

Libro degli abstract



Sezione Regionale Lombardia

Convegno Regionale SISA Lombardia
XVI GIORNATA STUDIO

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

Milano, 19-20-21 ottobre 2017 STARHOTELS ROSA GRAND Piazza Fontana, 3

In collaborazione con

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



**fondazione
cariplo**





XVI GIORNATA STUDIO SISA LOMBARDIA (EVENTO ECM 200-205975)

Giovedì 19 Ottobre 2017

- 09.00 - 09.30 APERTURA CONVEGNO**
Indirizzo di benvenuto - A.L. Catapano
Il ruolo dell'Università nella ricerca scientifica
Angelo Casertano - Direttore Servizi per la Ricerca Università degli Studi di Milano
Presentazione attività Fondazione Cariplo
Carlo Mango - Direttore Area Scientifica e Tecnologica, Fondazione Cariplo
- PROGETTI FINANZIATI DA FONDAZIONE CARIPLO 2014-2015-2016
(Sessione NO ECM)**
Moderatori: S. Bellosta, M. Ruscica
- 09.30 - 12.15 Presentazioni orali Progetti Finanziati**
- 12.15 - 12.30 LA RICERCA SCIENTIFICA IN LOMBARDIA**
Ricerca e innovazione in Lombardia
Luca Del Gobbo - Assessore all'Università, Ricerca ed Open innovation,
Regione Lombardia
- Pausa pranzo*
- IL SOGGETTO AD ALTO RISCHIO CARDIOVASCOLARE (ECM N 200-205975)**
Moderatore: A.L. Catapano
- 14.00 - 14.45 Riduzione delle LDL nella prevenzione cardiovascolare: rischi e benefici**
A. Corsini
- 14.45 - 15.30 Inibitori CETP e HDL: dati recenti. Lo Studio REVEAL - L. Calabresi**
- ASPETTI EMERGENTI IN AMBITO CARDIOMETABOLICO (Sessione NO ECM)**
Moderatori: A. Branchi, G.D. Norata
- 15.30 - 16.45 Presentazioni orali Giovani Ricercatori**
(Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi)
Coffee break
- 17.15 - 18.30 Presentazioni orali Giovani Ricercatori**
(Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi)
- 18.30 - 18.45 ASSEMBLEA SOCI SISA Lombardia**

CONSIGLIO DIRETTIVO SISA - SEZIONE LOMBARDA

PRESIDENTE
Alberico L. Catapano

VICE PRESIDENTE
Domenico Sommariva

CONSIGLIERI
Adriana Branchi
Marina Camera
Alberico L. Catapano
Maurizio Coronelli
Alberto Corsini
Giancarla Meregalli

Nico Mitro
G. Danilo Norata
Domenico Sommariva

RELATORI MODERATORI

Lorenzo Arnaboldi
Andrea Baragetti
Stefano Bellosta
Silvia Bonfadini
Adriana Branchi
Ovidio Brignoli
Laura Calabresi
Marina Camera
Angelo Casertano
Manuela Casula
Alberico L. Catapano

Alessandra Ciucci
Giovanni Corrao
Alberto Corsini
Luca Del Gobbo
Valentina De Mori
Corrado L. Galli
Monica Gomaraschi
Angelo Lombardo
Paolo Magni
Giuseppe Mancina
Carlo Mango
Giancarla Meregalli
Nico Mitro
G. Danilo Norata
Andrea Poli
Massimiliano Ruscica
Marco Visconti



XI CONGRESSO NAZIONALE SITECS (Evento ECM 200-203421)

Venerdì 20 e Sabato 21 Ottobre 2017

VENERDÌ, 20 OTTOBRE 2017

- 08.45 - 09.00** APERTURA CONVEGNO E INDIRIZZO DI BENVENUTO - A.L. Catapano
PROGETTI FINANZIATI DA FONDAZIONE CARIPLI 2014-2015-2016
(Sessione NO ECM)
Moderatori: L. Arnaboldi, N. Mitro
- 09.00 - 11.45** Presentazioni orali Progetti Finanziati
PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE: ALIMENTAZIONE E FARMACI
(Sessione ECM)
Moderatore: A.L. Catapano
- 11.45 - 12.15** Controversie nel campo della nutrizione: acidi grassi saturi vs insaturi - A. Poli
12.15 - 12.45 Terapia di associazione: quando e come - G. Mancia
Pausa pranzo
- 13.30 - 14.00** DISLIPIDEMIE GENETICHE: NUOVI APPROCCI ALLA DIAGNOSI E TERAPIA
(Sessione ECM)
Moderatore: A.L. Catapano
- 14.00 - 14.30** Le nuove frontiere della terapia genica - A. Lombardo
Colesterolo, infiammazione ed eventi cardiovascolari: quale target?
A.L. Catapano
- 14.30 - 15.00** Ipercolesterolemia familiare: lo Studio LIPIGEN - M. Casula
15.00 - 15.30 Diagnosi e trattamento del deficit di lipasi acida lisosomiale - M. Gomasaschi
15.30 - 16.00 Lipoproteina(a): un target nella malattia cardiovascolare? - G.D. Norata
Coffee break
- 16.30 - 18.00** ASPETTI EMERGENTI IN AMBITO CARDIOMETABOLICO (Sessione NO ECM)
Moderatori: M. Camera, M. Gomasaschi
Presentazioni orali Giovani Ricercatori

SABATO, 21 OTTOBRE 2017

- 09.00 - 09.30** SIMPOSIO CONGIUNTO AMD, SID, SISA LOMBARDIA, SITECS (Sessione ECM)
Moderatori: A. Branchi, A. Ciucci, G. Meregalli
- 09.30 - 10.00** Medicina di genere: le dislipidemie nella donna - P. Magni
Impatto dell'intervento educativo e nutrizionale per la programmazione di gravidanza nelle donne diabetiche - S. Bonfadini
- 10.00 - 10.30** Intervento educativo e nutrizionale per la prevenzione del diabete e dei fattori di rischio cardiovascolare in donne con diabete gestazionale - V. De Mori
HOT TOPICS (Sessione ECM)
Moderatori: O. Brignoli, A.L. Catapano
- 10.30 - 11.00** I database amministrativi nella valutazione del valore del farmaco - G. Corrao
11.00 - 11.30 Il ruolo della medicina di base: dalle linee guida alla pratica clinica - M. Visconti
Coffee break
- 12.00 - 12.15** DIMOSTRAZIONE PRATICA - LIVE DEMO (Sessione NO ECM)
Il valore predittivo dell'Intima-Media Thickness carotideo nell'area cardiovascolare - A. Baragetti
- 12.15 - 12.45** Dimostrazione tecnico pratica di misura con ecografi dell'IMT
Lo spessore medio-intimale come marker di rischio cardiovascolare: come si misura?
SIMPOSIO CONGIUNTO SISA LOMBARDIA - SITECS (Sessione NO ECM)
Presiedono: A.L. Catapano, C.L. Galli
- 12.45 - 13.00** Presentazione Premio "G. Galli" 2017
13.15 - 13.30 Premiazione dei 4 migliori lavori presentati da giovani ricercatori
13.30 CHIUSURA CONGRESSO E PRANZO

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

In collaborazione con



fondazione
cariplo

Giovedì, 19 Ottobre 2017

09.30-12.15

PRESENTAZIONE PROGETTI FINANZIATI DA FONDAZIONE CARIPLO **Sessione congiunta SISA Lombardia-Fondazione Cariplo (Area** **Cardiovascolare)**

Moderatori: Stefano Bellosta, Massimiliano Ruscica

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 Giorgia Serena Gullotta
- 2 Martina Maritan
- 3 Angela Raucci
- 4 Daniela Montariello
- 5 Matteo Trudu
- 6 Patrizia Benzoni
- 7 Simona Martinotti
- 8 Roberto Papait
- 9 Lavinia Casati
- 10 Guido Merlotti
- 11 Stefano Fumagalli

15.30-18.30

ASPETTI EMERGENTI IN AMBITO CARDIOMETABOLICO **Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi**

Moderatori: Adriana Branchi, G. Danilo Norata

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 Chiara Macchi
- 2 Dalma Cricri
- 3 Rui Silva
- 4 Eleonora Giorgio
- 5 Annalisa Moregola
- 6 Alice Ossoli
- 7 Ilaria Stadiotti
- 8 Manuela Casula
- 9 Elena Olmastroni
- 10 Carolina Peri

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

In collaborazione con



fondazione
cariplo

Venerdì, 20 Ottobre 2017

09.00-11.45

PRESENTAZIONE PROGETTI FINANZIATI DA FONDAZIONE CARIPLO **Sessione congiunta SISA Lombardia-Fondazione Cariplo (Area** **Cardiovascolare)**

Moderatori: Lorenzo Arnaboldi, Nico Mitro

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 Marinos Kallikourdis
- 2 Raffaella Parente
- 3 Lorenzo Da Dalt
- 4 Massimiliano Ruscica
- 5 Raffaella Longo
- 6 Fabrizia Bonacina
- 7 Valentina Petrocelli
- 8 Rosa Vono
- 9 Anna Ferrario
- 10 Silvia Pedretti
- 11 Matteo Jacopo Marzi

16.30-18.00

ASPETTI EMERGENTI IN AMBITO CARDIOMETABOLICO **Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi**

Moderatori: Marina Camera, Monica Gomaraschi

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 Veronica Zampoleri
- 2 Lorenzo Arnaboldi
- 3 Alba Plastina
- 4 Chiara Zara
- 5 Matteo Audano
- 6 Federica Galimberti

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

SISA - Società Italiana per lo Studio dell'Arteriosclerosi

Sezione Regionale Lombardia

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

e-mail: segreteria@sisalombardia.it - www.sisalombardia.it

ECM - FORMAZIONE

Provider Standard Nazionale

SITeCS - Società Italiana di Terapia Clinica e Sperimentale

Via Balzaretti, 7 - 20133 Milano - Tel. +39 02 49636373 Fax +39 02 49633384

e-mail: ecm@sitecs.it - www.sitecs.it - P.I. 05117790963 - C.F. 97377460155

Giovedì 19 Ottobre

Evento RES N. 200-205975 Ed 1 crediti: 3 - Piano formativo 2017

Accreditato per 100 partecipanti per le seguenti figure: Biologo, Dietista, Medico Chirurgo tutte le discipline, Farmacista tutte le discipline, Tecnico Sanitario di Laboratorio Biomedico.

Venerdì 20 e Sabato 21 Ottobre

Evento RES N. 200-203421 Ed 1 crediti: 6 - Piano formativo 2017

Accreditato per 100 partecipanti per le seguenti figure: Biologo, Dietista, Medico Chirurgo tutte le discipline, Farmacista tutte le discipline, Tecnico Sanitario di Laboratorio Biomedico.

L'assegnazione dei crediti formativi sarà subordinata alla partecipazione effettiva all'intero programma formativo, alla verifica di apprendimento e al rilevamento delle presenze.

L'attestato di partecipazione riportante il numero di crediti formativi verrà inviato per posta elettronica al partecipante dopo aver effettuato tali verifiche.

Con il patrocinio delle Società Scientifiche:



SISF Società Italiana
di Scienze Farmaceutiche

AMD

Associazione Medici Diabetologi

SID

Società Italiana di Diabetologia



Società Italiana
per lo studio
dei Nutraceutici e degli
Integratori Alimentari

1) LE ALTERAZIONI DEL SISTEMA IMMUNITARIO LEGATE ALL'INVECCHIAMENTO PEGGIORANO L'ESITO DELL'ICTUS ISCHEMICO NELL'ANZIANO

Giorgia Serena Gullotta¹, Donatella De Feo¹, Tiziana Vigo, Norma Maugeri², Paola Ronchi³, Nicole Kerlero De Rosbo, Mattia Gallizioli¹, Giancarlo Comi¹, Antonio Uccelli, Gianvito Martino¹ and Marco Bacigaluppi¹

1 Neuroimmunology Unit, Division Of Neuroscience- Inspe- Institute Of Experimental Neurology, 2Division Of Regenerative Medicine, Stem Cells, And Gene Therapy, Immunohematology And Transfusion Medicine Unit, 3 Transplantation And Infectious Diseases, Autoimmunity & Vascular Inflammation Unit, Division Of Immunology, at Università Vita- Salute and San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, Via Olgettina 58 Milano

pag. 1

2) CATENE LEGGERE IMMUNOGLOBULINICHE ED AMILOIDOSI CARDIACA: IDENTIFICAZIONE DI CARATTERISTICHE STRUTTURALI E BIOFISICHE LEGATE ALL'AMILOIDOGENICITÀ

Martina Maritan¹, Luca Oberti¹, Paola Rognoni², Stefano Ricagno¹ e Francesca Lavatelli²

1. Università degli Studi di Milano; 2. Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo e Università di Pavia

pag. 2

3) High Mobility Group Box 1 (HMGB1): UNA NUOVA PROTEINA PROTAGONISTA DELLA CALCIFICAZIONE VASCOLARE?

Luigi Mancinelli^{1,2}, Ileana Badi², Filippo Zeni², Filippo Taccia², Claudio Saccu³, Rita Spirito³, Marco E. Bianchi⁴ e Angela Raucchi^{1,2}

1 Fondazione IEO-CCM, Milano, Italia. - 2 Unità di Cardio-Oncologia Sperimentale e Invecchiamento Cardiovascolare, CCM, Milano, Italia. - 3 Unità di Chirurgia vascolare e Endovascolare, CCM, Milano, Italia. - 4 Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia.

pag. 3

4) STUDIO DEI MECCANISMI MOLECOLARI CHE DETERMINANO LA DISFUNZIONE DELLA CELLULA STAMINALE EMATOPOIETICA NELL'ANZIANO

Daniela Montariello¹, Giulia De Michele¹, Marco Giorgio¹, Enrico Derenzini¹, Enrica Migliaccio¹, Vittorio Enrico Avvedimento², Pier Giuseppe Pelicci^{1,3} e Corrado Tarella^{1,4}

1Fondazione Istituto Europeo di Oncologia e Centro Cardiologico Monzino (FIEO-CCM), Via Ripamonti 435, 20141, Milano.

2Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli "Federico II".

3Dipartimento di Oncologia ed Emato-Oncologia, Università di Milano.

4Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Milano.

pag. 4

5) INTERAZIONE TRA ASSUNZIONE DI SODIO, IPERTENSIONE E RISCHIO CARDIOVASCOLARE. DISSEZIONE MOLECOLARE E FUNZIONALE DI UN NUOVO MECCANISMO CAUSALE

Matteo Trudu¹, Céline Schaeffer¹, Matteo Barcella², Elena Pasqualetto¹, Chiara Lanzani³, Daniele Braga², Masami Ikehata⁴, Laura Zagato³, Maria Pia Rastaldi⁴, Daniele Cusi², Cristina Barlassina², Paolo Manunta³, Luca Rampoldi¹

1) Divisione di Genetica e Biologia Cellulare, Istituto scientifico San Raffaele, Milano; 2) Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Milano, Milano;

3) Divisione di Nefrologia e Dialisi, Istituto scientifico San Raffaele, Milano;

4) Fondazione D'Amico per la Ricerca sulle Malattie Renali, Milano.

pag. 5

6) IPS-DERIVED HUMAN CARDIOMYOCYTES: A POWERFUL TOOL TO INVESTIGATE THE CELLULAR MECHANISMS OF GENETICALLY DETERMINED LONE ATRIAL FIBRILLATION (CLARIFY)

Patrizia Benzoni, Giulia Campostrini, Andrea Barbuti, Patrizia Dell'Era
Università degli Studi di Milano, Dip. Di Bioscienze

pag. 6

7) METABOLIC PATTERN E eIF6 DEPLETION: ESISTE UN'INTERCONNESSIONE? UNO STUDIO MULTIDISCIPLINARE.

Simona Martinotti¹, Marcello Manfredi², Eleonora Conte², Alessandra Scagliola³, Piera Calamita³, Annarita Miluzio³, Elisa Robotti¹, Emilio Marengo¹, Stefano Biffo^{3,4}, Elia Ranzato⁵

¹University of Piemonte Orientale, DISIT - Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, viale Teresa Michel, 11 - 15121 Alessandria, Italy ²Isalit srl, via Bovio 6, 28100, Novara – Politecnico di Torino, viale T. Michel 5, 15121, Alessandria, Italy.

³Istituto Nazionale Genetica Molecolare "Romeo ed Enrica Invernizzi", Via Sforza 28, 20122, Milano, Italy. ⁴University of Milan, Department of Biosciences, Via Celoria, 26, 20133, Milano, Italy.

⁵University of Piemonte Orientale, DISIT - Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, Piazza S. Eusebio, 5 - 13100 Vercelli, Italy

pag. 7

8) EPIGENETICA E METABOLISMO CARDIACO: IMPLICAZIONI NELLO SCOMPENSO CARDIACO DELL'ANZIANO

Roberto Papait, Simone Serio, Christina Pagiatakis, Gianluigi Condorelli
Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica (IRGB)-CNR; Humanitas IRCCS-Dipartimento Cardiovascolare.

pag. 8

9) MECCANISMI EPIGENETICI NELLA PATOGENESI E FISIOPATOLOGIA DELL'OSTEOPOROSI: NUOVE INTUZIONI DAGLI STUDI IN VITRO ED IN VIVO

Lavinia Casati¹, Francesca Pagani¹, Fabio Celotti², Valeria Sibilìa¹

¹Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale - ²Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari

pag. 9

10) INFLAMM-AGING E RISCHIO CARDIOVASCOLARE NELLO STADIO TERMINALE DELLA MALATTIA RENALE CRONICA: RUOLO PATOGENETICO DELLE VESCICOLE EXTRACELLULARI E IDENTIFICAZIONE DI NUOVI TARGET TERAPEUTICI

Guido Merlotti¹, Marco Quaglia¹, Mara Giordano², Marita Marengo³, Vincenzo Cantaluppi¹

¹SCDU Nefrologia e trapianto renale, AOU Maggiore della Carità, Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Novara - ²Laboratorio di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze Mediche e IRCAD, Università del Piemonte Orientale, Novara - ³SC Nefrologia e Dialisi, ASL CN1 Cuneo

pag. 10

11) LA TROMBO-INTIAMMAZIONE NELL'ISCHEMIA CEREBRALE: FOCUS SU MANNOSE-BINDING LECTIN E B2 GLICOPROTEINA I

Stefano Fumagalli^a, Carolina Artusi^b, Marco Oggioni^a, Carlo Perego^a, Maria O. Borghi^c, Claudia Grossi^c, Francesco Tedesco^c, Pier Luigi Meroni^{b,c} and Maria-Grazia De Simoni^a

^aIRCCS Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri - ^bUniversità di Milano - ^cIRCCS Istituto Auxologico Italiano

pag. 11

ASPETTI EMERGENTI IN AMBITO CARDIOMETABOLICO
Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi – Sessione I

1) TESSUTO ADIPOSO E PCSK9: POSSIBILE RUOLO DI LEPTINA E RESISTINA

Chiara Macchi¹, Margherita Botta¹, Silvia Marchianò¹, Daria Dall'Orto¹, Paola Dongiovanni², Silvia Fargion², Luca Valenti², Paolo Magni¹, Alberto Corsini^{1,3}, Nicola Ferri⁴, Massimiliano Ruscica¹

1Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy; 2Dipartimento di Fisiopatologia Medico Chirurgica e dei Trapianti, Università degli Studi di Milano, UO Medicina Interna 1B, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italy; 3Multimedica IRCCS, Milano, Italy; 4Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova, Padova, Italy

pag. 12

2) IL SILENZIAMENTO DELLE ISTONE DEACETILASI 3 AMPLIFICA IL PROGRAMMA DI DIFFERENZIAMENTO ADIPOCITARIO

D. Cricri, R. Longo, A. Ferrari, N. Mitro, D. Caruso, E. De Fabiani, M. Crestani

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari - Laboratorio "G.Galli" di Biochimica e Biologia Molecolare del Metabolismo- Spettrometria di Massa. Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti 9, 20133, Milano.

pag. 13

3) HIGH FAT DIET SUPPRESSES THE EFFECT OF Hdac3 ABLATION IN HDAC3 KO MICE

R. Silva¹, A. Ferrari¹, R. Longo¹, E. Fiorino¹, N. Mitro¹, G. Cermenati¹, D. Caruso¹, E. De Fabiani¹, S. Hiebert², M. Crestani¹

1 DiSFeB, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, 20133, Italy; 2 Department of Biochemistry, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN 37232, USA.

pag. 14

4) LE LIPOPROTEINE AD ALTA DENSITÀ INIBISCONO LO STRESS OSSIDATIVO INDOTTO DALLA PROLIFERAZIONE CELLULARE NEL TUMORE PROSTATICO

Eleonora Giorgio¹, Massimiliano Ruscica², Margherita Botta², Nicola Ferri³, Chiara Macchi², Guido Franceschini⁴, Paolo Magni², Laura Calabresi¹, Monica Gomaschi¹

1Centro Enrica Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy; 2Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy; 3Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova, Padova, Italy; 4Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

pag. 15

5) IMPATTO DEL RECETTORE DELLE LDL NELLA DIFFERENZIAZIONE E FUNZIONALITÀ DEI LINFOCITI T

Annalisa Moregola¹, Fabrizia Bonacina¹, David Coe², Nico Mitro¹, Alberico L. Catapano^{1,3}, Federica Marelli-Berg², Giuseppe D. Norata^{1,2}

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche Sperimentali e Cliniche, Università degli Studi di Milano (Milano), 2William Harvey Research Institute, Barts and The London School of Medicine & Dentistry, Queen Mary University (Londra, UK), 3IRCCS Multimedica, (Milano)

pag. 16

ASPETTI EMERGENTI IN AMBITO CARDIOMETABOLICO
Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi – Sessione I

6) PROPRIETÀ VASOPROTETTIVE DELLE HDL DI SOGGETTI CON DEFICIT GENETICO DI LCAT

Ossoli Alice¹, Gomaraschi Monica¹, Samuela Castelnuovo², Sara Simonelli¹, Chiara Pavanello¹, Gloria Balzarotti¹, Marcello Arca³, Alessia Di Costanzo³, Tiziana Sampietro⁴, Gaetano Vaudo⁵, Damiano Baldassarre⁶, Fabrizio Veglia⁶, Guido Franceschini¹, Laura Calabresi¹.

1. Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari Università degli Studi di Milano. - 2. Centro Dislipidemie, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano. - 3. Dipartimento di Medicina Interna e Specialità mediche, Università degli Studi di ROMA "La Sapienza" - 4 Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, Pisa. - 5 Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Perugia. - 6. Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Milano

pag. 17

7) CONTRIBUTO DELLE LDL OSSIDATE SUL FENOTIPO DELLA CARDIOMIOPATIA ARITMOGENA

Illaria Stadiotti¹, Lorenzo Arnaboldi², Simona De Metrio², Agnese Granata², Alessandro Scopece¹, Giuseppina Milano¹, Alberto Corsini², Claudio Tondo², Giulio Pompilio², Elena Sommariva¹

1 Unità di Biologia Vascolare e Medicina Rigenerativa, Centro Cardiologico Monzino IRCCS. 2 DISFeB, Università degli Studi di Milano.

pag. 18

8) CARATTERIZZAZIONE DEI PAZIENTI PEDIATRICI CON IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE NELLO STUDIO LIPIGEN

M. Casula¹, A. Plastina¹, F. Galimberti¹, M. Arca², M. Averna³, S. Bertolini⁴, S. Calandra⁵, A.L. Catapano^{1,6}, P. Tarugi⁷, on behalf of the LIPIGEN Group

1 Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DiSFeB) Università degli Studi di Milano - 2 Università di Roma "La Sapienza". Azienda Policlinico Umberto I - 3 Università degli Studi di Palermo A.O.U. Policlinico "P. Giaccone", Palermo - 4 Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova - 5 Dipartimento di Scienze Biomediche Metaboliche e Neuroscienze. Università di Modena e Reggio Emilia - 6 IRCCS MultiMedica, via Milanese 300, 20099 Sesto S. Giovanni (MI) - 7 Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

pag. 19

9) MODELLI MULTILIVELLO PER LA STIMA DI CURVE IMT STANDARD CHE DEFINISCANO IL RISCHIO CARDIOVASCOLARE INDIVIDUALE

E. Olmastroni¹, A. Baragetti², E. Tragni¹, M. Casula¹, A.L. Catapano^{1,3}, per conto del gruppo PLIC

1 Centro di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università di Milano, via Balzaretti 9, 20133 Milano

2 Società Italiana per lo studio della Arteriosclerosi (SISA), Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo (MI)

3 IRCCS MultiMedica, via Milanese 300, 20099 Sesto S. Giovanni (MI)

pag. 20

10) STUDIO DELLE BASI EPIGENETICHE DELLE MALATTIE METABOLICHE LEGATE ALL'INVECCHIAMENTO IN MODELLI MURINI CON FEGATO UMANIZZATO

C. Peri, Monica Zocchi, N. Mitro, D. Caruso, E. De Fabiani, M. Crestani.

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

pag. 21

1) IL RUOLO DELLE RISPOSTE IMMUNITARIE ADATTATIVE NELLA CARDIOMIOPATIA DILATATIVA: MECCANISMO PATOGENETICO E POTENZIALE TERAPEUTICO

Marinos Kallikourdis¹, Daniele Catalucci²

1 Fondazione Humanitas per la Ricerca, Rozzano 20089, Italy

2 Consiglio Nazionale delle Ricerche, Rozzano, Italy

pag. 22

2) INTERAZIONE TRA LA LUNGA PENTRAXINA PTX3 E IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA AD ASPERGILLUS FUMIGATUS

Parente Raffaella¹, Petroni Francesca¹, Stravalaci Matteo², Porte Remi², Sironi Marina¹, Valentino Sonia¹, Leone Roberto¹, Bottazzi Barbara¹, Mantovani Alberto^{1,2}, Inforzato Antonio¹

1Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano, Italy; - 2Humanitas University, Rozzano, Italy; - 3Department of Medical Biotechnologies and Traslational Medicine, University of Milan, Rozzano, Italy.

pag. 23

3) PROPTEIN CONVERTASE SUBTILISIN/KEXIN TYPE 9 (PCSK9) NEL METABOLISMO CARDIACO

L. Da Dalt¹, G. Balzarotti¹, M. Audano¹, N. Mitro¹, A.L. Catapano^{1,2}, G.D. Norata^{1,2}

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università di Milano, Milano, Italia;

2 Centro SISA, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia; Milano

pag. 24

4) AGED-RELATED OBESITY AND CHRONIC INFLAMMATION: UNDERSTANDING THE RELEVANCE AND PATHOPHYSIOLOGY OF LACTATE

M. Ruscica¹, A. Baragetti^{1,2}, F. Bonacina¹, C. Macchi¹, M. Botta¹, P. Magni¹, V. Pucino³, M. Bombardieri³, C. Pitzalis³, K. Garlaschelli², A.L. Catapano^{1,4}, C. Mauro³, G.D. Norata^{1,2}

¹Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy; ²SISA Center for the Study of Atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello Balsamo, Italy; ³Barts and The London School of Medicine and Dentistry, William Harvey Research Institute, Queen Mary University of London, London, United Kingdom; ⁴IRCCS Multimedica Hospital, Sesto San Giovanni, Milan, Italy

pag. 25

5) L'ISTONE DEACETILASI 3 È UN FRENO MOLECOLARE DEL METABOLISMO CHE SOSTIENE LA TERMOGENESI NEL TESSUTO ADIPOSO BIANCO

Raffaella Longo¹, Alessandra Ferrari^{1,5}, Erika Fiorino¹, Rui Silva¹, Nico Mitro¹, Gaia Cermenati¹, Federica Gilardi³, Béatrice Desvergne³, Annapaola Andolfo⁴, Cinzia Magagnotti⁴, Donatella Caruso¹, Emma De Fabiani¹, Scott W. Hiebert² e Maurizio Crestani¹

1Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti, 9 20133, Milano. - 2 Department of Biochemistry, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN 37232, USA - 3Centre Intégratif de Génomique, Université de Lausanne, Lausanne 1015, Switzerland. - 4 ProMiFa, Protein Microsequencing Facility, San Raffaele Scientific Institute, Milano 20132, Italy. - 5Present address: Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of California Los Angeles, Los Angeles, CA 90095, USA

pag. 26

6) RUOLO IMMUNOMETABOLICO DELL'APOLIPOPROTEINA E: FOCUS SUL METABOLISMO DEL COLESTEROLO NELLE CELLULE IMMUNITARIE

F. Bonacina¹, D. Coe², G. Wang², A. Baragetti^{1,3}, K. Garlaschelli², F. Pellegatta², L. Grigore², F. Marelli-Berg², G.D. Norata^{1,2,3}, A.L. Catapano^{1,4}

1 Dipartimento di scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli studi di Milano, Milano;

2 William Harvey Research Institute, Queen Mary University, London, UK;

3 Centro SISA, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italy;

4 IRCSS Multimedica, Milano, Italia

pag. 27

7) MECCANISMI EPIGENETICI COINVOLTI NELLA REGOLAZIONE DEL SISTEMA IMMUNITARIO DURANTE L'INVECCHIAMENTO

Valentina Petrocelli¹, Federica Greco¹, Federica La Mastra¹, Federica Alberghini¹, Mitsuo Maruyama², Stefano Casola¹

1 IFOM-Istituto FIRC di Oncologia Molecolare, Milano, Italia - 2 Dipartimento dei meccanismi di Invecchiamento, Istituto NCGG 7-430, Morioka-cho, Obu, Aichi, Giappone

pag. 28

8) IL MIDOLLO OSSEO COME ORGANO CHIAVE NELLA SINDROME DELL'ANZIANO FRAGILE

Gaia Spinetti¹, Rosa Vono², Elena Sangalli¹, Claudia Specchia^{1,3}, Franco Carnelli¹, Paolo Madeddu²

1 Gruppo MultiMedica; 2 Fondazione MultiMedica Onlus; 3 Università di Brescia

pag. 29

9) BPIFB4 E LE SUE ISOFORME: POSSIBILE FATTORE DI RISCHIO GENETICO E NUOVO APPROCCIO TERAPEUTICO PER IL TRATTAMENTO DELLA SINDROME DI FRAGILITA'

Chiara Carmela Spinelli¹, Anna Ferrario¹, Francesco Villa¹, Anna Maciag¹, Albino Carrizzo², Carmine Vecchione², Paolo Beltrami³, Annibale Puca^{1,2}

1 Gruppo Multimedica, Milano, 2 Università di Salerno, 3 Università di Udine

pag. 30

10) EFFETTO DI UNA RIDOTTA SINTESI DI ACIDI GRASSI SUI LIVELLI DI STEROIDI NEURO-ATTIVI NEL NERVO SCIATICO.

S. Pedretti, R. Spezzano, M. Maldini, M. Audano, S. Giatti, M. Pesaresi, R. C. Melcangi, D. Caruso and N. Mitro

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

pag. 31

11) STUDY OF TARGET-INDUCED microRNA DEGRADATION AND COMPETING ENDOGENOUS RNA MECHANISM BY CRISP/Cas9 MEDIATED DELETION OF HIGH AFFINITY TARGET SITES

Francesco Ghini, Ines Simeone, Carmela Rubolino, Matteo J Marzi e Francesco Nicassio

Istituzione: Center for genomic science of IIT@SEMM, Istituto Italiano di Tecnologia (IIT); Via Adamello 16, 20139, Milano

pag. 32

1) ALTERAZIONI DEL PROFILO CARDIO-METABOLICO IN SOGGETTI PORTATORI DELLA MUTAZIONE R46L DEL GENE PCSK9

Baragetti A^{1,2}, Zampoleri V^{1,2}, Grejtakova D³, Uboldi P¹, Garlaschelli K², Balzarotti G¹, Grigore L^{2,3}, Pellegatta F^{2,3}, Guerrini U¹, Pisano G⁴, Fracanzani AL⁴, Fargion S⁴, Norata GD^{1,5}, Catapano AL^{1,3}

1 Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy. 2 SISA Center for the Study of Atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello Balsamo, Italy. 3 IRCCS Multimedica Hospital, Sesto San Giovanni, Milan, Italy. 4 Department of Pathophysiology and Transplantation, Ca' Granda Foundation IRCCS Maggiore Policlinico Hospital, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy. 5 School of Biomedical Sciences, Curtin Health Innovation Research Institute, Curtin University, Perth, Western Australia

pag. 33

2) STUDI DI LIPIDOMICA PER L'IDENTIFICAZIONE DEL RUOLO DEL TESSUTO ADIPOSO MIDOLLARE NELL'INVECCHIAMENTO E NEL DIABETE MELLITO DI TIPO 2. ANALISI DI CAMPIONI FEMORALI UMANI

Arnaboldi L.¹, De Metrio S.¹, Accattatis M.F.¹, Granata A¹, Maselli D.², Ferland-McCollough D.³, Mangialardi G.³, Corsini A.¹, Madeddu P.³, Spinetti G.²

1. Università degli Studi di Milano, DiSFeB; Via Balzaretti, 9 20133 Milano - 2. IRCCS MULTIMEDICA; Via Fantoli; - 3. University of Bristol, School of Clinical Sciences, Bristol, UK

pag. 34

3) ANOMALIE LIPIDICHE RESIDUE IN PAZIENTI IN TERAPIA CON STATINE: LO STUDIO TREAT

Alba Plastina¹, Elena Olmastroni¹, Manuela Casula¹, Marcello Arca², Paolo Cavallo Perin³, Pasquale Perrone Filardi⁴, Alberto Zambon⁵, Alberico L. Catapano^{1,6}

1 Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze farmacologiche e biomolecolari, Università di Milano, Milano, Italia. - 2 Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia. - 3 Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Torino, Italia. - 4 Dipartimento di Scienze Biomediche Avanzate, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli, Italia. - 5 Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Padova, Padova, Italia. - 6 IRCCS MultiMedica, Sesto San Giovanni (MI), Italia

pag. 35

4) ANALISI DEL TRASCRITTOMA IN SINGOLE PIASTRINE DI SOGGETTI SANI E PAZIENTI CAD

Chiara Zara¹, Rossella D'alessandro¹, Mattia Chiesa¹, Marta Brambilla¹, Elena Tremoli¹, Marina Camera^{1,2}

1 Centro Cardiologico Monzino IRCCS - 2 Università degli Studi di Milano

pag. 36

5) Zc3h10 CONTROLLA L'ATTIVITÀ MITOCONDRIALE IN VITRO ED IN VIVO

Matteo Audano¹, Silvia Pedretti¹, Stefano de Pretis², Mattia Pelizzola², Liliana Grigore^{3,4}, Katia Garlaschelli⁴, Andrea Baragetti^{1,4}, Fabrizia Bonacina¹, Alberico Luigi Catapano^{1,3}, Giuseppe Danilo Norata^{1,4,5}, Maurizio Crestani¹, Donatella Caruso¹, Enrique Saez⁶, Emma De Fabiani¹ and Nico Mitro¹
1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (Disfeb), Università degli Studi di Milano, Milano. - 2 Center for Genomic Science of IIT@SEMM, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Milano. - 3 IRCSS Multimedica; Milano. - 4 SISA Centre; Bassini Hospital; Cinisello Balsamo. - 5 School of Biomedical Sciences, Curtin Health Innovation Research Institute, Faculty of Health Science, Curtin University, Perth, Western Australia - 6 Department of Molecular Medicine, The Scripps Research Institute, La Jolla, USA

pag. 37

6) RISCHIO DI EVENTI CARDIOVASCOLARI ASSOCIATO ALL'USO DI INIBITORI DI POMPA PROTONICA NELLA POPOLAZIONE LOMBARDA

F. Galimberti¹, M. Casula¹, F. Mozzanica¹, E. Tragni¹, G. Corrao², L. Scotti², A.L. Catapano^{1,3}
1 Centro di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università di Milano, via Balzaretti 9, 20133 Milano, Italia - 2 Dipartimento di Statistica e Metodi Quantitativi, Divisione di Biostatistica, Epidemiologia e Sanità Pubblica, Università di Milano Bicocca, via Bicocca degli Arcimboldi 8, 20126 Milano, Italia - 3 IRCCS MultiMedica, via Milanese 300, 20099 Sesto S. Giovanni (MI), Italia

pag. 38

PROGETTI FINANZIATI DA FONDAZIONE CARIPLO ANNI 2014-2015-2016
Sessione congiunta SISA Lombardia-Fondazione Cariplo
(Area Cardiovascolare)

Bando	PI	Presentatore	Titolo del progetto	Affiliazione	Abstract Pagina
2014	Dell'Era Patrizia	Benzoni Patrizia	iPS-derived human Cardiomyocytes: a powerful tool to investigate the cellular mechanism of genetically determined Lone Atrial Fibrillation (CLARIFY)	Università degli Studi di Milano, Dip. Di Bioscienze	6
2014	Rampoldi Luca	Trudu Matteo	Interplay between salt intake, hypertension and cardiovascular risk. Molecular and functional dissection of new causal pathway	Istituto Scientifico San Raffaele	5
2014	Kallikourdis Marinos*	Kallikourdis Marinos	The role of the adaptive immune response in dilated cardiomyopathy: pathogenic mechanism and therapeutic potential	Fondazione Humanitas per la Ricerca, Rozzano - CNR, Rozzano	22
2014	Mitro Nico*	Pedretti Silvia	Impact of blunted fatty acid synthesis on the development of diabetic peripheral neuropathy: deciphering the role of the lipogenic factor SREBP-1c	Dip di Sci Farm e Biomol UNIMI	31
2015	Bianchi Marco E.	Raucci Angela	HMGB1 as a player and target in aging-associated tissue calcification during chronic renal failure	Fondazione IEO-CCM	3
2015	Biffo Stefano	Martinotti Simona	Molecular linkage between translation, epigenetic changes and metabolism and the development of insulin resistance	Università del Piemonte Orientale	7
2015	Casola Stefano	Petrocelli Valentina	Epigenetics of immune regulation in aging	IFOM-Istituto FIRC di Oncologia Molecolare	28
2015	Catapano Luigi Alberico	Bonacina Fabrizia	Immunometabolic effects of apolipoprotein E: focus on the modulation of cholesterol metabolism in antigen presenting cells	Dip di Sci Farm e Biomol - UNIMI	27
2015	Condorelli Gianluigi	Papait Roberto	Aging-mediated epigenetic changes modulate cardiac metabolism: implications for age-related cardiac malfunctioning	Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica (IRGB)-CNR; Humanitas IRCCS-Dipartimento Cardiovascolare	8
2015	Crestani Maurizio	Longo Raffaella	Histone deacetylase 3 in adipose tissue: a link between immuno-metabolic dysfunctions and obesity and type 2 diabetes	Dip di Sci Farm e Biomol - UNIMI	26
2015	Mantovani Alberto	Parente Raffaella	Humoral innate immunity in the regulation of tissue repair and metabolism in aging	Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano	23
2015	Ruscica Massimiliano	Ruscica Massimiliano	Aged-related obesity and chronic immuno-inflammation: understanding the relevance and pathophysiology of lactate	Dip di Sci Farm e Biomol - Ruscica	25
2015	Bacigaluppi Marco*	Gullotta Giorgia Serena	Aged induced hematopoietic and neurogenic dysfunctions contribute to the worse outcome of stroke in the aged	Università Vita-Salute San Raffaele	1
2015	Casati Lavinia*	Casati Lavinia	Epigenetic in the pathophysiology of osteoporosis: new insights from in vitro and in vivo studies	Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale UNIMI	9
2015	Fumagalli Stefano*	Fumagalli Stefano	In vivo and in vitro imaging of pro-thrombotic events in brain ischemic injury: focus on mannose-binding lectin and beta2 glycoprotein I	IRCCS - Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri	11
2016	Cantaluppi Vincenzo	Merlotti Guido	"Inflamm-aging" and cardiovascular risk in end stage chronic kidney disease: pathogenic role of extracellular vesicles and identification of new therapeutic targets	SCDU Nefrologia e Trapianto renale, AOU Maggiore della Carità, Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Novara	10
2016	Norata Giuseppe Danilo	Da Dalt Lorenzo	Protein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9): a link between lipotoxicity, mitochondrial dysfunction, and frailty-associated heart failure.	Dip di Sci Farm e Biomol - UNIMI	24
2016	Puca Annibale	Ferrario Annalisa	BPIFB4 ISOFORMS: POSSIBLE GENETIC RISK FACTOR AND THERAPEUTIC TOOL FOR HUMAN FRAILTY	Gruppo Multimedita, Milano	30
2016	Spinetti Gaia	Vono Rosa	Il midollo osseo come organo chiave nella sindrome dell'anziano fragile	Fondazione MultiMedica Onlus	29
2016	Tarella Corrado	Montariello Daniela	Renewal and epigenetic remodelling of hematopoietic cells in aging-associated myeloproliferative diseases (s)	Fondazione Istituto Europeo di Oncologia e Centro Cardiologico Monzino (FIEO- CCM)	4
2016	Lavatelli Francesca*	Maritan Martina	Systemic AL amyloidosis and the heart: molecular and cellular determinants of light chain proteotoxicity	Dipartimento di Bioscienze - UNIMI	2
2016	Marzi Matteo*	Marzi Matteo	Study of target-induced microRNA degradation and competing endogenous RNA mechanisms by CRISPR/Cas9 mediated deletion of high affinity target sites	Center for genomic science of IIT@SEMM, Istituto Italiano di Tecnologia (IIT)	32

*Bando giovani ricercatori

LE ALTERAZIONI DEL SISTEMA IMMUNITARIO LEGATE ALL'INVECCHIAMENTO PEGGIORANO L'ESITO DELL'ICTUS ISCHEMICO NELL'ANZIANO

Giorgia Serena Gullotta¹, Donatella De Feo¹, Tiziana Vigo, Norma Maugeri², Paola Ronchi³, Nicole Kerlero De Rosbo, Mattia Gallizioli¹, Giancarlo Comi¹, Antonio Uccelli, Gianvito Martino¹ and Marco Bacigaluppi¹

1 Neuroimmunology Unit, Division Of Neuroscience- Inspe- Institute Of Experimental Neurology, 2Division Of Regenerative Medicine, Stem Cells, And Gene Therapy, Immunohematology And Transfusion Medicine Unit, 3 Transplantation And Infectious Diseases, Autoimmunity & Vascular Inflammation Unit, Division Of Immunology, at Università Vita- Salute and San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, Via Olgettina 58 Milano.

