE NUOVE MUTAZIONI DEL GENE CHE CODIFICA PER IL RECETTORE DELLE LDL IN DUE FAMIGLIE ITALIANE AFFETTE DA IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE

F. Pellegatta <sup>1</sup>, K. Garlaschelli <sup>1</sup>, A. Baragetti <sup>1,2</sup>, L. Grigore <sup>1</sup>, A. Pirillo <sup>1,3</sup> and AL. Catapano <sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup> Centro per lo Studio della Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello B.mo, Milano

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

<sup>3</sup> IRCCS MultiMedica, Sesto San Giovanni, Milano.

**Introduzione.** L'ipercolesterolemia Familiare (FH) è una patologia genetica a trasmissione autosomica dominante causata dalla presenza di mutazioni, principalmente a carico di tre geni, quali LDLR, Apolipoproteina B (ApoB) e Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9 (PCSK9). Inoltre, sono state descritte forme di FH a trasmissione autosomica recessiva, determinate da mutazioni con perdita di funzione (loss-of-function) nel gene LDLR Adaptor Protein 1 (LDLRAP1). Ad oggi sono state riportate numerose varianti per il gene LDLR associate con ipercolesterolemia.

**Scopo dello studio e metodi.** Mediante l'utilizzo del MEDPED score sono stati selezionati soggetti, che riportavano alti livelli di C-LDL e storia familiare o personale per eventi cardiovascolari precoci, per la valutazione della presenza di difetti genetici in uno o più geni candidati attraverso la tecnica del sequenziamento del DNA.

**Risultati.** Sono state identificate due nuove mutazioni a carico di LDLR, in due famiglie, potenzialmente causali per la patologia FH.

Il primo probando è un uomo di 31 anni con elevati livelli di colesterolo totale e C-LDL (364 e 291 mg/dL rispettivamente) e con familiarità sia per ipercolesterolemia che per CAD. L'analisi genetica ha identificato la mutazione c.1207\_1209delTTC (p.Phe403del) nell'esone 9 di LDLR; la stessa variante è stata trovata nei due figli del probando, entrambi ipercolesterolemici. Il secondo probando è un uomo di 55 aa con alterati valori di colesterolo totale e C-LDL (460 e 397 mg/dL rispettivamente) e infarto miocardico (IM) prematuro a 42 anni. L'analisi genetica ha evidenziato la presenza di una mutazione a livello del sito di splicing (c.1061-1G>T) nell'introne 7 di LDLR, una variante con un'elevata predittività di splicing. Il figlio del probando presenta anch'egli elevati livelli di colesterolo totale e C-LDL (321 e 258 mg/dL rispettivamente) ed è portatore della medesima variante genetica.

**Conclusioni.** Questo studio ha permesso di identificare due nuove mutazioni del gene LDLR associate ad ipercolesterolemia familiare (FH), suggerendo così un loro ruolo patogenetico.

## **RUOLO DI LCAT NEL METABOLISMO DELLE LIPOPROTEINE CEREBRALI**

V. Viganò<sup>1</sup>, C. Vitali<sup>1</sup>, A. Ossoli<sup>1</sup>, G. Balzarotti<sup>1</sup>, C. Parolini<sup>1</sup>, A. C. Rossetti<sup>1</sup>, R. Molteni<sup>1</sup>, L. Calabresi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Enrica Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

**Scopo:** Il colesterolo è un componente essenziale del sistema nervoso centrale (SNC). Le cellule gliali sono in grado di sintetizzare particelle nascenti simili alle HDL, che vengono probabilmente rimodellate da enzimi e trasportatori lipidici. La lecitina colesterolo aciltransferasi (LCAT) ha un ruolo cruciale in questo processo dal momento che è l'unico enzima responsabile dell'esterificazione del colesterolo nei fluidi biologici. Nel SNC, LCAT viene sintetizzata da parte degli astrociti ed esterifica il colesterolo nelle lipoproteine di derivazione gliale. L'apolipoproteinaA-I, principale attivatore di LCAT nel plasma, non è prodotta nel SNC, ma viene selettivamente captata dalla circolazione periferica. Come conseguenza, l'apoE di derivazione gliale costituisce il principale attivatore di LCAT nel SNC. Per studiare l'impatto del deficit di LCAT sul metabolismo del colesterolo nel cervello, sono stati valutati i livelli corticali e ippocampali di apolipoproteine, trasportatori del colesterolo e recettori in topi LCAT KO e WT (n=6).

