

Libro degli abstract

Presentazioni Giovani Ricercatori



Sezione Regionale Lombardia

Convegno Regionale SISA Lombardia XI GIORNATA STUDIO

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

Milano, 26-27 Ottobre 2012
ATAHOTEL EXECUTIVE Viale Don Luigi Sturzo 45



PROGRAMMA

VENERDÌ, 26 OTTOBRE 2012

09.15 - 9.30 APERTURA CONVEGNO: A. L. Catapano - Presidente

I SESSIONE

Moderatori: A. Corsini, A. Poli

09.30 - 10.30 LETTURA MAGISTRALE
Dislipidemie familiari e pazienti ad alto rischio A. L. Catapano

10.30 - 11.00 COFFEE BREAK

11.00 - 13.00 PRESENTAZIONI ORALI GIOVANI RICERCATORI
Moderatori: A. Branchi, E. Cappiello, L. Colombo
Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi
Presentazione abstract valutati dalla Commissione giudicatrice premi:
Coordinatori provinciali e Direttivo SISA Lombardia

13.00 - 14.00 PAUSA PRANZO

II SESSIONE

Moderatori: A. L. Catapano, PM. Piatti

14.00 - 14.30 LETTURE IN SESSIONE PLENARIA - NUOVI ASPETTI DELLE HDL
HDL ed endotelio L. Calabresi
14.30 - 15.00 **HDL e immunità** G. D. Norata

dalle 15.00 COFFEE POINT

15.00 - 17.15 PRESENTAZIONI ORALI GIOVANI RICERCATORI
Moderatori: L. Calabresi, M. Crestani, G. Derosa
Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi
Presentazione abstract valutati dalla Commissione giudicatrice premi:
Coordinatori provinciali e Direttivo SISA Lombardia

17.15 - 17.40 LETTURA PREMIO "G. GALLI"
Moderatori: M. Galli Kienle, C. Galli

17.40 - 18.00 ASSEMBLEA SOCI SISA LOMBARDIA

PROGRAMMA

SABATO, 27 OTTOBRE 2012

SIMPOSIO CONGIUNTO AMD - SID - SISA

Moderatori: I. Mangone (AMD), G. Perseghin (SID), D. Sommariva (SISA)

- 09.30 - 13.30 LETTURE IN SESSIONE PLENARIA**
- Effetto delle statine sul metabolismo glucidico** A. C. Bossi (SID)
- L'effetto che i farmaci ipoglicemizzanti possono avere sul metabolismo lipidico** I. Nosari (AMD)
- Analisi dei farmaci ipoglicemizzanti attuali e futuri sull'outcome cardiovascolare** PM. Piatti (SISA)
- DISCUSSIONE GENERALE AMD - SID - SISA**
- 13.30 QUESTIONARI APPRENDIMENTO ECM**
- 13.30 PREMIAZIONI SISA LOMBARDIA**
Moderatori: D. Sommariva, L. Guasti
- 13.45 APERITIVO DI SALUTO - CHIUSURA CONVEGNO**

PRESIDENTE DEL CONGRESSO

Alberico L. Catapano
Presidente SISA - Sezione Lombarda

VICE PRESIDENTE

Domenico Sommariva

CONSIGLIERI

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

SEGRETARIO

Andrea Poli

RELATORI/MODERATORI

Antonio C. Bossi
Adriana Branchi
Laura Calabresi
Emanuele Cappiello
Alberico L. Catapano
Luigi Colombo
Alberto Corsini
Maurizio Crestani
Giuseppe Derosa
Corrado Galli
Marzia Galli Kienle
Luigina Guasti
Ida Mangone
Giuseppe Danilo Norata
Italo Nosari
Gianluca Perseghin
PierMarco Piatti
Andrea Poli
Domenico Sommariva

COMUNICAZIONI ORALI

Venerdì, 26 Ottobre 2012

11.00-13.00

Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi

Moderatori: A. Branchi, E. Cappiello, L. Colombo

Presentazioni Giovani Ricercatori

Presentazione di lavori scientifici clinico-sperimentali in seduta plenaria

Il tempo a disposizione per le presentazioni è di 12 min più 3 min di discussione

- 1 Fabrizia Bonacina
- 2 Federica Sala
- 3 Alessandra Ferrari
- 4 Erika Fiorino
- 5 Nicola Ferri
- 6 Lucia Cutuli
- 7 Laura Rossetti
- 8 Pamela Maffioli