Durante l'invecchiamento il sistema nervoso e immunitario vanno incontro a una serie di modificazioni strutturali e funzionali che alterano la risposta agli insulti infiammatori. Una delle conseguenze di tale declino funzionale è che l'ictus ischemico colpisce principalmente la popolazione più anziana. In questo studio, abbiamo studiato come il profilo infiammatorio di topi anziani contribuisca al peggior esito clinico dopo ictus ischemico.

Topi giovani e anziani sono stati sottoposti a 45 minuti di occlusione transiente dell'arteria cerebrale media (MCAo). Una sonda doppler ha permesso di valutare la perfusione del tessuto cerebrale a livello della corteccia. Mediante analisi citofluorimetriche è stato studiato il profilo infiammatorio su sangue, midollo osseo e cervello prima dell'ischemia cerebrale e due giorni dopo. È stato eseguito il ringiovanimento del comparto ematopoietico mediante trapianto di midollo osseo totale su topi anziani da donatori giovani. Sono state eseguite analisi comportamentali, studio del profilo infiammatorio ed è stata valutata la sopravvivenza.

Il topo anziano presenta dopo ischemia maggiore disabilità e mortalità rispetto al giovane. È stato osservato un deficit rilevante della riperfusione del tessuto cerebrale ("fenomeno da non- reflusso") nei topi anziani, rispetto ai giovani. Tale deficit è stato inoltre confermato in istologia, attraverso la valutazione del numero di costrizioni presentate dai vasi del microcircolo e dal numero dei segmenti contenenti eritrociti. Durante l'invecchiamento si verifica un graduale spostamento del differenziamento delle staminali ematopoietiche verso la linea mieloide, con relativo incremento di cellule mieloidi circolanti. È interessante notare come il ringiovanimento del comparto ematopoietico dei topi anziani è in grado di ripristinare in parte lo spostamento verso la linea mieloide, di migliorare significativamente la riperfusione, la disabilità e la sopravvivenza dopo ictus.

In conclusione, i nostri dati evidenziano come le alterazioni del profilo infiammatorio, legate all'invecchiamento, contribuiscano al peggioramento della riperfusione del tessuto cerebrale dopo ictus ischemico, il quale correla con l'incremento del danno cerebrale, della disabilità e della mortalità osservata negli individui anziani.

CATENE LEGGERE IMMUNOGLOBULINICHE ED AMILOIDOSI CARDIACA: IDENTIFICAZIONE DI CARATTERISTICHE STRUTTURALI E BIOFISICHE LEGATE ALL'AMILOIDOGENICITÀ

Martina Maritan¹, Luca Oberti¹, Paola Rognoni², Stefano Ricagno¹ e Francesca Lavatelli²

1. Università degli Studi di Milano; 2. Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo e Università di Pavia

Introduzione. L'amiloidosi da catene leggere (AL) è una malattia sistemica, causata dall'aggregazione e deposizione di catene leggere (CL) immunoglobuliniche monoclonali sotto forma di fibrille amiloidi. Il cuore è frequentemente affetto ed è il principale determinante prognostico. I meccanismi molecolari e cellulari alla base della formazione di depositi di amiloide e della disfunzione cellulare sono in gran parte oscuri, impedendo lo sviluppo di trattamenti per contrastare il danno tissutale. Questo progetto ha l'obiettivo di identificare i determinanti molecolari che conferiscono a specifiche CL l'abilità di aggregare e causare cardiotoxicità in cellule cardiache umane. L'identificazione di tali caratteristiche è il prerequisito per lo studio di composti in grado di stabilizzare le CL e bloccare il danno nell'organo bersaglio.

Metodi. Nelle fasi iniziali di questo studio sono state utilizzate catene leggere monoclonali isolate da pazienti con amiloidosi AL cardiaca (CL-H) e da controlli (pazienti con mieloma multiplo senza amiloidosi) (CL-M), per compararne le caratteristiche biofisiche/biochimiche (mediante studi di fluorescenza, dicroismo circolare, proteolisi limitata), strutturali (attraverso la cristallografia a raggi-X) ed il profilo di tossicità cellulare (utilizzando colture primarie di cellule cardiache umane) delle singole varianti.

Risultati. Dall'analisi biochimica è emersa la tendenza delle CL-H ad avere una minore stabilità in termini di folding proteico e termostabilità rispetto alle CL-M; suggerendo maggiore flessibilità. Dal punto di vista strutturale, il confronto tra le coordinate atomiche delle proteine tossiche e quelle non tossiche non ha ad ora evidenziato differenze significative riconducibili al fenotipo tossico. Le discrepanze tra risultati strutturali e biochimici suggeriscono che la patogenicità delle CL-H sia legata a una combinazione di caratteristiche, e da qui la necessità di applicare un approccio multidisciplinare per tracciare un quadro definitivo dei fattori determinanti la tossicità. A livello cellulare, la tossicità causata dalle CL-H nei pazienti risulta riprodotta anche in fibroblasti cardiaci in coltura.

Conclusioni. In questo studio è stata messa a punto una piattaforma multidisciplinare per la caratterizzazione delle CL e per lo studio della relazione struttura-tossicità cellulare. Le informazioni ricavate hanno permesso di elucidare caratteristiche distintive delle specie tossiche e forniscono un punto di partenza per il design di molecole che possano inibire la aggregazione e la tossicità nell'amiloidosi AL.

High Mobility Group Box 1 (HMGB1): UNA NUOVA PROTEINA PROTAGONISTA DELLA CALCIFICAZIONE VASCOLARE?

Luigi Mancinelli^{1,2}, Ileana Badi², Filippo Zeni², Filippo Taccia², Claudio Saccu³, Rita Spirito³, Marco E. Bianchi⁴ e Angela Raucci^{1,2}

1 Fondazione IEO-CCM, Milano, Italia.

2 Unità di Cardio-Oncologia Sperimentale e Invecchiamento Cardiovascolare, CCM, Milano, Italia.

3 Unità di Chirurgia vascolare e Endovascolare, CCM, Milano, Italia.

4 Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia.

La Calcificazione Vascolare (CV) è una complicazione, normalmente associata all'età, di malattie come la Malattia Renale Cronica, l'Aterosclerosi, il Diabete Mellito di Tipo 2, ed è un principale fattore di rischio per malattie cardiovascolari. Nonostante i soggetti affetti da CV siano pazienti ad alto rischio, non è stata ancora sviluppata una terapia efficace contro tale complicazione. HMGB1 (High Mobility Group Box 1) è un fattore nucleare coinvolto nella trascrizione, riparazione del DNA e mantenimento del numero di nucleosomi. Dopo uno stimolo infiammatorio, HMGB1 trasloca dal nucleo al citoplasma e nell'ambiente extracellulare dove agisce da "allarmista" e/o fattore rigenerativo. Ciò avviene anche in cellule senescenti dove la diminuzione di HMGB1 provoca una riduzione del contenuto di istoni e una maggiore suscettibilità al danno al DNA. La senescenza e il transdifferenziamento osteocondrogenico delle Cellule Muscolari Lisce Vascolari (VSMCs) sono responsabili della CV.

L'obiettivo di questo progetto è quello di determinare il ruolo di HMGB1 nella CV, in particolare nei meccanismi coinvolti nel rimodellamento della cromatina influenzati da HMGB1 e responsabili della senescenza e del transdifferenziamento in senso osteocondrogenico delle VSMCs.

Abbiamo osservato che i livelli proteici di HMGB1 e degli istoni diminuiscono drasticamente in aorte di topo invecchiati e in cellule muscolari lisce aortiche umane (HASMC) che vanno incontro a senescenza e calcificazione. Inoltre, in aorte calcificate di ratti uremici e in campioni umani di aneurisma dell'aorta addominale, l'espressione di HMGB1 si abbassa significativamente e correla negativamente con il contenuto di calcio nel tessuto. Infine, esperimenti preliminari evidenziano che tessuti molli di topi Hmgb1 +/- hanno una maggiore tendenza a calcificare rispetto a topi Hmgb1 +/+.

Questi risultati suggeriscono che HMGB1 possa avere un ruolo nel determinare i meccanismi coinvolti nell'insorgenza della CV e rappresentare un potenziale bersaglio terapeutico.

STUDIO DEI MECCANISMI MOLECOLARI CHE DETERMINANO LA DISFUNZIONE DELLA CELLULA STAMINALE EMATOPOIETICA NELL'ANZIANO

Daniela Montariello¹, Giulia De Michele¹, Marco Giorgio¹, Enrico Derenzini¹, Enrica Migliaccio¹, Vittorio Enrico Avvedimento², Pier Giuseppe Pelicci^{1,3} e Corrado Tarella^{1,4}

1Fondazione Istituto Europeo di Oncologia e Centro Cardiologico Monzino (FIEO-CCM), Via Ripamonti 435, 20141, Milano.

2Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli "Federico II".

3Dipartimento di Oncologia ed Emato-Oncologia, Università di Milano.

4Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Milano.

La conoscenza dei meccanismi cellulari coinvolti nell'invecchiamento è alla base dello sviluppo di strategie per ridurre la fragilità dell'anziano. Questo progetto di ricerca mira a determinare i meccanismi epigenetici alla base del rimodellamento della cellula staminale ematopoietica durante l'invecchiamento e nell'evoluzione di sindromi mieloproliferative che causano fragilità dell'anziano. L'adattamento cellulare allo stress ossidativo causa un rimodellamento della cellula staminale che degenera con l'età. Tale malfunzionamento riduce le funzioni del tessuto o può favorire una proliferazione incontrollata, che potrebbe evolvere nel cancro. Lo scopo centrale di questo studio è l'identificazione di meccanismi molecolari che associano una deregolata proliferazione della cellula staminale alla sua involuzione e sviluppo di malattia. Un ulteriore obiettivo del progetto riguarda la comprensione del ruolo convergente dello stress cronico replicativo, rappresentato dalla erosione dei telomeri, e dello stress ossidativo nel riprogrammare la cellula staminale in maniera patologica. Per raggiungere tali obiettivi, è previsto il reclutamento e lo studio clinico e biomolecolare di cellule emopoietiche di soggetti sani, giovani e vecchi, affetti da diverse tipologie e stadi di malattie mieloproliferative. Per lo sviluppo e lo studio del potenziale replicativo delle cellule staminali emopoietiche, si utilizzeranno modelli murini caratterizzati da ridotto (p66Shc^{-/-} C57/BL6) o accelerato (Terc^{-/-} C57/BL6) invecchiamento. Nel nostro laboratorio, abbiamo prodotto dei dati preliminari che suggeriscono un ruolo per il gene p66Shc nella regolazione della divisione asimmetrica e nel mantenimento del pool di cellule staminali adulte, che come è noto, perdono di funzionalità durante l'invecchiamento. Recenti evidenze suggeriscono che la perdita di polarità sia un emergente meccanismo di invecchiamento delle staminali ematopoietiche. In esperimenti preliminari, abbiamo utilizzato dei marcatori di polarità, quali Cdc42 e tubulina, ed osservato che le staminali ematopoietiche isolate da topi anziani p66Shc^{-/-} C57/BL6 mantengono la polarità al pari di topi giovani, confermando un ruolo del gene p66Shc nell'invecchiamento delle staminali.

INTERAZIONE TRA ASSUNZIONE DI SODIO, IPERTENSIONE E RISCHIO CARDIOVASCOLARE. DISSEZIONE MOLECOLARE E FUNZIONALE DI UN NUOVO MECCANISMO CAUSALE

Matteo Trudu¹, Céline Schaeffer¹, Matteo Barcella², Elena Pasqualetto¹, Chiara Lanzani³, Daniele Braga², Masami Ikehata⁴, Laura Zagato³, Maria Pia Rastaldi⁴, Daniele Cusi², Cristina Barlassina², Paolo Manunta³, Luca Rampoldi¹

- 1) Divisione di Genetica e Biologia Cellulare, Istituto scientifico San Raffaele, Milano;
- 2) Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Milano, Milano;
- 3) Divisione di Nefrologia e Dialisi, Istituto scientifico San Raffaele, Milano;
- 4) Fondazione D'Amico per la Ricerca sulle Malattie Renali, Milano.

L'ipertensione è una patologia complessa che colpisce principalmente i soggetti anziani ed è riconosciuta come principale fattore di rischio per le malattie cardiovascolari, la principale causa di decessi nei paesi industrializzati. La regolazione della pressione sanguigna (BP) è in parte regolata dall'omeostasi renale del sale, processo chiamato "sale-sensibilità". La sale-sensibilità è eterogenea tra gli individui e caratterizza circa metà degli ipertesi. Anche se i meccanismi alla base dell'ipertensione sale-sensibile non sono ancora stati completamente chiariti, essa è almeno in parte sotto controllo genetico. Tra i fattori di rischio genetico sono state individuate alcune varianti comuni del gene UMOD, che codifica per uromodulina, una proteina espressa unicamente nel rene e secreta nelle urine. Nel nostro laboratorio abbiamo dimostrato che le varianti di rischio determinano una maggiore espressione del gene e che l'aumentata espressione di uromodulina determina un incremento sale-sensibile della pressione ematica.

Il nostro studio è volto ad individuare come le modificazioni epigenetiche e la modulazione dell'assunzione di sale influenzano la BP in pazienti ipertesi e in modelli murini esprimenti diversi livelli di uromodulina. Per raggiungere questo scopo, abbiamo utilizzato protocolli clinici (acuti e cronici) in pazienti ipertesi esprimenti diverse varianti di UMOD, che conferiscono "protezione" o "aumentato rischio" di incrementare la pressione ematica. Inoltre, nel nostro laboratorio abbiamo generato modelli murini in cui il gene UMOD è stato deletato (knock-out) o che esprimono livelli maggiori di uromodulina rispetto ad animali controllo (transgenici). Abbiamo utilizzato il tessuto renale espantato da questi modelli murini per effettuare tecniche di co-immunoprecipitazione ed individuare proteine che interagiscono con l'uromodulina, e tecniche di RNA-Sequencing su campioni di rene totale o di segmenti di nefrone microdissezionati per individuare i meccanismi molecolari attivati/repressi in condizioni di diverso contenuto sodico nella dieta.

Attualmente stiamo analizzando e validando i risultati ottenuti durante la prima fase del progetto. Ci aspettiamo che tali risultati potranno ampliare le nostre conoscenze sul ruolo dell'uromodulina (e dei suoi regolatori o effettori) nell'assorbimento del sodio nel rene, nella regolazione della pressione ematica e nell'insorgenza dell'ipertensione. I risultati ottenuti tramite questa ricerca clinica e preclinica avranno una forte rilevanza dal punto diagnostico e prognostico e potranno indicare nuovi bersagli terapeutici.

iPS-DERIVED HUMAN CARDIOMYOCYTES: A POWERFUL TOOL TO INVESTIGATE THE CELLULAR MECHANISMS OF GENETICALLY DETERMINED LONE ATRIAL FIBRILLATION (CLARIFY)

Patrizia Benzoni, Giulia Campostrini, Andrea Barbuti, Patrizia Dell'Era

Università degli Studi di Milano, Dip. Di Bioscienze

Atrial Fibrillation (AF) is the most common type of cardiac arrhythmias whose incidence grows significantly with age; AF occurs when the regular pacing activity generated by the sinoatrial node is overdriven by disorganized electrical activity originating in the left atrium. Since in aged population AF is frequently observed as a complication of other cardiovascular disorders, recent genetic studies revealed the presence of several mutations and variants linked to AF, findings which justify the definition of AF as a multifactorial disease. Due to this complex background and the paucity of models, the molecular mechanisms underlying the initiation of AF are still poorly understood.

In addition, electrical disturbances typical of AF cause the remodeling of the atria that may sustain the arrhythmic phenotype. This remodeling, in turn, makes impossible to discriminate between causes and effects of AF when analyzing patient's cardiomyocytes (CMs).

We decided to use patient-derived iPSC to obtain a human cardiac cell model that possesses the entire patient's genetic background. We generated iPSC from two out of three siblings affected by a drug-resistant form of AF that they developed at relatively young age (<55 years). Using this model, we compared molecular and electrophysiological properties of iPSC-CMs from AF patients and controls, revealing alterations in ionic currents that may contribute to AF initiation.

We moved on using our experience about iPSC-model to analyze the role of specific gene mutation associated with AF only by whole exome genome such as PITX2C, for which heterologous systems cannot be used to understand the possible pathogenesis, look for electrophysiological abnormalities.

METABOLIC PATTERN E eIF6 DEPLETION: ESISTE UN'INTERCONNESSIONE? UNO STUDIO MULTIDISCIPLINARE.

Simona Martinotti¹, Marcello Manfredi², Eleonora Conte², Alessandra Scagliola³, Piera Calamita³, Annarita Miluzio³, Elisa Robotti¹, Emilio Marengo¹, Stefano Biffo^{3,4}, Elia Ranzato⁵

¹University of Piemonte Orientale, DISIT - Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, viale Teresa Michel, 11 - 15121 Alessandria, Italy ²Isalit srl, via Bovio 6, 28100, Novara – Politecnico di Torino, viale T. Michel 5, 15121, Alessandria, Italy.