**Metodi:** I livelli genici e proteici di ABCA1, SR-BI, apoE, LDL-R e LRP sono stati valutati attraverso real-time RT-PCR e Western Blot. I livelli di apoA-I sono stati valutati attraverso Western Blot.

**Risultati:** Il deficit di LCAT comporta la diminuzione dei livelli cerebrali di apoA-I (P=0.0156 vs WT). Dal momento che l'apoA-I non viene sintetizzata nel SNC, la riduzione è conseguenza di una significativa diminuzione di apoA-I nel plasma in topi LCAT KO (P=0.013). Al contrario, i livelli ippocampali di mRNA e proteina di apoE sono significativamente aumentati nei topi LCAT KO (P=0.021 e 0.002 rispettivamente). I livelli di proteina e mRNA di LDL-R sono aumentati (P=0.026 e 0.001 rispettivamente), come anche l'mRNA di LRP1 (P=0.015) e i livelli proteici di ABCA1 (P=0.045). Non sono state osservate differenze nei livelli proteici di SR-BI, mentre si osserva un aumento nell'espressione genica.

**Conclusioni:** Questi risultati suggeriscono che l'assenza di LCAT può compromettere la maturazione e il rimodellamento delle lipoproteine cerebrali, inducendo un incremento compensatorio della produzione e dell'uptake di lipoproteine nascenti. Ulteriori studi sono necessari per determinare se le alterazioni osservate siano associate ad alterazioni della funzione cerebrale.

## **INTERVALLI QT E IMT CAROTIDEO IN PAZIENTI DISLIPIDEMICI IN PREVENZIONE PRIMARIA A DIFFERENTI CLASSI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE (ESC/EAS)**

<sup>1</sup>C. Pavanello, <sup>1</sup>G. Mombelli, <sup>1</sup>S. Castelnovo, <sup>1</sup>CR. Sirtori.

<sup>1</sup>Centro Dislipidemie, Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano, Italy

Scopo: studiare le variazioni degli intervalli elettrocardiografici QT, QT corretto (QTc) e dello spessore medio-intimale (IMT) carotideo nelle differenti classi di rischio cardiovascolare (CV) (ESC/EAS)

Metodi: sono stati valutati 405 pazienti italiani (183 uomini e 222 donne). L'IMT carotideo è stato misurato con metodo ultrasonografico B-mode, mentre la frequenza cardiaca (HR) e gli intervalli QT sono stati ottenuti da ECG a 12 derivazioni, registrati a riposo. Sono stati esclusi pazienti in prevenzione secondaria, con blocco di branca destra o sinistra, fibrillazione atriale o che utilizzino farmaci che possano modificare la durata dell'intervallo QT (beta-bloccanti, digossina, antiaritmici). Il livello di rischio è stato calcolato secondo le linee guida ESC/EAS.

Risultati: uomini e donne (u/d) sono stati suddivisi in tre differenti gruppi in relazione ai livelli di rischio CV: basso (n=15/23), moderato (n=104/180), alto-molto alto (64/19). In entrambi i generi l'IMT carotideo medio e massimo erano significativamente più alti nel gruppo a rischio alto-molto alto, rispetto agli altri due gruppi (p<0.01).

Sono state invece individuate differenze tra i due generi per gli intervalli QT e QTcs: mentre negli uomini essi aumentano, risalendo la classe di rischio (p<0.01 nella classe di rischio moderato vs. alto-molto alto), nelle donne l'andamento è inverso (p<0.05 nella classe di rischio moderato vs. alto-molto alto).

Infine, in entrambi i generi è stata trovata una correlazione tra gli intervalli QT e QTcs e IMT carotideo. Mentre negli uomini, sia l'intervallo QT che QTcs correlano con l'IMT della carotide interna (ICA-IMT) sinistra e con l'ICA-IMT medio (p<0.001), nelle donne solo il QT non corretto correla con l'IMT della carotide comune (CC-IMT) destra e sinistra.

Conclusioni: la misura dell'IMT carotideo fornisce informazioni sul rischio cardiovascolare nei due generi. In particolare, negli uomini è stata individuata una eccellente correlazione tra prolungamento dell'intervallo QT, QTcs e un aumento dell'IMT carotideo.