³Istituto Nazionale Genetica Molecolare "Romeo ed Enrica Invernizzi", Via Sforza 28, 20122, Milano, Italy. ⁴University of Milan, Department of Biosciences, Via Celoria, 26, 20133, Milano, Italy. ⁵University of Piemonte Orientale, DISIT - Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, Piazza S. Eusebio, 5 - 13100 Vercelli, Italy

I disturbi metabolici, tra cui l'obesità, un'alterata tolleranza al glucosio e quindi l'insorgenza di diabete di tipo 2, hanno una maggiore frequenza durante l'invecchiamento, diventando causa di grave morbilità e mortalità.

Il controllo della sintesi proteica (traduzione) ha un ruolo importante sia nell'invecchiamento che nell'insorgenza di disturbi metabolici.

Come noto, la regolazione dei fattori coinvolti nella sintesi proteica, favorisce il controllo dell'invecchiamento e un miglioramento della durata della vita.

Eukaryotic Initiation Factor 6 (eIF6) è un fattore di inizio che lega la subunità ribosomiale 60S impedendone una prematura unione con la 40S.

In passato abbiamo dimostrato che, in vivo, l'inibizione di eIF6 blocca la progressione tumorale e protegge dallo sviluppo di steatosi epatica. La condizione cronica di eterozigosi di eIF6 riduce obesità e lipogenesi, e migliora il controllo glicemico di una high fat diet. L'analisi dell'espressione genica dimostra che l'inibizione eIF6 provoca una "delayed aging" signature.

I mitocondri sono il principale compartimento cellulare di produzione dell'energia, ed è stato dimostrato come alterazioni mitocondriali contribuiscano allo sviluppo di disturbi metabolici.

Fino ad ora l'azione regolatoria di eIF6 sull'attività mitocondriale non è ancora stata esplorata.

A questo scopo, utilizzando diverse metodologie, dalla microscopia elettronica ai saggi biochimici, arrivando agli approcci omici, abbiamo analizzato la signature metabolica di una linea cellulare di epatociti murini, in cui eIF6 risulta down-regolato.

I risultati mostrano che la deplezione di eIF6 modifica profondamente le proprietà intrinseche e le funzioni mitocondriali, aumentando la produzione di ROS, riducendo la produzione di energia con un'inibizione della fosforilazione ossidativa.

EPIGENETICA E METABOLISMO CARDIACO: IMPLICAZIONI NELLO SCOMPENSO CARDIACO DELL'ANZIANO

Roberto Papait, Simone Serio, Christina Pagiatakis, Gianluigi Condorelli

Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica (IRGB)-CNR; Humanitas IRCCS-
Dipartimento Cardiovascolare

Lo scompenso cardiaco è una malattia dell'anziano con un'alta frequenza di mortalità e morbosità ed è il risultato del graduale declino della funzionalità cardiaca che avviene con il progredire dell'età. In questo processo hanno un ruolo determinante le alterazioni metaboliche che avvengono nel corso dell'invecchiamento e che rendono il cuore dell'anziano meno propenso a ricavare l'energia dall'ossidazione degli acidi grassi, una situazione che predispone allo scompenso cardiaco. I meccanismi molecolari responsabili di questi cambiamenti metabolici sono poco conosciuti. Durante gli ultimi anni un numero sempre più alto di lavori suggerisce l'esistenza di una stretta connessione tra metabolismo ed epigenetica. Per alcune specifiche vie metaboliche è stato infatti dimostrato un controllo epigenetico. Inoltre, è stato mostrato come una specifica dieta possa influenzare il profilo epigenetico del genoma. Nel nostro laboratorio abbiamo dimostrato come l'istone- metiltrasferasi G9a nel cuore adulto sia richiesta per la corretta funzionalità cardiaca reprimendo non solo geni che codificano per importanti regolatori della contrazione dei cardiomiociti ma anche enzimi coinvolti nel metabolismo del glucosio attraverso la di-metilazione della lisina 9 dell'istone H3 e l'interazione con il complesso repressivo Polycomb 2. Al contrario, abbiamo trovato che nel cuore stressato G9a promuove i cambiamenti trascrizionali responsabili dell'ipertrofia cardiaca silenziando l'espressione dei geni ipertrofici. Questi dati, insieme al fatto che l'espressione di G9a aumenta nel corso dell'invecchiamento cardiaco suggeriscono come questa metiltrasferasi abbia un ruolo importante nel promuovere i cambiamenti trascrizionali responsabili del declino della funzionalità cardiaca nel cuore anziano.

MECCANISMI EPIGENETICI NELLA PATOGENESI E FISIOPATOLOGIA DELL'OSTEOPOROSI: NUOVE INTUZIONI DAGLI STUDI IN VITRO ED IN VIVO

Lavinia Casati¹, Francesca Pagani¹, Fabio Celotti², Valeria Sibilìa¹

1Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale

2Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari

Negli ultimi anni è emerso come il differenziamento e la proliferazione di osteoblasti ed osteoclasti siano sottoposti ad un complesso meccanismo di regolazione che prevede non solo l'azione combinata di ormoni circolanti, fattori locali e meccanici ma anche un controllo da parte di meccanismi epigenetici attraverso il controllo dei cambiamenti fenotipici delle cellule ossee. Rimane ancora ampiamente da chiarire se la carenza di steroidi sessuali e/o l'attivazione di un ambiente cellulare sfavorevole (come lo stress ossidativo e l'infiammazione) possano influenzare i meccanismi epigenetici coinvolti nello squilibrio tra neoformazione e riassorbimento osseo che si manifesta in corso di osteoporosi.

Lo scopo primario dello studio finanziato da Fondazione Cariplo è quello di analizzare se i cambiamenti ambientali (relativi all'ambiente ormonale, al livello di specie reattive dell'ossigeno, a stimoli infiammatori) possono alterare il profilo trascrittomico "in vitro" in linee cellulari osteoblastiche e osteoclastiche mediante meccanismi epigenetici e se gli stessi meccanismi epigenetici identificati negli studi in vitro siano coinvolti nella perdita ossea indotta in vivo in un modello sperimentale di osteoporosi.

Negli studi in vitro verranno utilizzate 3 linee cellulari: MC3T3-E1 (osteoblasti murini), RAW264.7 (precursori di osteoclasti murini), MLOY4 (osteociti murini). Queste cellule saranno esposte o meno a trattamenti con steroidi sessuali o stimoli infiammatori. Su questi campioni verranno condotti studi trascrittomici, proteomici ed epigenetici. Negli studi in vivo si utilizzeranno conigli adulti maschi e femmine. Su questi animali verrà indotta una condizione simile all'OP senile o post-menopausale mediante gonadectomia associata ad una dieta ipocalcica. Su tibia e femore prelevati dagli animali verranno condotti studi morfometrici e (in funzione dai risultati ottenuti dagli studi in vitro) analisi trascrittomiche ed epigenetiche.

Risultati preliminari ottenuti utilizzando le cellule MC3T3-E1 e MLOY 4 indicano che gli ormoni sessuali steroidei sembrano esercitare un effetto protettivo sulla vitalità cellulare in condizioni di stress ossidativo. Gli ormoni sessuali inoltre sembrano prevenire in modo sesso specifico alcune delle alterazioni del profilo trascrittomico dei geni maggiormente coinvolti nello sviluppo dell'osteoporosi indotte dallo stress acuto negli osteoblasti.

Questi studi potrebbero contribuire all'identificazione di nuovi bersagli coinvolti nella patogenesi dell'osteoporosi e di individuare approcci terapeutici innovativi per tale patologia.

INFLAMM-AGING E RISCHIO CARDIOVASCOLARE NELLO STADIO TERMINALE DELLA MALATTIA RENALE CRONICA: RUOLO PATOGENETICO DELLE VESICOLE EXTRACELLULARI E IDENTIFICAZIONE DI NUOVI TARGET TERAPEUTICI

Guido Merlotti¹, Marco Quaglia¹, Mara Giordano², Marita Marengo³, Vincenzo Cantaluppi¹

1SCDU Nefrologia e trapianto renale, AOU Maggiore della Carità, Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Novara - 2Laboratorio di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze Mediche e IRCAD, Università del Piemonte Orientale, Novara - 3SC Nefrologia e Dialisi, ASL CN1 Cuneo

INTRODUZIONE: La malattia renale cronica (CKD) è considerata un modello di invecchiamento precoce e la malattia cardiovascolare (CVD) rappresenta la principale causa di morte nella CKD. Le vescicole extracellulari plasmatiche (EV) rappresentano un nuovo modo di interpretare la comunicazione intercellulare e sono in grado di trasferire materiale genetico (microRNA) dalla cellula di origine alle cellule target. Diversi studi hanno segnalato che l'infiammazione svolge un ruolo fondamentale nella CVD: la principale ipotesi di lavoro è che nel corso della CKD le tossine uremiche possono indurre il rilascio di EV in grado di favorire la CVD

OBIETTIVO: Valutare il ruolo dell'RNA trasportato dalle EV nella senescenza endoteliale e nella calcificazione vascolare in pazienti con CKD avanzata

DISEGNO DELLO STUDIO: Studio clinico osservazionale, multicentrico, prospettico, durata 24 mesi, diviso in 2 lavori principali (WP):

1. WP1: Identificazione e caratterizzazione dell'RNA contenuto nelle EV in pazienti con CKD e valutazione del loro ruolo nella CVD. Il WP1 sarà suddiviso in: 1A) arruolamento di 100 pazienti con CKD stadio IV/V in 4 centri italiani, quantificazione e caratterizzazione delle EV e analisi dell'RNA; 1B) correlazione quantitativa e qualitativa dell'RNA con marcatori clinici di CVD (arterial stiffness, ispessimento della parete carotidea e disfunzione diastolica); 1C) valutazione in vitro degli effetti delle EV su cellule umane endoteliali e muscolari lisce; 1D) valutazione ex vivo degli effetti di vasocostrizione/vasodilatazione delle EV su arterie umane isolate.

2. WP2: Sviluppo di nuove strategie terapeutiche basate su molecole antiossidanti presenti nella dieta mediterranea e su nuove membrane adsorbenti di dialisi per rimuovere le EV o inibire l'attività dell'RNA. Il WP2 sarà suddiviso in: 2A) valutazione dell'effetto di composti antiossidanti (idrossitirosolo, tirosolo, acido caffeico, malvidina e resveratrolo) nella modulazione dell'RNA delle EV e quindi sulla progressione della CKD e della CVD; 2B) confronto di differenti tecniche dialitiche sulla clearance delle EV e sull'inibizione della loro attività cardiovascolare.

RISULTATI ATTESI L'identificazione di nuovi target terapeutici e del ruolo patogeno dell'RNA trasportato dalle EV potrebbe portare all'identificazione di nuove vie terapeutiche, permettendo così di bloccare la progressione della CKD e della CVD. L'identificazione del ruolo patogeno delle EV nell'ambiente infiammatorio potrebbe trovare applicazione anche in altri contesti come sepsi e neoplasie.

LA TROMBO-INTIAMMAZIONE NELL'ISCHEMIA CEREBRALE: FOCUS SU MANNOSE-BINDING LECTIN E B2 GLICOPROTEINA I

Stefano Fumagalli^a, Carolina Artusi^b, Marco Oggioni^a, Carlo Perego^a, Maria O. Borghi^c, Claudia Grossi^c, Francesco Tedesco^c, Pier Luigi Meroni^{b,c} and Maria-Grazia De Simoni^a

^aIRCCS Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri

^bUniversità di Milano

^cIRCCS Istituto Auxologico Italiano

La via lectinica di attivazione del complemento è un potente meccanismo infiammatorio coinvolto nella patogenesi dell'ictus. La presenza degli iniziatori della via lectinica in placche aterosclerotiche vulnerabili, associate al rischio di ictus (Fumagalli et al., *Front Immunol* 2017), ne suggerisce un ruolo nei processi trombotici. In questo studio abbiamo esplorato, in un modello murino di ischemia cerebrale, l'interazione di mannose-binding lectin (MBL), proteina iniziatrice della via lectinica, con β 2GPI, una glicoproteina circolante coinvolta nei processi pro-coagulatori mediati da anticorpi antifosfolipidi, il più importante fattore di rischio per l'ictus giovanile.

Topi C57bl6/J maschi di 11 settimane sono stati sottoposti ad ischemia tramite occlusione transitoria dell'arteria cerebrale media. L'espressione genica epatica di MBL e β 2GPI, i loro livelli plasmatici e localizzazione cerebrale sono stati analizzati dopo 90 minuti, 6, 24, 48, 96 ore o 7 giorni dall'induzione dell'ischemia.

L'espressione genica di MBL e β 2GPI viene up-regolata a partire da 48 ore dopo lo stimolo ischemico. A questo tempo l'interazione tra le proteine circolanti MBL e β 2GPI aumenta significativamente rispetto ai controlli (animali falsi-operati). MBL inizia a depositarsi sull'endotelio ischemico da 24 ore e fino a 4 giorni rimane selettivamente sulle pareti vascolari, dove co-localizza con la fibrina. La forma attiva di β 2GPI è presente precocemente (90 minuti) e almeno fino a 7 giorni dopo ischemia sia sull'endotelio ischemico che nel parenchima cerebrale. Negli animali controllo nessuna delle due proteine si deposita a livello cerebrale. L'osservazione che β 2GPI è presente anche nel parenchima cerebrale è del tutto originale ed è stata indagata mediante microscopia ad immunofluorescenza. Nell'area ischemica β 2GPI si lega ai neuroni che mostrano segni di sofferenza come l'espressione precoce (90 minuti) di annessina V e uno stato apoptotico irreversibile (48 ore). I neuroni positivi per β 2GPI sono riconosciuti dalla proteina C3, un'opsonina attivata dal sistema del complemento, che ne media l'eliminazione tramite fagocitosi.

Questo studio dimostra, per la prima volta nel contesto dell'ischemia cerebrale, l'interazione tra il sistema del complemento e β 2GPI a livello vascolare, implicandone il coinvolgimento nei processi pro-coagulatori, e a livello parenchimale, suggerendone la partecipazione ai meccanismi di morte neuronale indotti dal danno.

TESSUTO ADIPOSO E PCSK9: POSSIBILE RUOLO DI LEPTINA E RESISTINA

Chiara Macchi¹, Margherita Botta¹, Silvia Marchianò¹, Daria Dall'Orto¹, Paola Dongiovanni², Silvia Fargion², Luca Valenti², Paolo Magni¹, Alberto Corsini^{1,3}, Nicola Ferri⁴, Massimiliano Ruscica¹

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy; ²Dipartimento di Fisiopatologia Medico Chirurgica e dei Trapianti, Università degli Studi di Milano, UO Medicina Interna 1B, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italy; ³Multimedica IRCCS, Milano, Italy; ⁴Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova, Padova, Italy

Introduzione. Il tessuto adiposo è un organo endocrino che secreta molecole attive, le adipochine. Quest'ultime, in una condizione di accumulo di grasso viscerale, potrebbero risultare dannose per il sistema cardiovascolare. Scopo del presente lavoro è stato valutare alcuni dei meccanismi molecolari alla base delle vie di segnalazione delle adipochine (leptina e resistina) e dell'espressione della proproteina convertasi subtilisina/kexina di tipo 9 (PCSK9), principale regolatore del recettore delle lipoproteine a bassa densità. **Materiali.** Cellule di epatocarcinoma umano HepG2; silenziamento genico (siRNA); qPCR; Western Blot; saggio della luciferasi per lo studio del promotore di PCSK9; ELISA. **Risultati.** Nelle cellule HepG2, il trattamento di 48 ore con leptina e resistina ha determinato un aumento (i) dell'espressione genica di PCSK9 rispettivamente del 195% e del 250%, e (ii) dell'attività del promotore di PCSK9 (leptina: +26%; resistina: +20%); quest'ultimo effetto è mediato principalmente dal coinvolgimento dell'elemento responsivo agli steroli (SRE). Al contrario, una mutazione della sequenza di HNF-1 non ha modificato l'effetto delle adipochine sull'attività luciferasica. Per questi esperimenti il trattamento con simvastatina (20 µM) è stato utilizzato come controllo positivo. La leptina ha aumentato il rilascio di PCSK9 nel medium cellulare (+15%). Dal punto di vista clinico, è stata dimostrata un'associazione positiva tra i livelli circolanti di leptina e quelli di PCSK9 (p=0,03). La relazione tra adipochine, espressione di PCSK9 e coinvolgimento di STAT3, un importante modulatore della risposta infiammatoria, è stata confermata dal silenziamento di STAT3, che ha ridotto l'espressione genica di PCSK9 mediata da leptina e resistina. Tali adipochine aumentano anche l'espressione genica dell'apolipoproteina (apo)B e della proteina microsomiale di trasporto dei trigliceridi (MTP): leptina (in entrambi i casi circa 60%) e resistina (in entrambi i casi +50%). Queste attivazioni sono dipendenti da PCSK9, come dimostrato silenziando PCSK9. Infatti, un incremento e una riduzione significativa di apoB e MTP sono stati trovati, rispettivamente, in risposta alla sovra-espressione e al silenziamento di PCSK9. **Conclusioni.** Esiste una relazione tra l'espressione di PCSK9 e le adipochine leptina e resistina. Le basi molecolari di tale rapporto richiedono il coinvolgimento della via di segnalazione di STAT3 e l'attivazione della sequenza SRE a livello del promotore di PCSK9.

IL SILENZIAMENTO DELLE ISTONE DEACETILASI 3 AMPLIFICA IL PROGRAMMA DI DIFFERENZIAMENTO ADIPOCITARIO

D. Cricri, R. Longo, A. Ferrari, N. Mitro, D. Caruso, E. De Fabiani, M. Crestani

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari - Laboratorio "G.Galli" di Biochimica e Biologia Molecolare del Metabolismo- Spettrometria di Massa. Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Via Balzaretto 9, 20133, Milano.

INTRODUZIONE: L'obesità è una condizione caratterizzata da eccessivo accumulo di massa adiposa che determina aumento ponderale patologico. Tale condizione si associa all'insorgenza di complicazioni quali insulino resistenza e diabete di tipo 2, arteriosclerosi, ipertensione e disturbi cardiovascolari. Le istone deacetilasi (HDAC) esercitano un ruolo determinante nella regolazione epigenetica del differenziamento e del metabolismo lipidico nel tessuto adiposo. L'utilizzo di MS275, inibitore selettivo delle HDAC di classe I, aumenta il metabolismo ossidativo nel tessuto adiposo potenziandone la funzionalità e promuove il browning, sia in cellule mesenchimali C3H/10T1/2 indotte al differenziamento in adipociti che in modelli murini db/db o di obesità indotta dalla dieta (DIO). **SCOPO:** Ad oggi, il meccanismo molecolare attraverso il quale le HDAC di classe I esplicano la loro azione nel tessuto adiposo non è ancora stato approfondito. Questo aspetto, tuttavia, costituisce un primo passo determinante per elucidare le basi del miglioramento fenotipico obeso/insulino resistente osservato in seguito al trattamento con MS275. Pertanto, lo scopo di questa ricerca è stato quello di studiare il ruolo delle HDAC di classe I, valutando gli effetti del silenziamento specifico di HDAC3, una delle HDAC appartenente a questa classe. **PROCEDURE SPERIMENTALI:** HDAC3 è stata silenziata in cellule C3H/10T1/2, successivamente differenziate in adipociti. Per generare il modello knock-down è stato utilizzato un vettore adenovirale contenente shRNA in grado di bersagliare HDAC3.

RISULTATI: Il knock-down di HDAC3 presenta gli effetti dell'inibizione biochimica con MS275. L'espressione genica di Pparg e Ppara, regolatori principali del differenziamento adipocitario, risulta considerevolmente amplificata (Pparg: scramble 0.861 ± 0.02 vs shHDAC3 1.359 ± 0.07 ; Ppara: scramble 0.724 ± 0.1 vs shHDAC3 2.131 ± 0.2). Aumenta, inoltre, l'espressione di geni coinvolti nel metabolismo lipidico quali Atgl (scramble 0.711 ± 0.07 vs shHDAC3 1.254 ± 0.3), Fabp4 (scramble 0.553 ± 0.07 vs shHDAC3 1.696 ± 0.3), Acly (scramble 0.908 ± 0.1 vs shHDAC3 1.608 ± 0.1) e Pdk4 (scramble 0.565 ± 0.06 vs shHDAC3 1.371 ± 0.1). Infine, anche l'espressione di Ucp1, gene chiave nel processo di browning, risulta amplificata (scramble: 0.498 ± 0.1 vs shHDAC3 2.940 ± 0.01). **CONCLUSIONE:** Il silenziamento di HDAC3 promuove il differenziamento adipocitario aumentando in maniera significativa l'espressione di geni coinvolti nel differenziamento e nel metabolismo delle cellule adipose. Di conseguenza, gli effetti dell'MS275 potrebbero essere riconducibili all'azione esercitata su HDAC3.

HIGH FAT DIET SUPPRESSES THE EFFECT OF Hdac3 ABLATION IN HDAC3 KO MICE

R. Silva¹, A. Ferrari¹, R. Longo¹, E. Fiorino¹, N. Mitro¹, G. Cermenati¹, D. Caruso¹, E. De Fabiani¹, S. Hiebert², M. Crestani¹

1 DiSFeB, Dipartimento di Scienze Farmologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, 20133, Italy; 2 Department of Biochemistry, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN 37232, USA.

Background: Easily accessible high-calorie food and sedentary way of life drive to the pandemic of obesity and overweight. Among others, atherosclerosis and cardiovascular diseases are consequences of pathological accumulation of dysfunctional adipose tissue characteristic of obesity. In the last few years, white adipose tissue (WAT) browning (i.e. the development of brown-like adipocytes in WAT) has been investigated as one of the promising therapeutic strategy against obesity. Previously, we showed that HDACs regulate patterns of the expression of genes involved in metabolism in diet-induced obese mice. Recently, we demonstrated that adipose-specific Hdac3 KO mice (H3atKO) displayed a strong metabolic rewiring of lipid metabolism, when feeding low fat diet.

Aim of this study: Investigate whether adipose tissue specific ablation of Hdac3 is effective in preventing or attenuating diet-induced obesity.

Methods: We generated a H3atKO by Cre-lox technology, which were fed for 24 weeks with an obesogenic high fat diet (HFD), along with the floxed mice. Analysis of the regulatory pathways by gene expression, chromatin immunoprecipitation (ChIP) and metabolomics was performed.

Results: No differences neither in body weight gain (45.38 ± 1.54 vs 47.40 ± 1.38) nor in glucose tolerance (60827 ± 2773 vs 55857 ± 2825) were found. Gene expression analysis showed no significant changes in the expression of genes involved in glucose and lipid metabolism such as Pdk4 (1 ± 0.42 vs 1.05 ± 0.31) and Atgl (1 ± 0.55 vs 2.39 ± 0.41), respectively. Moreover, in contrast to mice fed normal diet, no significant remodeling of chromatin (H3K27 acetylation) in specific regions regulating Pparg (19.06 ± 3.17 vs 26.39 ± 8.68), Ucp1 (1.99 ± 0.58 vs 1.60 ± 0.15) and Ppara (1.42 ± 0.27 vs 2.95 ± 0.75) was observed in mice fed HFD. Accordingly, no differences in terms of metabolome were found. Moreover, the expression of adipocyte markers such as Pparg (3.76 ± 0.19 vs 1.55 ± 0.2) and other key genes upregulated by HDAC3 silencing, such as Ucp1 (33.79 ± 10.5 vs 3.59 ± 1.62) and Pdk4 (6.78 ± 0.49 vs 2.33 ± 0.2), were reduced in presence of a PPAR α antagonist, suggesting that the effects of HFD are mediated, at least in part, by PPAR α .

Conclusions: The reprogramming of lipid metabolism characteristic of H3atKO mice fed normal diet is disrupted upon high fat feeding, showing an important role of the diet in the acquisition of the H3atKO mice phenotype. Furthermore, data obtained with a PPAR α antagonist indicate a central role of this nuclear receptor in the metabolic rewiring consequent to HDAC3 KO or silencing.

LE LIPOPROTEINE AD ALTA DENSITÀ INIBISCONO LO STRESS OSSIDATIVO INDOTTO DALLA PROLIFERAZIONE CELLULARE NEL TUMORE PROSTATICO

Eleonora Giorgio¹, Massimiliano Ruscica², Margherita Botta², Nicola Ferri³, Chiara Macchi², Guido Franceschini⁴, Paolo Magni², Laura Calabresi¹, Monica Gomaschi¹

¹Centro Enrica Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy; ²Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy; ³Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova, Padova, Italy; ⁴Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, Università degli Studi di Milano, Milano, Italy.

Recenti evidenze suggeriscono che lo stress ossidativo può giocare un ruolo importante nella patogenesi e nella progressione del tumore alla prostata. I livelli di specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono elevati nelle cellule tumorali prostatiche in modo proporzionale all'aggressività del fenotipo. Poiché le lipoproteine ad alta densità (HDL) sono note anche per la loro attività antiossidante, è stata testata la loro capacità di ridurre i livelli di ROS in linee cellulari di epitelio prostatico tumorale e il conseguente impatto sulla proliferazione cellulare.

Le HDL riducono in modo significativo sia lo stress ossidativo basale sia quello indotto da uno stimolo pro-ossidante (H₂O₂) in linee di epitelio prostatico normale, o tumorale androgeno-dipendente e androgeno-indipendente. Tale effetto non è dovuto all'attivazione del recettore degli androgeni, del recettore scavenger BI e del trasportatore ATP binding cassette G1. Inoltre, le HDL sono in grado di annullare l'aumento della proliferazione cellulare indotto dall'H₂O₂, poiché prevengono la transizione del ciclo cellulare dalla fase G₀/G₁ alla fase G₂/M. HDL sintetiche contenenti apoA-I e fosfatidilcolina, ad oggi in fase di sviluppo clinico come agenti anti-aterosclerotici, mantengono la capacità delle HDL di inibire la produzione di ROS nelle cellule di tumore prostatico.

Quindi l'attività antiossidante delle HDL limita la proliferazione cellulare indotta dai ROS in entrambe le linee di tumore prostatico, supportando il possibile ruolo delle HDL contro la progressione del tumore prostatico.

IMPATTO DEL RECETTORE DELLE LDL NELLA DIFFERENZIAZIONE E FUNZIONALITA' DEI LINFOCITI T

Annalisa Moregola¹, Fabrizia Bonacina¹, David Coe², Nico Mitro¹ Alberico L. Catapano^{1,3}, Federica Marelli-Berg², Giuseppe D. Norata^{1,2}

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche Sperimentali e Cliniche, Università degli Studi di Milano (Milano), 2William Harvey Research Institute, Barts and The London School of Medicine & Dentistry, Queen Mary University (Londra, UK), 3IRCCS Multimedica, (Milano).

SCOPO: L'espansione dei linfociti T effector memory (Tem) è correlata alla comparsa e progressione della patologia aterosclerotica. Scopo di questo lavoro è stato investigare il ruolo del recettore delle LDL nelle risposte immunometaboliche associate al differenziamento e funzionalità dei linfociti T.

METODI: Fenotipizzazione e analisi dell'espressione genica delle sottopopolazioni linfocitarie e loro caratterizzazione funzionale in vitro e in vivo.

RISULTATI: La mancanza del recettore delle LDL non impatta la distribuzione delle sottopopolazioni linfocitarie quali Tem, Tcm, Tn in condizioni basali. In vitro, dopo attivazione tramite antiCD3/antiCD28, la mancanza di recettore delle LDL limita la proliferazione dei subsets delle cellule T CD8+. La stimolazione di cellule T con splenociti allogenici mostra una ridotta proliferazione delle CD8+ prive di recettore delle LDL, associata ad una riduzione della produzione di IFN γ ($p < 0.01$).

La risposta antigene-specifica dopo vaccinazione con ovalbumina, mostra che le cellule T CD8+ prive di recettore delle LDL presentano una ridotta proliferazione rispetto a quelle del WT ($p < 0.01$), oltre ad una ridotta produzione di IFN γ , IL13 e perforina ($p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$).

Per valutare se la diminuita proliferazione fosse una conseguenza di un ridotto apporto di colesterolo, fondamentale per supportare l'espansione delle cellule T, abbiamo fatto un'analisi dell'espressione di geni legati alla sintesi di colesterolo e un'analisi di lipidomica. Nelle cellule T CD3+ prive di recettore delle LDL risulta aumentato HMGC α -R e diminuita l'espressione di ABCA1 e ABCG1, un profilo associato ad un aumento degli intermedi del colesterolo quale il desmosterolo. Questi dati suggeriscono che le cellule T cercano di compensare il ridotto uptake di colesterolo favorendone la biosintesi. Parallelamente un'alterazione nel metabolismo del colesterolo può portare ad un signaling difettivo del TCR, infatti nelle cellule T CD3+ prive di recettore delle LDL la fosforilazione di Akt è risultata ridotta dopo stimolazione con antiCD3/antiCD28.

CONCLUSIONI: Il recettore delle LDL svolge un ruolo importante nelle risposte immunometaboliche linfocitarie.

PROPRIETÀ VASOPROTETTIVE DELLE HDL DI SOGGETTI CON DEFICIT GENETICO DI LCAT

Ossoli Alice¹, Gomaraschi Monica¹, Samuela Castelnovo², Sara Simonelli¹, Chiara Pavanello¹, Gloria Balzarotti¹, Marcello Arca³, Alessia Di Costanzo³, Tiziana Sampietro⁴, Gaetano Vaudo⁵, Damiano Baldassarre⁶, Fabrizio Veglia⁶, Guido Franceschini¹, Laura Calabresi¹.

1. Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari Università degli Studi di Milano. - 2. Centro Dislipidemie, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano. - 3. Dipartimento di Medicina Interna e Specialità mediche, Università degli Studi di ROMA "La Sapienza" - 4 Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, Pisa. - 5 Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Perugia. - 6. Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Milano.

Il deficit genetico di LCAT è caratterizzato da livelli plasmatici di colesterolo HDL decisamente ridotti, ma nonostante il profilo lipidico potenzialmente pro-aterogeno, i portatori non vanno incontro ad eventi cardiovascolari prematuri.

Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare le proprietà vasoprotettive delle HDL isolate dai portatori con deficit genetico di LCAT, costituite principalmente da particelle contenenti solo apoA-I (LpA-I), piccole e discoidali mentre le particelle di grandi dimensioni, sferiche e contenenti anche apoA-II (LpA-I:A-II) sono sensibilmente ridotte. Le HDL di portatori e controlli sono state isolate e testate in vitro per valutarne le proprietà vasoprotettive.

Le HDL dei portatori sono più efficienti delle HDL dei controlli nel promuovere l'attivazione dell'enzima eNOS con un effetto gene-dose dipendente (PTrend = 0.048). Di conseguenza, la produzione di NO indotta dalle HDL dei portatori risulta essere maggiore rispetto a quella promossa dalle HDL dei controlli (1.63 ± 0.24 vs. 1.34 ± 0.07 , $P = 0.031$). La maggior efficienza delle HDL dei portatori è dovuta alla riduzione di particelle LpA-I:LpA-II, infatti il rilascio di NO risente della composizione apolipoproteica: HDL sintetiche contenenti solo apoA-I promuovono maggiormente la produzione di NO rispetto a particelle contenenti sia apoA-I che apoA-II.

Le HDL dei portatori sono inoltre più efficienti rispetto alle HDL dei controlli nell'inibire l'espressione della molecola di adesione cellulare VCAM-1 (omozigoti, $65.0 \pm 8.6\%$; eterozigoti, $53.1 \pm 7.2\%$; controlli, $44.4 \pm 4.1\%$; PTrend = 0.0003).

L'aumentata capacità vasoprotettiva delle HDL evidenziata in vitro, si riflette in valori plasmatici di molecole di adesione cellulare e di flow-mediated vasodilation del tutto paragonabili tra controlli e portatori, nonostante in questi ultimi i valori di HDL-C siano estremamente più bassi. I risultati ottenuti suggeriscono che modificare la composizione apolipoproteica delle HDL potrebbe rappresentare un target terapeutico per aumentare la funzionalità di queste lipoproteine.

CONTRIBUTO DELLE LDL OSSIDATE SUL FENOTIPO DELLA CARDIOMIOPATIA ARITMOGENA

Ilaria Stadiotti¹, Lorenzo Arnaboldi², Simona De Metrio², Agnese Granata², Alessandro Scopece¹, Giuseppina Milano¹, Alberto Corsini², Claudio Tondo², Giulio Pompilio², Elena Sommariva¹

1 Unità di Biologia Vascolare e Medicina Rigenerativa, Centro Cardiologico Monzino IRCCS.

2 DISFeB, Università degli Studi di Milano.

La Cardiomiopatia Aritmogena (ACM) è una patologia genetica caratterizzata da aritmie e sostituzione fibro-adiposa ventricolare. Le mutazioni causative (es. nel gene *PKP2*) provocano difetti desmosomali che determinano l'attivazione di PPAR γ , il principale regolatore del processo adipogenico che si innesca nelle cellule mesenchimali stromali cardiache (C-MSK). Penetranza ed espressività variabili suggeriscono, però, il coinvolgimento di altri cofattori.

In una casistica di 34 pazienti ACM, abbiamo osservato un aumento dei livelli plasmatici di lipoproteine a bassa densità ossidate (oxLDL), rispetto a controlli sani comparati per sesso, età e fattori di rischio cardiovascolari (290.90 \pm 76.31 vs. 122.40 \pm 28.73 ng/ml; p=0.04). Confrontando i livelli di oxLDL di pazienti ACM e di loro famigliari mutati ma asintomatici, abbiamo ottenuto valori significativamente maggiori nei pazienti ACM (456.50 \pm 187.80 vs. 93.81 \pm 33.39 ng/ml; p=0.03). Si ipotizza quindi che dislipidemie e stress ossidativo siano cofattori dell'ACM.

Abbiamo osservato maggiore stress ossidativo su tessuto cardiaco di pazienti ACM rispetto a controlli (colorazione malondialdeide 20.26 \pm 6.54 volte più intensa; p=0.004). Inoltre, abbiamo dimostrato maggiori livelli di stress ossidativo (n=5; emissione di diclorofluoresceina 5.64 \pm 0.80 vs. 3.60 \pm 0.36; p=0.03) e una maggiore espressione di PPAR γ (2.79 \pm 1.32 volte; p=0.04) e di CD36 (3.81 \pm 2.40 volte), recettore delle oxLDL, nelle C-MSK ACM rispetto a C-MSK controllo.

Il trattamento con 13HODE, componente delle oxLDL e attivatore di PPAR γ , favorisce l'accumulo lipidico in C-MSK ACM (n=10; colorazione Oil Red O 49.20 \pm 9.31 vs. 62.42 \pm 11.94; p=0,03), mentre l'antiossidante N-acetilcisteina lo inibisce (n=10; colorazione Oil Red O 49.20 \pm 9.31 vs. 31.55 \pm 6.95; p=0,02). Inoltre, l'accumulo lipidico nelle cellule ACM procede in parallelo all'espressione di CD36 in membrana (n=5; R²= 0.93; p=0.03).

I topi *PKP2*^{+/-}, modello di ACM, non accumulano adipociti nel cuore, ma le loro C-MSK sono predisposte *in vitro* ad un maggiore accumulo lipidico rispetto ai controlli (n=5; colorazione Oil Red O 102.4 \pm 1.26 vs. 2.96 \pm 27.33; p=0.007). Poiché i topi presentano bassi livelli di colesterolo, ne abbiamo indotto l'aumento utilizzando una dieta ad alto contenuto di grassi e osservato sostituzione fibro-adiposa *in vivo* (n=7; colorazione Oil Red O 0.47 \pm 0.15% in *PKP2*^{+/-} vs. 0.11 \pm 0.01% in topi wild type; p=0.009).

I dati indicano che le oxLDL siano cofattori di patogenesi. Questo apre nuove prospettive per la prevenzione farmacologica dell' adipogenesi nell'ACM.

CARATTERIZZAZIONE DEI PAZIENTI PEDIATRICI CON IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE NELLO STUDIO LIPIGEN

M. Casula¹, A. Plastina¹, F. Galimberti¹, M. Arca², M. Averna³, S. Bertolini⁴, S. Calandra⁵, A.L. Catapano^{1,6}, P. Tarugi⁷, on behalf of the LIPIGEN Group

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

2 Università di Roma "La Sapienza". Azienda Policlinico Umberto I

3 Università degli Studi di Palermo A.O.U. Policlinico "P. Giaccone", Palermo

4 Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova

5 Dipartimento di Scienze Biomediche Metaboliche e Neuroscienze. Università di Modena e Reggio Emilia

6 IRCCS MultiMedica, via Milanese 300, 20099 Sesto S. Giovanni (MI)

7 Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

L'ipercolesterolemia familiare (FH) è un disturbo genetico comune, che implica l'esposizione ad alti livelli di colesterolo LDL (c-LDL) dalla nascita, con aterosclerosi accelerata ed eventi coronarici precoci. La presente analisi descrive le caratteristiche cliniche e genetiche della popolazione pediatrica FH afferente allo studio LIPIGEN (Llipid TransPort Disorders Italian GENetic Network).

Lo studio di LIPIGEN raccoglie dati clinici, biochimici e genetici di una popolazione di soggetti FH seguiti dai centri appartenenti al network LIPIGEN, che include centri specializzati nella gestione delle dislipidemie su tutto il territorio nazionale. Tra le informazioni raccolte, rientrano i risultati del sequenziamento di geni candidati.

La coorte LIPIGEN comprende 1145 pazienti pediatrici (<18 anni), di cui il 48,3% maschi. L'età media alla diagnosi era di 9,0 (DS 4,0) anni e il 21,4% dei pazienti era in età prescolare. Il livello medio di c-LDL registrato alla diagnosi era 219,7 (DS 104,0) mg/dL; il 57,8% dei pazienti aveva c-LDL>190 mg/dL, il 26,6% aveva c-LDL>250 mg/dL e il 5,9% aveva c-LDL>325 mg/dL. La presenza di xantomi è stata rilevata solo nel 3,6% dei casi. La storia familiare di malattia coronarica prematura era positiva nel 12,6% dei casi, mentre la prevalenza di ipercolesterolemia tra i membri della famiglia era del 91,5%. La maggior parte dei pazienti è stata sottoposta ad analisi genetica; nell'85,9% di essi è stata individuata una singola variante patogena in eterozigosi a carico del gene del recettore LDL (LDLR). In questi soggetti, il c-LDL medio era 240,1 (DS 87,9) mg/dL e la mediana 231,0 (IQR 192,0-272,0) mg/dL. Sono stati individuati 25 soggetti portatori di due varianti patologiche in eterozigosi al LDLR, con c-LDL che variava tra 155,0 e 1100,2 mg/dL. In 16 soggetti è stata trovata una variante patogena al LDLR in omozigosi: il loro c-LDL variava da 460,6 a 1029,0 mg/dL.

Questa analisi su una popolazione pediatrica con FH mostra una grande variabilità dei livelli di c-LDL e una prevalenza estremamente bassa dei segni clinici classicamente associati alla malattia nei portatori di mutazione. Nella maggior parte dei casi, la diagnosi di FH in età pediatrica presuppone una diagnosi di FH in un parente adulto.