## ACIDI GRASSI OMEGA-3 NELLA PREVENZIONE SECONDARIA DI EVENTI CARDIOVASCOLARI: METANALISI DI TRIAL

Manuela Casula<sup>1</sup>, Davide Soranna<sup>2</sup>, Alberico L. Catapano<sup>1</sup>, Giovanni Corrao<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

<sup>2</sup>Dipartimento di Statistica, Università degli Studi Milano-Bicocca, Milano

**BACKGROUND** Sebbene siano ben noti gli effetti benefici degli acidi grassi omega-3 sul profilo di rischio cardiovascolare (CV), le evidenze ottenute finora dai trial randomizzati e controllati (RCT) sono discordanti. E' stata condotta una metanalisi degli RCT disponibili per indagare l'effetto di prevenzione cardiovascolare della somministrazione di almeno 1 g/die di omega-3 come supplemento per almeno 1 anno in pazienti con malattia CV pregressa.

**METODI** Sono stati ricercati RCT pubblicati fino a marzo 2013 in PubMed, EMBASE e Cochrane Library. Due autori hanno rivisto e selezionato gli studi ammissibili in modo indipendente.

**RISULTATI** Di 360 articoli identificati, sono stati considerati nell'analisi 11 trial randomizzati e controllati con placebo che soddisfacevano i criteri di inclusione, coinvolgendo complessivamente 15.348 pazienti con storia di malattia cardiovascolare. Non è stata osservata nessuna associazione statisticamente significativa tra l'assunzione di omega-3 e la mortalità per tutte le cause (*risk ratio* [RR] 0,89; IC 95% 0,78-1,02) o l'ictus (RR 1,31; 0,90-1,90). Al contrario, sono stati osservati effetti protettivi statisticamente significativi per la morte per cause cardiache (RR 0,68; 0,56-0,83), la morte cardiaca improvvisa (RR 0,67, IC 95%, 0,52-0,87) e l'infarto miocardico (RR 0,75; 0,63-0,88).

**CONCLUSIONE** Nel complesso, i risultati supportano l'ipotesi di un effetto a lungo termine degli omega-3 ad alti dosaggi in termini di prevenzione di morte cardiaca, morte improvvisa e infarto miocardico tra i pazienti con una storia di malattia cardiovascolare.



## **IL PROFILO DI ESPRESSIONE DEL GENOMA DELL'AORTA DI TOPI APOEKO EVIDENZIA IL RUOLO SVOLTO DAL SISTEMA DEL COMPLEMENTO E DALLA VIA DI SEGNALE WNT DURANTE LE FASI INIZIALI DELL'ATEROSCLEROSI**

M. Busnelli<sup>1</sup>, S. Manzini<sup>1</sup>, M. Chiara<sup>2</sup>, C. Parolini<sup>1</sup>, G. S. Ganzetti<sup>1</sup>, C.R. Sirtori<sup>1</sup>, D.S. Horner<sup>2</sup>, G. Chiesa<sup>1</sup>

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari e 2 Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

Per lo studio di una malattia multifattoriale come l'aterosclerosi, un approccio basato su analisi high-throughput, quale la trascrittomiche, potrebbe contribuire alla comprensione della complessa interazione tra migliaia di geni/proteine in vari tipi di cellule tra cui leucociti, cellule endoteliali e cellule muscolari lisce vascolari.

Il nostro studio è stato condotto per identificare nuovi geni/pathway coinvolti nella fase iniziale dello sviluppo di aterosclerosi, attraverso analisi trascrittomiche dell'aorta in modelli murini proni e resistenti all'aterosclerosi.

Sono stati reclutati e mantenuti a dieta Western per 5 settimane, topi apoEKO e C57Bl/6 di sei settimane di età. Al sacrificio sono state prelevate le aorte per la quantificazione dello sviluppo di aterosclerosi tramite analisi en-face o per l'estrazione di RNA PolyA+ da sottoporre al sequenziamento, attraverso l'uso della piattaforma Illumina HiSeq200.

Nelle aorte dei topi apoEKO, come atteso, è stata osservata la formazione di placche aterosclerotiche (arco:  $7.7 \pm 2.3\%$ ; toracica:  $0.9 \pm 0.6\%$ ; addominale:  $1.0 \pm 0.7\%$ ). Al contrario nessuna lesione è stata riscontrata nelle aorte dei topi C57Bl/6.