MODELLI MULTILIVELLO PER LA STIMA DI CURVE IMT STANDARD CHE DEFINISCANO IL RISCHIO CARDIOVASCOLARE INDIVIDUALE

E. Olmastroni¹, A. Baragetti², E. Tragni¹, M. Casula¹, AL. Catapano^{1,3}, per conto del gruppo PLIC

¹Centro di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università di Milano, via Balzaretti 9, 20133 Milano, Italia

²Società Italiana per lo studio della Arteriosclerosi (SISA), Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo (MI), Italia

³IRCCS MultiMedica, via Milanese 300, 20099 Sesto S. Giovanni (MI), Italia

Obiettivo - Il presente studio ha come obiettivo quello di stimare delle curve standard per lo spessore medio-intimale (IMT) della parete carotidea aggiustando lo sviluppo nel tempo dell'IMT per i principali fattori di rischio cardiovascolare (CV), con lo scopo di fornire uno strumento che possa migliorare la pratica clinica e rendere più efficace la comunicazione del rischio CV dal medico al paziente.

Metodo e campione - Tra i soggetti inclusi nello "Studio sulla Progressione delle lesioni intimali carotidee" (studio PLIC), il cambiamento dell'IMT durante il periodo di studio (12 anni) è stato valutato mediante la definizione di curve di crescita individuali utilizzando un modello multilivello lineare a 2 livelli con le misurazioni ripetute (livello 1) nidificate nei soggetti (livello 2). Solo i pazienti che hanno svolto tutte e quattro le visite pianificate sono stati ritenuti idonei per lo studio. Tutti i soggetti con una diagnosi farmacologica di diabete o con un valore mancante delle misurazioni di IMT sono stati esclusi dal campione. Per l'analisi sono stati inclusi complessivamente 1277 individui.

Risultati - Sono state stimate le equazioni per l'IMT massimo e medio, modellate sui valori ottenuti dalla media delle misurazioni effettuate sul lato sinistro e destro della carotide e basate sulle caratteristiche della coorte PLIC. Sia l'IMT massimo che medio mostrato un forte aumento lineare dell'IMT medio con l'età. I livelli di colesterolo LDL, il glucosio e la presenza di placca, valutata su tutti i distretti della carotide, sono risultati associati con l'IMT medio in entrambe le curve. Inoltre, è stata osservata un'interazione tra età e sesso sulla crescita dell'IMT medio che indica che i maschi e le femmine mostrano un diverso pattern di crescita.

Conclusioni - Le curve stimate, aggiustate per alcuni fattori di rischio CV, offrono uno strumento utile per la valutazione di soggetti asintomatici a rischio intermedio, ma sottolineano anche la necessità di studi per valutare l'effetto della crescita dell'IMT sull'endpoint clinico e quindi il ruolo dell'IMT come marker surrogato di "danno d'organo".

STUDIO DELLE BASI EPIGENETICHE DELLE MALATTIE METABOLICHE LEGATE ALL'INVECCHIAMENTO IN MODELLI MURINI CON FEGATO UMANIZZATO

C. Peri, Monica Zocchi, N. Mitro, D. Caruso, E. De Fabiani, M. Crestani.

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

INTRODUZIONE: il progetto HUMAN nasce con lo scopo di studiare le principali varianti alleliche associate al rischio di malattie cardiometaboliche attraverso la generazione di modelli murini con fegato umanizzato. La rilevanza funzionale delle varianti alleliche dagli studi GWAS, infatti, non è stata ancora chiarita a causa della mancanza di modelli animali sufficientemente predittivi dell'impatto di questi polimorfismi sul metabolismo umano. I topi umanizzati, con varianti alleliche di protezione o rischio per la patologia, ed esposti a diete a basso o alto contenuto lipidico, vengono caratterizzati fenotipicamente e molecolarmente con approcci omici (epigenoma, trascrittoma, metaboloma, proteoma). I risultati vengono integrati per rilevare differenze dei circuiti di regolazione conseguenti alle diverse varianti alleliche analizzate e per valutare la loro rilevanza nel rischio di sviluppare malattie cardiometaboliche.

SCOPO: il nostro lavoro è incentrato sullo studio dell'epigenoma dell'animale valutando la presenza di marcatori istonici tramite immunoprecipitazione della cromatina seguita dal sequenziamento dei frammenti di genoma immunoprecipitato (ChIP-seq).

RISULTATI: in questa fase, lo studio si è concentrato sull'implementazione del protocollo di immunoprecipitazione per ottenere DNA di qualità e quantità sufficienti per il sequenziamento, a partire da tessuto di fegato umanizzato. I marcatori istonici considerati sono: la lisina 4 trimetilata dell'istone H3 (H3K4me3), normalmente presente nelle regioni prossime al punto di inizio di trascrizione di geni attivi, la lisina 27 acetilata dell'istone H3, marcatore di enhancer e promotori attivi. Il protocollo, validato tramite qPCR, ha dimostrato che l'immunoprecipitazione risulta specifica. Gli arricchimenti, valutati su diverse regioni del genoma umano, hanno rivelato valori, per H3K4me3, in un intervallo dal 10 al 20% sul genoma totale mentre, per H3K27ac, i valori di arricchimento sono tra 8 e 14% del genoma totale. I risultati del sequenziamento hanno poi dimostrato che il profilo e la localizzazione dei picchi per H3K27ac si trovano in corrispondenza di enhancer e promotori attivi.

CONCLUSIONI: il protocollo di immunoprecipitazione della cromatina seguito da sequenziamento del DNA genomico si è rilevato idoneo allo studio di marcatori istonici da modelli murini con fegato umanizzato. La metodologia verrà utilizzata per valutare i cambiamenti nei marcatori epigenetici globali in topi con fegato umanizzato recanti varianti alleliche di rischio cardiometabolico e sottoposti a diete a basso o alto contenuto lipidico.

Lo studio integrato permetterà di identificare il meccanismo regolatorio globale che si verifica in individui con predisposizione o protezione per patologie metaboliche.

(FINANZIAMENTO FP7 602757 HUMAN)

IL RUOLO DELLE RISPOSTE IMMUNITARIE ADATTATIVE NELLA CARDIOMIOPATIA DILATATIVA: MECCANISMO PATOGENETICO E POTENZIALE TERAPEUTICO

Marinos Kallikourdis¹, Daniele Catalucci²

1 Fondazione Humanitas per la Ricerca, Rozzano 20089, Italy

2 Consiglio Nazionale delle Ricerche, Rozzano, Italy

Lo scompenso cardiaco è una delle principali cause di ospedalizzazione, morbilità e mortalità nel mondo occidentale. Recenti evidenze hanno dimostrato che il sistema immunitario è coinvolto nella patogenesi dell'insufficienza cardiaca dovuta a sovraccarico di pressione. I dettagli meccanicistici del legame tra l'immunità e scompenso cardiaco, però, non sono ancora sufficientemente descritti. Questo si riflette nel fallimento delle prime sperimentazioni cliniche che hanno tentato di bersagliare citochine infiammatorie come strategia terapeutica per lo scompenso cardiaco. Il nostro progetto ha l'obiettivo di comprendere se il sistema immunitario adattativo (ed in particolare i linfociti T) abbia invece un ruolo determinante nella progressione della patologia. Questa ipotesi nasce da dati ottenuti nel nostro laboratorio che suggeriscono come le funzioni del sistema immunitario adattativo non siano completamente ottimizzate nella protezione dei tessuti, soprattutto in malattie che insorgono in età avanzata.

Gli obiettivi del progetto prevedono quindi una completa ed approfondita caratterizzazione immunologica della patologia cardiaca, considerando il coinvolgimento di mediatori cellulari e solubili, che possono essere nuovi bersagli terapeutici per il trattamento dello scompenso cardiaco. Sfruttando i risultati di quest'analisi, il progetto ha l'ulteriore obiettivo di dimostrare che il sistema immunitario adattativo ha un ruolo determinante nella progressione della malattia. Questo potrebbe essere il primo passo per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche. Il progetto, che è tuttora in corso, ha già prodotto dei risultati descritti in un recente lavoro pubblicato sulla rivista ad alto impatto Nature Communications (Kallikourdis et al., 2017).

INTERAZIONE TRA LA LUNGA PENTRAXINA PTX3 E IL SISTEMA DEL COMPLEMENTO NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA AD ASPERGILLUS FUMIGATUS

Parente Raffaella¹, Petroni Francesca¹, Stravalaci Matteo², Porte Remi², Sironi Marina¹, Valentino Sonia¹, Leone Roberto¹, Bottazzi Barbara¹, Mantovani Alberto^{1,2}, Inforzato Antonio¹

1Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano, Italy; 2Humanitas University, Rozzano, Italy; 3Department of Medical Biotechnologies and Translational Medicine, University of Milan, Rozzano, Italy.

Il fungo opportunistico *Aspergillus fumigatus* (AF) è l'agente eziologico di aspergillosi invasiva, un'infezione pericolosa per individui immunocompromessi. La risposta dell'ospite ad AF è sostenuta principalmente da componenti sia cellulari che umorali dell'immunità innata, inclusi i neutrofili polimorfonucleati (PMN) e il sistema del complemento. La lunga pentraxina PTX3 è una molecola di riconoscimento del pattern solubile che collabora con il sistema del Complemento e con i neutrofili e migliora l'opsonofagocitosi e l'uccisione di AF [1].

Una parte del nostro progetto riguarda lo studio del meccanismo molecolare che coinvolge PTX3 e il complemento nella risposta immunitaria ad AF. A questo scopo ci siamo avvalsi di tecniche che prevedono l'uso del citofluorimetro, abbiamo sviluppato particolari sistemi di ELISA, ed elettroforesi.

Abbiamo scoperto che PTX3 inibisce l'interazione di AF con il fattore H (FH, il principale inibitore solubile del Complemento), si ipotizza che questa interazione sia una strategia di evasione immunitaria adottata da AF. Ciò è dovuto alla competizione per i siti comuni di legame sulla parete di AF e viene ricapitolata dal dominio N-terminale di PTX3. Coerentemente con questo, l'attività cofattoriale di FH su AF (taglio proteolitico di C3b in iC3b mediato da fattore I) è inibita da PTX3 e dal suo N-terminale. Inoltre, abbiamo osservato che PTX3 forma un complesso stabile con C3b in modo dipendente da FH, e recluta C3b su AF conidia.

Dato che C3b è un'opsonina prototipica del complemento (riconosciuta dal recettore fagocitico CR1), proponiamo che PTX3 aumenta la deposizione di C3b su AF mediante un nuovo meccanismo dipendente da FH, contrastando così le strategie di fuga del complemento di questo fungo e migliorando la sua fagocitosi da parte dei neutrofili.

[1]. Cunha et al (2014) N Engl J Med 370(5):421-32

PROPROTEIN CONVERTASE SUBTILISIN/KEXIN TYPE 9 (PCSK9) NEL METABOLISMO CARDIACO

L. Da Dalt¹, G. Balzarotti¹, M. Audano¹, N. Mitro¹, A.L.Catapano^{1,2}, G.D.Norata^{1,2}

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università di Milano, Milano, Italia;

2 Centro SISA, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia;

Introduzione: La Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) è una glicoproteina rilasciata in circolo principalmente dal fegato che interagisce e regola l'omeostasi dei recettori della famiglia LDL e CD36.

La mancanza di PCSK9 porta quindi a una ridotta degradazione dei recettori della famiglia delle LDL, che presenti in numero maggiore nella membrana cellulare, mediano un accumulo di metaboliti tossici (acidi grassi a lunga catena, diacilgliceroli, triacilgliceroli e ceramidi) nei cardiomiociti, portando a lipotossicità cardiaca.

Scopo: Lo scopo di questo lavoro è quello di studiare il ruolo di PCSK9 nella fisiologia cardiaca con particolare attenzione al metabolismo mitocondriale ed alla funzionalità cardiaca.

Metodi: Analisi di metabolomica e analisi della respirazione mitocondriale su cuori di topi WT, PCSK9 KO e Albumincre-PCSK9 KO condizionale (un modello privo di espressione epatica di PCSK9) a dieta SFD (Standard Fat Diet – 10% grassi) per 20 settimane. Su questi campioni è stata effettuata anche la quantificazione di proteine mitocondriali tramite Western Blot.

Risultati: La mancanza di PCSK9 porta ad un accumulo di acidi grassi legati agli shuttle della carnitina (C8; $0,066 \pm 0,047$ Vs $0,195 \pm 0,035$ e C12; $0,021 \pm 0,018$ Vs $0,11 \pm 0,069$ pg/ug di proteina, $p < 0,05$), indicando una possibile riduzione della beta-ossidazione. Topi PCSK9 KO e Albcre-PCSK9 KO mostrano ridotti livelli di glucosio 6-P, ribosio-5P e erythrose-4P, associati ad aumentato flusso glicolitico. Un'analisi degli intermedi del ciclo di Krebs ha mostrato riduzione di intermedi negli animali PCSK9 KO (Citrato; $6,111 \pm 2,429$ Vs $3,593 \pm 1,103$, α -chetoglutarato; $105,205 \pm 42,056$ Vs $59,657 \pm 23,939$, $p < 0,05$). L'analisi WB dei lisati cellulari dei cuori dei PCSK9 KO ha mostrato una ridotta espressione di proteine chiave della catena di trasporto degli elettroni (complessi 1, 2 e 3), che è risultata associata ad alterato consumo di ossigeno legato alla respirazione cellulare.

Conclusioni: I nostri dati suggeriscono che la mancanza di PCSK9 si associa ad uno switch metabolico cardiaco da beta ossidazione a glicolisi e pongono le basi per approfondire il quadro di funzionalità cardiaca nei deficit di PCSK9.

[Progetto Cariplo 2016-0852]

AGED-RELATED OBESITY AND CHRONIC INFLAMMATION: UNDERSTANDING THE RELEVANCE AND PATHOPHYSIOLOGY OF LACTATE

M. Ruscica¹, A. Baragetti^{1,2}, F. Bonacina¹, C. Macchi¹, M. Botta¹, P. Magni¹, V. Pucino³, M. Bombardieri³, C. Pitzalis³, K. Garlaschelli², A.L. Catapano^{1,4}, C. Mauro³, G.D. Norata^{1,2}

¹Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy; ²SISA Center for the Study of Atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello Balsamo, Italy; ³Barts and The London School of Medicine and Dentistry, William Harvey Research Institute, Queen Mary University of London, London, United Kingdom; ⁴IRCCS Multimedica Hospital, Sesto San Giovanni, Milan, Italy.

Introduzione: L'obesità e le condizioni metaboliche a esse associate (es; diabete mellito tipo 2) sono caratterizzate da una risposta infiammatoria cronica di basso grado. Le cellule immunitarie, comprendenti macrofagi e linfociti che infiltrano il tessuto adiposo favoriscono l'espansione e l'attivazione del tessuto adiposo. Infatti, i soggetti obesi presentano aumentati livelli circolanti di linfociti T di memoria effettrice, se paragonati ai soggetti sovrappeso e normopeso.

Scopo: Il presente progetto si pone l'obiettivo di capire, in un contesto di infiammazione cronica di basso grado, (i) come un pattern metabolico alterato possa influenzare la risposta immunitaria innata e adattata, e (ii) quale sia l'importanza del trasportatore del lattato e dei suoi canali (Slc5a12 and Slc16a1) nell'infiammazione mediata dalle cellule T.

Risultati: I canali del lattato Slc5a12 and Slc16a1 sono rispettivamente espressi nei linfociti T CD4⁺ e CD8⁺. La popolazione dello studio PLIC comprendente 2.606 soggetti (42% maschi e 58% donne) è stata genotipizzata rispettivamente per i polimorfismi dei canali del lattato rs995343 (Slc16a1) e rs138192976 (Slc5a12; variante missenso); la frequenza allelica della prima isoforma genica è risultata essere concorde con l'equilibrio di Hardy-Weinberg. ($\chi^2= 0.082$), mentre non è stato riscontrato nessun individuo portatore dell'allele raro per la seconda variante. Per quanto riguarda il polimorfismo rs995343 (variante intronica), il 41,6% della popolazione presentava una mutazione in eterozigosi per l'allele ancestrale (TC) e il 23,1% in omozigosi (CC). Sussistendo quindi un solido presupposto scientifico, utilizzando un'analisi *in silico* (Genotype-Tissue Expression - GTEx), si è trovato come il canale del lattato Slc16a1 fosse espresso in modo ubiquitario (fibroblasti, ventricolo sinistro, muscolo scheletrico); nel tessuto adiposo viscerale e sottocutaneo il valore di RPKM (reads per kilobase per million mapped reads) è $> \log 5$. Sempre dall'analisi *in silico* si evince come la presenza dell'allele mutato corrisponda a una maggiore espressione del canale nel tessuto adiposo. In merito allo studio del canale Slc5a12, studi condotti dal partner straniero, hanno evidenziato come l'utilizzo di un anticorpo specifico contro Slc5a12 bloccava la migrazione dei linfociti T mediata dalla stimolazione sia del lattato che della citochina CXCL10.

L'ISTONE DEACETILASI 3 È UN FRENO MOLECOLARE DEL METABOLISMO CHE SOSTIENE LA TERMOGENESI NEL TESSUTO ADIPOSO BIANCO

Raffaella Longo¹, Alessandra Ferrari^{1,5}, Erika Fiorino¹, Rui Silva¹, Nico Mitro¹, Gaia Cermenati¹, Federica Gilardi³, Béatrice Desvergne³, Annapaola Andolfo⁴, Cinzia Magagnotti⁴, Donatella Caruso¹, Emma De Fabiani¹, Scott W. Hiebert² e Maurizio Crestani¹

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti, 9 20133, Milano. - ² Department of Biochemistry, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN 37232, USA - ³Centre Intégréatif de Génomique, Université de Lausanne, Lausanne 1015, Switzerland. - ⁴ ProMiFa, Protein Microsequencing Facility, San Raffaele Scientific Institute, Milano 20132, Italy. - ⁵Present address: Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of California Los Angeles, Los Angeles, CA 90095, USA.

INTRODUZIONE E RISULTATI PRELIMINARI: L'obesità e le complicanze cardiovascolari associate costituiscono un'emergenza socio-sanitaria. Per questa ragione, numerosi studi sono volti a comprendere la fisiologia del tessuto adiposo. Il tessuto adiposo bruno suscita notevole interesse per la sua capacità di bruciare grassi e produrre calore, un processo definito termogenesi. Anche il tessuto adiposo bianco può acquisire questa funzione, in un fenomeno definito "browning", in risposta a specifici stimoli ambientali (es. freddo). In modelli preclinici l'induzione del browning può contrastare l'obesità e le sue complicanze, quindi molte ricerche hanno lo scopo di approfondire lo studio di questi meccanismi per identificare una possibile strategia terapeutica. Nel nostro laboratorio abbiamo dimostrato che l'inibizione di istone deacetilasi (HDAC) di classe I, una famiglia di modificatori dell'epigenoma, riduce il peso e migliora la tolleranza al glucosio in topi obesi. Studi in vitro hanno dimostrato che HDAC3 è il principale attore di questi effetti.

SCOPO: Alla luce di queste osservazioni, abbiamo voluto verificare il ruolo della HDAC3 nella fisiologia del tessuto adiposo in un modello murino.

METODI: Per studiare il ruolo di HDAC3 nel tessuto adiposo, abbiamo generato una linea murina con delezione di Hdac3 nel tessuto adiposo (H3atKO). Il fenotipo del modello murino è stato determinato mediante analisi di espressione genica con qPCR e RNA-seq, epigenomica (immunoprecipitazione della cromatina) e metabolomica.

RISULTATI: La delezione di Hdac3 causa browning del tessuto adiposo sottocutaneo, che si traduce in una maggiore capacità dei topi H3atKO di mantenere la temperatura corporea in seguito ad esposizione al freddo (temperatura corporea dopo 24 h di esposizione al freddo nei topi WT $34,7 \pm 0,30$ vs topi H3atKO $35,8 \pm 0,21$). Analisi del trascrittoma e del metaboloma rivelano l'instaurarsi di un ciclo futile di lipolisi, β -ossidazione e lipogenesi con aumentata espressione di geni importanti per la lipolisi, β -ossidazione (livelli proteici di ACADL $1,0 \pm 0,23$ in topi WT vs $13,1 \pm 1,46$ in topi H3atKO) e lipogenesi (livelli di mRNA di Chrebp β $1,0 \pm 0,40$ in topi WT vs $6,0 \pm 1,98$ in topi H3atKO) e, parallelamente, ridotti livelli di acidi grassi (μg palmitato/mg proteine: $109,0 \pm 14,3$ in topi WT vs $70,3 \pm 8,23$ in topi H3atKO). Il ciclo futile del metabolismo degli acidi grassi sostiene la termogenesi. Infine, l'ablazione di Hdac3 rimodella selettivamente regioni della cromatina che regolano Pparg, Ppara e Ucp1 (livelli di acetilazione H3K27 di Pparg enhancer $10,4 \pm 0,94$ in topi WT vs $20,8 \pm 2,68$ in topi H3atKO).

CONCLUSIONI: I nostri risultati rivelano che l'ablazione adiposo-specifica di Hdac3 riprogramma l'espressione genica e il metabolismo a supporto del browning del tessuto adiposo bianco e suggeriscono che HDAC3 svolga un ruolo critico nella fisiologia del tessuto adiposo.

Finanziato da FP7 NR-NET PITN-GA-2013-606806 e da CARIPLO Foundation 2015-0641

RUOLO IMMUNOMETABOLICO DELL'APOLIPOPROTEINA E: FOCUS SUL METABOLISMO DEL COLESTEROLO NELLE CELLULE IMMUNITARIE

F. Bonacina¹, D. Coe², G. Wang², A. Baragetti^{1,3}, K. Garlaschelli², F. Pellegatta², L. Grigore², F. Marelli-Berg², G.D. Norata^{1,2,3}, A.L. Catapano^{1,4}

1 Dipartimento di scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli studi di Milano, Milano;

2 William Harvey Research Institute, Queen Mary University, London, UK;

3 Centro SISA, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italy;

4 IRCSS Multimedica, Milano.

Le malattie cardio-metaboliche sono caratterizzate da una latente attivazione del sistema immunitario che concorre alla progressione e complicazione della patologia. Non è ancora chiaro se questa correlazione sia la conseguenza di un aumento dei lipidi circolanti o di un'alterazione del metabolismo lipidico intracellulare.

Scopo del nostro lavoro è quello di studiare il ruolo di proteine chiavi del metabolismo lipidico, come l'apolipoproteina E (apoE), nell'influenzare la risposta immunitaria.

Analisi di citofluorimetria hanno mostrato come topi apoE KO presentino un aumento dei livelli di linfociti ad attività effettrice TEM(CD4+CD44+CD62L-, $p<0,05$) a livello di milza e linfonodi rispetto a WT. Il confronto della risposta immunitaria in vivo tramite un approccio di allotrapianto ha mostrato come gli apoE KO presentino un rigetto più veloce, associato ad un aumento di TEM e alla capacità migratoria dei linfociti verso CXCL10, una chemochina pro-infiammatoria. L'analisi del rigetto in seguito ad allotrapianto, eseguito in topi WT e apoE KO sottoposti a trapianto di midollo osseo da donatori WT o apoE KO, ha rivelato che il fenotipo osservato deriva dalla mancanza di apoE a livello mieloide ($p<0,05$) e sia indipendente dall'ipercolesterolemia. Tra le cellule di origine mieloide apoE viene espressa da macrofagi e cellule dendritiche (DCs) ma non dai linfociti T e la sua mancanza si associa con un'aumentata abilità delle DCs di indurre la proliferazione di linfociti T alloigenici ($p<0,01$), ma nessuna differenza si osserva nella proliferazione di linfociti T isolati da WT e apoE KO indotta da DCs alloigeniche($p=n.s.$).

Nell'uomo abbiamo caratterizzato i linfociti CD4+ circolanti tramite citofluorimetria in funzione delle isoforme dell'apolipoproteina E umana in soggetti derivanti dalla popolazione generale (studio PLIC): 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 co-cultura tra linfociti CD4+ e DCs derivate da monociti isolati da sangue intero, mostrano un aumento della polarizzazione dei linfociti verso TEM nei carrier dell'isoforma ApoE4.

Complessivamente questi dati suggeriscono che l'apoE derivata dalle DCs svolga un ruolo importante nell'attivazione della risposta immunitaria tramite il suo ruolo di modulatore del metabolismo colesterolo sia a livello sistemico che cellulare.

MECCANISMI EPIGENETICI COINVOLTI NELLA REGOLAZIONE DEL SISTEMA IMMUNITARIO DURANTE L'INVECCHIAMENTO

Valentina Petrocelli¹, Federica Greco¹, Federica La Mastra¹, Federica Alberghini¹, Mitsuo Maruyama², Stefano Casola¹

1 IFOM-Istituto FIRC di Oncologia Molecolare, Milano)

2 Dipartimento dei meccanismi di Invecchiamento, Istituto NCGG 7-430, Morioka-cho, Obu, Aichi, Giappone

Il sistema immunitario è deputato alla protezione del nostro organismo da parte di agenti microbici e ambientali a cui siamo quotidianamente esposti. In particolare, i linfociti B svolgono un ruolo essenziale nella neutralizzazione di virus e batteri grazie al loro riconoscimento e alla produzione di anticorpi capaci di prevenire la loro disseminazione nel nostro organismo. Obiettivo primario del nostro studio è comprendere le basi molecolari che determinano la disfunzione sofferta dai linfociti B durante l'invecchiamento. Tali disturbi rappresentano una delle cause principali delle difficoltà dell'anziano di proteggersi da infezioni virali e batteriche, altrimenti innocue, che diventano spesso letali. A tal riguardo, il nostro interesse si è focalizzato su una famiglia di proteine, dette Polycomb deputate alla regolazione dell'espressione genica attraverso la modulazione dello stato di compattazione della cromatina. Studi precedenti hanno ipotizzato un ruolo attivo delle proteine Polycomb nella protezione dell'organismo dall'invecchiamento funzionale di tessuti e organi. Questi studi dimostrano che le proteine Polycomb ritardano l'invecchiamento reprimendo l'espressione di geni associati alla senescenza cellulare. L'espressione delle proteine Polycomb si riduce con l'età, aumentando, di conseguenza, la percentuale di cellule senescenti non-funzionali che si accumula in organi e tessuti vitali. Le proteine Polycomb sono anche espresse in linfociti B reclutati in risposte immuni dirette contro virus e batteri per la produzione di anticorpi diretti a neutralizzare il patogeno.

Tali risposte si indeboliscono nell'anziano, possibilmente in seguito ad una ridotta funzionalità delle proteine Polycomb. Il presente progetto si pone come obiettivo lo studio, in modelli murini, degli effetti sulla risposta immunitaria mediata da linfociti B, dell'inattivazione funzionale di componenti della famiglia delle proteine Polycomb. Le ricerche mireranno a definire le basi molecolari legate al depotenziamento dei linfociti B in seguito ad inattivazione delle proteine Polycomb e al monitoraggio di una possibile senescenza anticipata della risposta immunitaria mediata da anticorpi legata alla perdita funzionale delle proteine Polycomb. Lo studio verrà completato da esperimenti nel modello murino mirati a verificare l'efficacia di un potenziamento dell'attività delle proteine Polycomb in linfociti B nel ritardare/bloccare l'invecchiamento funzionale del sistema immunitario tipico dell'anziano.

IL MIDOLLO OSSEO COME ORGANO CHIAVE NELLA SINDROME DELL'ANZIANO FRAGILE

Gaia Spinetti¹, Rosa Vono², Elena Sangalli¹, Claudia Specchia^{1,3}, Franco Carnelli¹, Paolo Madeddu²

1 Gruppo MultiMedica; 2 Fondazione MultiMedica Onlus; 3 Università di Brescia.

Questo studio nasce dall' esigenza di comprendere i determinanti cellulari e molecolari specifici che possano guidare un'applicazione mirata di strategie preventive e curative dell'anziano fragile. La fragilità dell'anziano è una condizione invalidante ancora poco studiata caratterizzata da diminuzione della massa muscolare ed ossea con conseguente riduzione della mobilità e rischio di fratture. La depressione del sistema immuno-neuro-endocrino predispone ad infezioni e declino cognitivo. Il nostro gruppo ha dimostrato che in pazienti diabetici con aterosclerosi periferica la diminuzione e l'alterazione funzionale di cellule staminali CD34+ midollari è associata a vulnerabilità cardiovascolare e mortalità. Dati di letteratura dimostrano che l'attività fisica ripristina la disponibilità/funzionalità di tali cellule. La nostra ipotesi originale è che un deterioramento funzionale del microambiente del midollo osseo, fonte principale di cellule staminali, rappresenti il meccanismo causale della fragilità. Proponiamo quindi di migliorare la fragilità attraverso interventi di riabilitazione. Stiamo quindi conducendo uno studio osservazionale su pazienti con più di 65 anni che si rivolgono alla Ortopedia per arto protesi coxo-femorale articolato in due fasi. Nella prima fase retrospettiva 60 pazienti che erano stati arruolati in uno studio pregresso condotto dal nostro gruppo saranno invitati a partecipare al nuovo studio che analizza la fragilità e la sua associazione tra le conte di progenitori midollari e periferici. Nella seconda fase prospettica sarà arruolata una nuova coorte di pazienti divisa in due gruppi: 1) 36 soggetti che si sottopongono ad intervento di protesi d'anca e 2) 36 soggetti che seguono la terapia di controllo del dolore. La fragilità ed i livelli di cellule rigenerative circolanti saranno misurati al basale e ad 1 anno di follow-up. Solo nel gruppo che si sottopone ad intervento sarà prelevato un campione di midollo osseo per misurare le cellule rigenerative midollari. Questi pazienti andranno incontro a riabilitazione motoria post-intervento il che permetterà di valutare l'effetto dell'attività fisica sulla numerosità di cellule rigenerative e sulla fragilità. Prevediamo di correlare le alterazioni quantitative e funzionali di cellule progenitrici CD34+ nel midollo osseo alla fragilità e di individuare percorsi di intervento riabilitativo al fine di ripristinare la fitness del midollo osseo e dell'intero corpo.

BPIFB4 E LE SUE ISOFORME: POSSIBILE FATTORE DI RISCHIO GENETICO E NUOVO APPROCCIO TERAPEUTICO PER IL TRATTAMENTO DELLA SINDROME DI FRAGILITA'

Chiara Carmela Spinelli¹, Anna Ferrario¹, Francesco Villa¹, Anna Maciag¹, Albino Carrizzo², Carmine Vecchione², Paolo Beltrami³, Annibale Puca^{1,2}

1 Gruppo Multimedica, Milano, 2 Università di Salerno, 3 Università di Udine.

Gli individui longevi sono in grado di ritardare il processo d'invecchiamento e la fragilità associata all'età. L'isoforma LAV (LongevityAssociatedVariant) della proteina BPIFB4 è in grado di attivare eNOS, migliorare la funzione endoteliale, ridurre la pressione sanguigna e stimolare il reclutamento delle cellule progenitrici endoteliali. L'isoforma RV (Rare Variant) invece ha effetti opposti sulla funzionalità vascolare e sulla pressione. Con questo studio ci proponiamo di stabilire una correlazione tra le varie isoforme di BPIFB4 e la sindrome di fragilità: mentre RV-BPIFB4 potrebbe costituire un fattore di rischio genetico per il suo sviluppo, l'espressione di LAV-BPIFB4 potrebbe rappresentare un nuovo approccio terapeutico in grado di agire sulla capacità di risposta agli stress, la disponibilità e la funzionalità delle cellule staminali, l'alterazione di questi processi è infatti alla base dello sviluppo della sindrome di fragilità.

Gli obiettivi di questo progetto sono: 1) chiarire i meccanismi molecolari attraverso i quali LAV-BPIFB4 esercita i suoi effetti benefici sul sistema vascolare dei topi anziani; 2) definire il ruolo della proteina endogena BPIFB4 e dell'isoforma LAV-BPIFB4 nei processi di self-renewal e differenziamento delle cellule progenitrici endoteliali (EPCs) e delle cellule staminali cardiache (CSCs); 3) esplorare la correlazione tra l'espressione delle varie isoforme di BPIFB4, la disponibilità in circolo di EPC e la progressione della sindrome di fragilità nei modelli di topo e nella popolazione umana di anziani.

Ci aspettiamo che l'isoforma LAV-BPIFB4: moduli l'indice di fragilità nei topi anziani, riducendo i livelli di stress ossidativo e del reticolo endoplasmatico a livello vascolare e aumentando la disponibilità di EPC in circolo; riduca lo stress ossidativo e del reticolo endoplasmatico in modelli cellulari umani di HUVEC e VSMC; moduli la capacità clonogenica e differenziativa delle cellule staminali cardiache umane; sia associata ad una riduzione dell'indice di fragilità e ad un aumento della disponibilità di EPC in circolo nell'uomo. Ci aspettiamo inoltre che l'isoforma RV-BPIFB4 possa essere invece associata ad un incremento dell'indice di fragilità e ad una riduzione del numero di EPC in circolo nell'uomo.

EFFETTO DI UNA RIDOTTA SINTESI DI ACIDI GRASSI SUI LIVELLI DI STEROIDI NEURO-ATTIVI NEL NERVO SCIATICO.

S. Pedretti, R. Spezzano, M. Maldini, M. Audano, S. Giatti, M. Pesaresi, R. C. Melcangi, D. Caruso and N. Mitro

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

Introduzione: La neuropatia periferica è una complicanza del diabete che colpisce i nervi periferici. Questa patologia è caratterizzata da alterazioni dei lipidi che compongono la mielina, modificando così la conduzione dell'impulso nervoso. Abbiamo dimostrato che il diabete, riducendo i livelli di Sterol Regulatory Element-Binding Protein-1c (SREBP-1c), fattore che controlla la sintesi degli acidi grassi, modifica la composizione lipidica della mielina. In ratti diabetici, il trattamento con steroidi neuroattivi (SN), molecole derivanti dal colesterolo con funzione neuroprotettiva, ripristina i livelli di SREBP-1c e la composizione lipidica della mielina, suggerendo un'interazione fra la via di sintesi degli acidi grassi e gli SN. Inoltre, il topo knock-out per SREBP-1c (SREBP-1cKO), sviluppa neuropatia periferica durante l'invecchiamento.

Scopo: Valutazione dei livelli di SN nel plasma e nel nervo sciatico di topi maschi SREBP-1cKO a due e a dieci mesi di età per valutare l'eventuale interazione fra la via di sintesi degli acidi grassi e degli SN.

Materiali e metodi: Abbiamo utilizzato cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS) per valutare i livelli di SN e real-time PCR quantitativa per l'espressione genica.

Risultati: A due mesi, nei nervi sciatici di topi SREBP-1cKO, si riscontra un aumento dei livelli di pregnenolone (Wt: $2,5 \pm 0,49$; SREBP-1cKO: $7,6 \pm 0,3$ pg/mg di tessuto), associati ad una diminuzione di progesterone (Wt: $2,7 \pm 0,28$; SREBP-1cKO: $0,26 \pm 0,1$ pg/mg di tessuto) e dei suoi metaboliti diidroprogesterone e isopregnenolone. Inoltre, i livelli di testosterone risultano anch'essi aumentati (Wt: $0,8 \pm 0,2$; SREBP-1cKO: $4,5 \pm 1,3$ pg/mg di tessuto). Questi risultati sono supportati dall'indotta espressione dell'enzima P450scc, che catalizza la prima reazione della steroidogenesi da colesterolo a pregnenolone. A 10 mesi, invece, i livelli di pregnenolone risultano diminuiti (Wt: $3,5 \pm 0,5$; SREBP-1cKO: $1,8 \pm 0,2$ pg/mg di tessuto) mentre i metaboliti diidroprogesterone, tetraidroprogesterone e isopregnenolone sono aumentati. L'analisi dell'espressione genica a 10 mesi mostra una diminuita espressione di P450scc e un aumento degli enzimi coinvolti nella produzione dei metaboliti. Nel plasma dei topi SREBP-1cKO non si osservano cambiamenti nei livelli di pregnenolone e progesterone rispetto ai controlli suggerendo un effetto localizzato al nervo sciatico.

Conclusione: I nostri dati dimostrano un diretto collegamento tra la sintesi degli acidi grassi e i livelli di SN.

STUDY OF TARGET-INDUCED microRNA DEGRADATION AND COMPETING ENDOGENOUS RNA MECHANISM BY CRISP/Cas9 MEDIATED DELETION OF HIGH AFFINITY TARGET SITES

Francesco Ghini, Ines Simeone, Carmela Rubolino, Matteo J Marzi e Francesco Nicassio

Istituzione: Center for genomic science of IIT@SEMM, Istituto Italiano di Tecnologia (IIT); Via Adamello 16, 20139, Milano.

I miRNA agiscono a livello post-trascrizionale modulando l'espressione di centinaia di geni simultaneamente e in questo modo definiscono l'identità e le proprietà cellulari. L'azione dei miRNA richiede l'interazione, basata su complementarità di sequenza, con i geni target, in regioni definite "elementi di responsività al miRNA" (MRE), causando la degradazione del target e/o l'inibizione della sintesi proteica. Questo progetto si focalizza sui meccanismi molecolari che coinvolgono l'interazione dei miRNA con i geni target e ne possono modulare la funzione in fisiologia e patologia. Recentemente si è iniziato a comprendere che l'interazione miRNA:target può avere effetti bidirezionali (in altri termini, anche i target possono influenzare l'attività dei miRNA). Questo può avvenire tramite almeno due meccanismi: la degradazione (indotta dall'espressione di particolari target) e la competizione (in cui un target in eccesso, detto ceRNA, sequestra il miRNA riducendone l'attività verso gli altri target). In uno studio precedente abbiamo osservato che i target endogeni ad alta affinità e concentrazione sono fortemente correlati ai miRNA più instabili. Per verificare sperimentalmente questa ipotesi abbiamo adattato una recente tecnologia di manipolazione genomica (CRISPR/Cas9) allo studio del legame miRNA:target. Nel dettaglio, la nostra strategia è finalizzata a rimuovere dal genoma la regione di responsività al miRNA in uno specifico target ("MRE-KO"), in modo da valutarne inequivocabilmente il ruolo nella regolazione della stabilità (degradazione) o attività (competizione) del miRNA corrispondente.

Combinando un approccio computazionale e l'analisi di dati di sequenziamento di miRNA e targets in un sistema cellulare modello, abbiamo selezionato una coppia miRNA:target di interesse e generato, tramite CRISPR/Cas9 dei cloni cellulari che portano una delezione bi-allelica del sito di legame al miRNA (cloni "MRE_KO"). Tramite tecniche ad alta risoluzione (trascrittoma e mirnoma), abbiamo verificato che il miRNA si accumula maggiormente nei cloni MRE_KO rispetto alle cellule parentali, poiché soggetto a minore degradazione. Inoltre anche l'attività del miRNA risulta incrementata nei cloni MRE_KO, con una maggiore repressione degli altri target del miRNA.

ALTERAZIONI DEL PROFILO CARDIO-METABOLICO IN SOGGETTI PORTATORI DELLA MUTAZIONE R46L DEL GENE PCSK9

Baragetti A^{1,2}, Zampoleri V^{1,2}, Grejtakova D³, Uboldi P¹, Garlaschelli K², Balzarotti G¹, Grigore L^{2,3}, Pellegatta F^{2,3}, Guerrini U¹, Pisano G⁴, Fracanzani AL⁴, Fargion S⁴, Norata GD^{1,5}, Catapano AL^{1,3}

1Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy. 2 SISA Center for the Study of Atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello Balsamo, Italy. 3 IRCCS Multimedica Hospital, Sesto San Giovanni, Milan, Italy. 4 Department of Pathophysiology and Transplantation, Ca' Granda Foundation IRCCS Maggiore Policlinico Hospital, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy. 5 School of Biomedical Sciences, Curtin Health Innovation Research Institute, Curtin University, Perth, Western Australia.