Sono stati analizzati più di 23.000 trascritti. I risultati hanno mostrato 256 geni differenzialmente espressi, di cui 19 down-regolati e 237 up-regolati, nei topi apoEKO rispetto ai C57Bl/6. Tra quelli up-regolati, 92 geni sono risultati per lo più correlati alla risposta immunitaria mediata dal complemento, 36 alla composizione della matrice extracellulare, 12 al metabolismo lipidico/lipoproteico, 10 all'attività piastrinica e 5 all'attivazione endoteliale. Inoltre, si è osservato che 6 geni associati alla via di segnale Wnt sono risultati up-regolati nelle aorte dei topi apoEKO.

Lo studio conferma il ruolo svolto da attivazione endoteliale, incremento della deposizione della matrice extracellulare, aggregazione piastrinica e risposta immune innata e adattativa nella fase precoce dell'aterosclerosi.

I nostri risultati evidenziano il coinvolgimento del sistema del complemento e indicano come alcune sue componenti siano prodotte da elementi cellulari presenti nel vaso arterioso. Inoltre, i nostri dati suggeriscono che la via di segnale Wnt, che è coinvolta nella disfunzione endoteliale, infiammazione, formazione di cellule schiumose, calcificazione, angiogenesi e stress ossidativo, gioca un ruolo fondamentale nella fase precoce dell'aterosclerosi.

## IL TRASCRITTOMA DELL'AORTA DEI TOPI APO-EKO MOSTRA GENI DIFFERENZIALMENTE ESPRESI NELL'ATEROSCLEROSI AVANZATA

S. Manzini<sup>1</sup>, M. Busnelli<sup>1</sup>, M. Chiara<sup>2</sup>, C. Parolini<sup>1</sup>, G. S. Ganzetti<sup>1</sup>, F. Dellerà<sup>1</sup>, C.R. Sirtori<sup>1</sup>, D.S. Horner<sup>2</sup>, G. Chiesa<sup>1</sup>.

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari e 2 Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

Scopo: Le tecniche di microarray sono state applicate per caratterizzare i cambiamenti nei profili di trascrizione di vari tessuti durante lo sviluppo della placca aterosclerotica. Il sequenziamento dell'intero trascrittoma fornisce una valida alternativa nell'analisi dell'espressione genica in larga scala.

Qui riportiamo, per la prima volta, i pattern di geni differenzialmente espressi nell'aorta di topi controllo e topi apoEKO, generati dal sequenziamento dell'intero trascrittoma.

Metodi: Topi controllo e topi apoEKO di 6 settimane di età sono stati alimentati con una dieta *chow* o Western per 22 settimane. Al sacrificio l'aorta è stata accuratamente prelevata e il polyA+ RNA è stato isolato e sottoposto a sequenziamento tramite l'uso della piattaforma Illumina HiSeq2000. Risultati: Specifici strumenti bioinformatici hanno permesso di identificare numerosi geni differenzialmente espressi, per lo più appartenenti al KEGG pathway, nei topi controllo dopo 22 settimane di dieta rispetto ai topi apoEKO. L'analisi del trascrittoma ha permesso di studiare in dettaglio il coinvolgimento delle molecole di adesione (CAMs), il *signalling* delle chemochine e dei recettori delle cellule B e T, nonché dei geni correlati con la migrazione trans-endoteliale. È stato inoltre possibile analizzare l'andamento dei geni dei pathways che coinvolgono i recettori Toll-like, i recettori NOD-like e le vie di trasduzione del segnale di Jak-STAT, del calcio e del fosfatidilinositolo.

Infine, sono stati valutati cambiamenti nell'espressione dei geni coinvolti nell'interazione matrice-recettore, nella regolazione della struttura citoscheletrica e nella contrazione della muscolatura liscia.

Conclusioni: I dati generati durante questo studio mediante il sequenziamento dell'intero trascrittoma dell'aorta sono in linea con precedenti evidenze di espressione differenziale di geni in topi apoEKO rispetto a topi controllo. Inoltre, il nostro studio ha identificato nuovi geni e pathway modulati nell'aterosclerosi.

Analisi bioinformatiche ci hanno permesso di massimizzare l'utilità dei dati nella predizione di potenziali bersagli terapeutici. Analisi comparative della sequenza dei promotori, integrate con i dati disponibili di ChIP-Seq permetteranno di individuare nuovi circuiti regolatori trascrizionali maggiormente coinvolti nello sviluppo della placca aterosclerotica.