Scopo: PCSK9 interagisce con LDL-R epatico controllando i livelli di colesterolo LDL. Oltre a questo, ulteriori recettori sono suoi targets, tra cui VLDL-R, CD36 e ApoE2R, tutti rilevanti nel metabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi (TGs) ed espressi in tessuti periferici di interesse metabolico (adiposo e pancreas). Rimane da valutare, in vivo, se la riduzione di PCSK9, modificando queste interazioni, possa associarsi ad un aumentato accumulo lipidico ectopico e ad un alterato controllo glicemico.

Metodi: Modelli murini PCSK9 KO e la variante umana con perdita di funzione (Loss-of-Function, LoF) PCSK9 R46L sono stati considerati per studiare la riduzione genica di PCSK9.

Abbiamo determinato il profilo lipidico (a digiuno e in fase postprandiale (PP)), la glicemia, l'insulina e sono stati derivati suoi indici di resistenza (HOMA-IR) e secrezione pancreatica (HOMA-BC).

Sono stati quantificati il tessuto adiposo addominale (DEXA), lo spessore del grasso epicardico (EFT) ed è stata valutata la presenza di steatosi epatica.

Risultati: i portatori LoF mostravano mediamente -11%, -16%, -19% e -35% nei livelli di LDL-C, ApoB, ApoCIII e PCSK9, ma non differenti livelli di trigliceridi plasmatici a digiuno e in PP, rispetto ai non portatori. Inoltre essi, non erano soltanto più obesi, ma mostravano anche un'aumentata percentuale di adiposità addominale.

In aggiunta, la prevalenza di steatosi epatica era due volte maggiore e EFT 2.7 mm più spesso ($p=0.022$) in presenza della mutazione.

PCSK9 LoF si associava anche a iperglicemia e ad un ridotto HOMA-BC (8.4 (6.9-10.4)% vs 10.05 (8.1-11.6)% nei non portatori), anche controllando per BMI e adiposo addominale.

Questi dati estendono le evidenze nei topi PCSK9 KO in dieta iperlipidica, i quali accumulavano più tessuto adiposo viscerale rispetto ai PCSK9 WT. Dopo un carico orale di glucosio, i topi PCSK9 KO mostravano maggiori picco glicemico e contenuto di insulina pancreatica, benchè la risposta all'insulina fosse simile ai topi PCSK9 WT.

Conclusioni: Malgrado il non chiaro effetto sui TGs circolanti, la deficienza genica di PCSK9 si associa ad aumentata adiposità ectopica e ad un alterato controllo glucidico e sintesi di insulina. Ci chiediamo se questo fenotipo si estenda anche al prolungato trattamento farmacologico con anticorpi monoclonali.

STUDI DI LIPIDOMICA PER L'IDENTIFICAZIONE DEL RUOLO DEL TESSUTO ADIPOSO MIDOLLARE NELL'INVECCHIAMENTO E NEL DIABETE MELLITO DI TIPO 2. ANALISI DI CAMPIONI FEMORALI UMANI

Arnaboldi L.¹, De Metrio S.¹, Accattatis M.F.¹, Granata A¹, Maselli D.², Ferland-McCollough D.³, Mangialardi G.³, Corsini A.¹, Madeddu P.³, Spinetti G.²

1. Università degli Studi di Milano, DiSFeB; Via Balzaretti, 9 20133 Milano
2. IRCCS MULTIMEDICA; Via Fantoli,
3. University of Bristol, School of Clinical Sciences, Bristol, UK

Entro il 2030 il 20% della popolazione industrializzata avrà almeno 65 anni e svilupperà patologie cardiovascolari, soprattutto a causa del diabete mellito di tipo 2 (T2DM) e delle sue conseguenze. Recentemente, il tessuto adiposo del midollo spinale (BMAT) è stato oggetto di studi approfonditi, dal momento che la sua massa aumenta con l'età (dal 15 al 70% del tessuto osseo) e siccome le citochine (IL-6;IL-8) e le adipochine (leptina, adiponectina) da esso secrete possono esercitare effetti sistemici, attivando così fenomeni infiammatori ed adipogenici.

Pertanto, lo scopo di questo lavoro è la comprensione del ruolo di BMAT nell'invecchiamento e nel T2DM, mediante esperimenti di lipidomica su campioni ottenuti da 27 pazienti (9 con T2DM) di età 70 ± 12 , sottoposti a sostituzione del femore.

Abbiamo dapprima effettuato un'analisi qualitativa del profilo dei loro acidi grassi totali, senza evidenziare differenze significative nei singoli acidi grassi o tra saturi ed insaturi tra diabetici o controlli.

Al contrario, abbiamo riscontrato un aumento, anche se non significativo, nella massa di trigliceridi (150%) ed esteri del colesterolo (CE) (290%), associato ad un aumento significativo nella massa di C16:1 (in CE) e ad una diminuzione del rapporto saturi/insaturi nei BMAT dei soggetti diabetici rispetto ai controlli. E'interessante notare come nel BMAT dei pazienti affetti da T2DM l'aumento dei CE sia controbilanciato da una diminuzione della massa del colesterolo libero (CE/FC +470% vs controlli).

Nell'insieme, questi risultati, seppure ottenuti su un numero limitato di campioni, suggeriscono l'esistenza di un'associazione tra T2DM e variazioni lipidiche nel BMAT, facendoci programmare la valutazione dell'attività di enzimi coinvolti nel metabolismo lipidico quali ACAT e lipasi (visto l'alterato rapporto CE/FC riscontrato). Sarà anche interessante valutare l'attività della stearoilCoA desaturasi-1 (SCD-1), enzima che inserisce doppi legami (desaturazioni) in acidi grassi comuni (C16:0; C18:0), a generare C16:1 e C18:1, dal momento che un aumento di questi ultimi è ritenuto provocare fragilità ossea ed osteoporosi in pazienti affetti da T2DM.

Questi dati preliminari andranno corretti per massa corporea, età, genere, trattamento farmacologico/i e durata del T2DM e correlati con il profilo lipidico/glucidico plasmatico, per comprendere i meccanismi alla base della patologia ed identificare nuovi trattamenti farmacologici antidiabetici.

ANOMALIE LIPIDICHE RESIDUE IN PAZIENTI IN TERAPIA CON STATINE: LO STUDIO TREAT

Alba Plastina¹, Elena Olmastroni¹, Manuela Casula¹, Marcello Arca², Paolo Cavallo Perin³, Pasquale Perrone Filardi⁴, Alberto Zambon⁵, Alberico L. Catapano^{1,6}, Maurizio Averna⁷

1 Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze farmacologiche e biomolecolari, Università di Milano, Milano, Italia.

2 Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia.

3 Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Torino, Italia.

4 Dipartimento di Scienze Biomediche Avanzate, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli, Italia.

5 Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Padova, Padova, Italia.

6 IRCCS MultiMedica, Sesto San Giovanni (MI), Italia

7 Università degli Studi di Palermo A.O.U. Policlinico "P. Giaccone", Palermo, Italia.

I pazienti in trattamento con statine, nonostante il raggiungimento di bassi livelli plasmatici di colesterolo LDL (c-LDL), rimangono esposti ad un elevato rischio di incorrere in eventi cardiovascolari maggiori. Questo sembrerebbe essere dovuto ad anomalie persistenti dei valori di colesterolo HDL (c-HDL) e trigliceridi (TG).

Obiettivo primario di questo studio è quello di valutare la prevalenza e la tipologia di anomalie lipidiche residue in pazienti in terapia con statine da almeno 2 anni.

Lo studio TREAT (observationalretrospectivesTudy on lipidabnoRmalitiEs in pAtients on sTatintherapy) è uno studio osservazionale, multicentrico e retrospettivo. I dati sono stati raccolti dalle cartelle cliniche di pazienti visitati in 9 ambulatori specialistici di diabetologia, lipidologia e cardiologia tra il 2013 e il 2015 e includono dati demografici e sullo stile di vita, dati clinici sul profilo lipidico e sulla condizione medica generale del paziente. I target lipidici sono stati definiti sulla base delle linee guida della European Society of Cardiology in funzione del rischio cardiovascolare individuale.

La coorte comprendeva un totale di 1216 pazienti di cui il 73,7% presentava anomalie di almeno uno dei parametri lipidici considerati; in particolare, questa percentuale era il 71,8% tra i pazienti delle cardiologie, il 85,2% tra quelli delle diabetologie e il 67,4% tra quelli delle lipidologie. Complessivamente, il 58,9%, il 22,6% e il 25,6% dei pazienti non erano a target rispettivamente per i valori di c-LDL, c-HDL e TG; tra i pazienti a target per i valori di c-LDL (39.75), il 22,8 e il 24,0% non raggiungeva i valori target per c-HDL e TG, rispettivamente. L'analisi della frequenza dei soggetti a target per l'intero profilo lipidico e la frequenza dei soggetti non a target per uno, due o tre dei parametri considerati (LDL, HDL, TG) in funzione del rischio CV ha evidenziato che i pazienti a rischio CV più elevato sono quelli più soggetti ad anomalie del profilo lipidico rispetto ai pazienti con rischio CV minore.

Il presente studio evidenzia delle criticità nella gestione globale del profilo lipidico; è necessario sensibilizzare i professionisti sanitari sull'importanza della valutazione del profilo lipidico individuale completo, in quanto, in presenza di anomalie, il rischio di incorrere in eventi cardiovascolari risulta maggiore.

ANALISI DEL TRASCRIPTOMA IN SINGOLE PIASTRINE DI SOGGETTI SANI E PAZIENTI CAD

Chiara Zara¹, Rossella D'alessandro¹, Mattia Chiesa¹, Marta Brambilla¹, Elena Tremoli¹, Marina Camera^{1,2}

1 Centro Cardiologico Monzino IRCCS - 2 Università degli Studi di Milano

INTRODUZIONE: Le piastrine, pur essendo prive di nucleo, contengono numerosi RNA messaggeri (mRNA) derivanti dai megacariociti. Oltre alla loro funzione primaria nell'emostasi, le piastrine prendono parte anche nell' infiammazione, immunità e angiogenesi. È plausibile che le differenti funzioni siano svolte da specifiche sottopopolazioni piastriniche distinte per caratteristiche morfologiche, proteomiche e trascrittomiche che possono variare in condizioni patologiche. Alcuni studi hanno evidenziato come le piastrine di pazienti con STEMI abbiano un trascrittoma differente rispetto ai controlli sani. Queste analisi, eseguite sull'intera popolazione piastrinica, non consentono tuttavia di caratterizzare le diverse sottopopolazioni. Sulla base di queste evidenze, per verificare se si potessero identificare sottopopolazioni piastriniche analizzando il trascrittoma, è stata utilizzata la tecnologia Smartflare, che permette di rilevare in citofluorimetria la presenza di mRNA nelle singole cellule.

METODO: Dopo aver ottimizzato la tecnologia Smartflare per ottenere un'internalizzazione delle sonde in una percentuale maggiore al 90% di piastrine, è stata valutata l'espressione di 50 mRNA coinvolti nell' emostasi (n = 25) e nell' infiammazione (n = 25) nelle singole piastrine isolate da 20 soggetti sani (HS) (35± 10anni) e 20 pazienti STEMI (62 ± 15anni). La fluorescenza emessa dalle sonde in seguito al riconoscimento dell'mRNA bersaglio è stata analizzata attraverso l'utilizzo dell'ImageStream.

RISULTATI: Nei soggetti sani la maggior parte dei trascritti coinvolti nell'emostasi (n=13) sono espressi in oltre il 70% delle piastrine e sono distribuiti in maniera omogenea tra piastrine piccole e grandi; solo 6 trascritti sono presenti in una percentuale tra il 30-60% di piastrine. Degli mRNA associati all'infiammazione, 14 sono presenti in una ridotta percentuale di piastrine (30-60%) mentre 8 trascritti sono espressi nella maggior parte delle piastrine (>70%).

Nei pazienti STEMI aumenta significativamente la percentuale delle piastrine esprimenti IL-10 e COX-1, i quali si localizzano soprattutto nelle piastrine di dimensioni minori nei pazienti; gli mRNA del preTF e TF sono invece presenti in una percentuale ridotta di piastrine.

Analizzando l'espressione dei singoli mRNA risulta significativamente ridotta quella relativa al CXCR4, preTF e TF negli STEMI rispetto ai controlli sani.

CONCLUSIONE: I risultati evidenziano, per la prima volta, una differente distribuzione ed espressione degli mRNA coinvolti nell'emostasi e nell'infiammazione all'interno della popolazione piastrinica. Questo potrebbe essere il risultato di meccanismi che agiscono sia a livello centrale, sui megacariociti nel midollo osseo, sia a livello periferico direttamente sulle piastrine circolanti.

Zc3h10 CONTROLLA L'ATTIVITÀ MITOCONDRIALE IN VITRO ED IN VIVO

Matteo Audano¹, Silvia Pedretti¹, Stefano de Pretis², Mattia Pelizzola², Liliana Grigore^{3,4}, Katia Garlaschelli⁴, Andrea Baragetti^{1,4}, Fabrizia Bonacina¹, Alberico Luigi Catapano^{1,3}, Giuseppe Danilo Norata^{1,4,5}, Maurizio Crestani¹, Donatella Caruso¹, Enrique Saez⁶, Emma De Fabiani¹ and Nico Mitro¹

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (Disfeb), Università degli Studi di Milano, Milano. - 2 Center for Genomic Science of IIT@SEMM, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Milano.- 3 IRCSS Multimedica; Milano. - 4 SISA Centre; Bassini Hospital; Cinisello Balsamo. - 5 School of Biomedical Sciences, Curtin Health Innovation Research Institute, Faculty of Health Science, Curtin University, Perth, Western Australia - 6 Department of Molecular Medicine, The Scripps Research Institute, La Jolla, USA

Introduzione: E' largamente noto come disfunzioni mitocondriali siano responsabili di alcune disordini metabolici, come ad esempio insulino resistenza, diabete ed obesità. Analisi precedentemente svolte nel nostro laboratorio hanno individuato un nuovo regolatore mitocondriale denominato Zinc Finger CCCH-type containing 10 (Zc3h10). Zc3h10 è in grado di regolare l'omeostasi del ferro e della cardiolipine, due componenti fondamentali per il corretto funzionamento mitocondriale. Inoltre, è stata osservata la presenza di una mutazione a singolo nucleotide (SNP, rs61732294) nella regione codificante di tale proteina.

Scopo: Caratterizzare soggetti umani omozigoti per la mutazione per individuare l'eventuale associazione di Zc3h10 con la disfunzionalità mitocondriale in vivo.

Metodi: A questo scopo abbiamo condotto analisi biochimiche, metabolomiche e genomiche in cellule circolanti prelevate da vena antecubitale di soggetti partecipanti allo studio PLIC (Progressione della Lesione Intimale Carotidea, Ospedale Bassini, Milano).

Risultati: Lo screening genomico ha rilevato la presenza in omozigosi della mutazione rs61732294 in 4 pazienti su 1594 (0.25%). Tale mutazione causa la sostituzione amminoacidica tirosina (Y)/cisteina (C) in posizione 105 della proteina matura. I soggetti omozigoti sono caratterizzati dal significativo aumento del BMI (Y105= 26.98 +4.19 Kg/m², Y105C= 27.07 +4.28 Kg/m², C105= 34.39 +3.19 Kg/m²; p< 0.05 vs Y105, p< 0.05 vs Y105C), del rapporto circonferenza vita/fianchi (Y105= 0.871 +0.078, Y105C= 0.879 +0.078, C105= 0.950 +0.087; p< 0.05 vs Y105, p< 0.05 vs Y105C) e della percentuale di massa grassa corporea (Y105= 36.0 +7.7%, Y105C= 36.7 +7.6%, C105= 40.7 +2.4%; p< 0.05 vs Y105, p< 0.05 vs Y105C). I portatori omozigoti mostrano iperglicemia a digiuno (Y105= 97 (91-105) mg/dL, Y105C= 97 (90-106) mg/dL, C105= 120 +18 mg/dL; p< 0.05 vs Y105, p< 0.05 vs Y105C) ed ipertrigliceridemia (Y105= 90.00 (66.00-121.00) mg/dL, Y105C= 95.00 (70.00-130.00) mg/dL, C105= 175.33 +84.00 mg/dL; p< 0.05 vs Y105).

Saggi di validazione in vitro dimostrano che l'isoforma mutata di Zc3h10 porta alla perdita della sua attività regolatoria mitocondriale, dato confermato anche in cellule mononucleate del sangue isolate da soggetti controllo e mutati.

RISCHIO DI EVENTI CARDIOVASCOLARI ASSOCIATO ALL'USO DI INIBITORI DI POMPA PROTONICA NELLA POPOLAZIONE LOMBARDA

F. Galimberti¹, M. Casula¹, F. Mozzanica¹, E. Tragni¹, G. Corrao², L. Scotti², A.L. Catapano^{1,3}

1 Centro di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università di Milano, via Balzaretti 9, 20133 Milano, Italia - 2 Dipartimento di Statistica e Metodi Quantitativi, Divisione di Biostatistica, Epidemiologia e Sanità Pubblica, Università di Milano Bicocca, via Bicocca degli Arcimboldi 8, 20126 Milano, Italia - 3 IRCCS MultiMedica, via Milanese 300, 20099 Sesto S. Giovanni (MI), Italia

Il presente studio aveva lo scopo di valutare il rischio di ospedalizzazione per eventi cardio/cerebrovascolari in una coorte di utilizzatori incidenti di inibitori di pompa protonica (PPI).

È stato condotto uno studio caso-controllo innestato, selezionando nel database amministrativo del Servizio Sanitario della Lombardia gli assistiti dai 18 ai 70 anni aventi almeno una prescrizione di PPI tra il 01/01/2003 e il 31/12/2007. L'osservazione si estendeva dalla data indice (data di prima prescrizione) all'evento, a morte o trasferimento, o a fine follow-up (31/12/2010). Sono stati esclusi i pazienti con terapia antitrombotica od ospedalizzazione per evento cardio/cerebrovascolare nei 3 anni precedenti la data indice, o con follow-up inferiore a 6 mesi. Ciascun caso, identificato da un'ospedalizzazione per evento cardio/cerebrovascolare di natura non emorragica, è stato appaiato con al massimo 5 controlli, per sesso, età e data indice. L'esposizione è stata valutata come recency dell'ultima prescrizione prima dell'evento (definendo utilizzatori current, recent e past) e come numero di giorni coperti da terapia (in base alla dose giornaliera definita). Mediante un modello di regressione logistica, è stato determinato il rischio associato all'esposizione.

Nella coorte sono stati identificati 20.036 casi e 100.180 controlli (maschi 64,5%; età media 58,9 anni). I casi presentavano prevalenze più alte di diabete, ipertensione e ipercolesterolemia; in entrambi i gruppi i farmaci più utilizzati erano esomeprazolo, omeprazolo e lansoprazolo. Dall'analisi aggiustata di regressione multivariata, il rischio di eventi risultava significativamente maggiore per gli utilizzatori current (odds ratio [OR] 1,557; IC95% 1,498-1,618) e recent (OR 1,087; 1,031-1,146) rispetto ai past. Tale risultato è stato confermato dall'analisi stratificata per eventi cardiovascolari (current: OR 1,632; 1,556-1,712) e cerebrovascolari (current: OR 1,436; 1,345-1,532). Il rischio aumentava in presenza di comorbidità e rimaneva alto anche per un'esposizione minore di 14 giorni. La valutazione dei singoli PPI non ha evidenziato differenze statisticamente significative.

Questo studio mostra come l'esposizione più recente e ad un numero relativamente basso di dosi di PPI sia associata ad un aumentato rischio d'incorrere in eventi cardio/cerebrovascolari. Questo potrebbe mettere in discussione il vantaggioso rapporto beneficio/rischio tradizionalmente attribuito ai PPI; ulteriori studi sono necessari per verificare tali evidenze e per chiarire un possibile meccanismo d'azione.