15.00-17.15

Ricerca clinica e di base nell'ambito dell'aterosclerosi

Moderatori: L. Calabresi, M. Crestani, G. Derosa

Presentazioni Giovani Ricercatori

Presentazione di lavori scientifici clinico-sperimentali in seduta plenaria

Il tempo a disposizione per le presentazioni è di 12 min più 3 min di discussione

- 1 Silvia Lupini
- 2 Laura Facchinetti
- 3 Elisabetta Brioschi
- 4 Lorena Cozzi
- 5 Gianpaolo Tibolla
- 6 Alice Ossoli
- 7 Paola Canzano
- 8 Andrea Baragetti
- 9 Maria Elena Capra

Sabato, 27 Ottobre 2012

13.30

Premiazioni migliori presentazioni GIOVANI RICERCATORI

Moderatori: L. Guasti, D. Sommariva

Commissione giudicatrice premi:

Presidenti: A. Branchi, M. Crestani

Membri: Coordinatori Provinciali e Direttivo SISA Lombardia

SESSIONE POSTER

Venerdì, 26 Ottobre 2012

13.00-14.00

Sessione Poster

Moderatori: A. Branchi, L. Calabresi, A. L. Catapano, L. Colombo,

A. Corsini, M. Crestani, PM. Piatti, A. Poli, D. Sommariva

- 1 Manuela Casula
- 2 Alessio Gizzi
- 3 Lorenzo Arnaboldi
- 4 Donatella Zavaroni
- 5 Daniela Boselli
- 6 Cecilia Vitali
- 7 Sergio Bernini
- 8 Andrea Baragetti
- 9 Fabio Pellegatta
- 10 Daniele G. Ghiglioni

La Sessione Poster è prevista durante la pausa pranzo

1) PENTRAXINA 3 E TROMBOSI ARTERIOSA

F. Bonacina^{1*}, L. Cutuli^{1*}, S.S. Barbieri^{2*}, P. Amadio¹, M. Sironi³, B. Bottazzi³, C. Garlanda³, A. Mantovani³, E. Tremoli^{1,2}, A.L. Catapano^{1,4}, G.D. Norata^{1,4}

**Questi autori hanno contribuito equamente al lavoro*

¹Università degli Studi di Milano; ² Centro Cardiologico Monzino, Milano; ³Istituto Clinico Humanitas, Rozzano; ⁴IRCSS Multimedica, Milano

pag. 1

2) LA MANCANZA DEI microRNA 143-145 È ASSOCIATA A UNA RIDOTTA PROGRESSIONE DELL'ATEROSCLEROSI IN ANIMALI LDL-R KNOCK OUT

Federica Sala¹, Fabio Zappella¹, Leonardo Elia³, Gianluigi Condorelli^{3,4,5}, Alberico Luigi Catapano^{1,4}, Giuseppe Danilo Norata^{1,2}

¹ Università degli Studi di Milano (Italy); ² Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo (Italy); ³ Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (Italy); ⁴ IRCCS MultiMedica, Milano (Italy); ⁵ Università degli Studi Milano Bicocca, Milano (Italy)

pag. 2

4) LE ISTONE DEACETILASI DI CLASSE I REGOLANO IL METABOLISMO ENERGETICO IN UN MODELLO DI DIABETE DI TIPO 2 E DI OBESITÀ

A. Ferrari, A. Galmozzi, N. Mitro, E. Fiorino, E. Gers, F. Gilardi, ****C. Godio**, G. Cermenati, D. Caruso, U. Guerrini, E. Donetti, ***A. Mai**, ****E. Saez**, E. De Fabiani, M. Crestani.

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari Università degli Studi di Milano, ***Dipartimento di Studi Farmaceutici Università degli Studi di Roma "La Sapienza"**, ****Department of Chemical Physiology The Scripps Research Institute La Jolla CA**

pag. 3

3) ISTONE DEACETILASI DI CLASSE I (HDAC) E METABOLISMO ENERGETICO: NUOVI ATTORI NEL "BROWNING" DEL TESSUTO ADIPOSO?

E. Fiorino, A. Ferrari, A. Galmozzi, N. Mitro, E. Gers, F. Gilardi, ****C. Godio**, G. Cermenati, D. Caruso, U. Guerrini, **#A. Gualerzi**, ***A. Mai**, ****E. Saez**, E. De Fabiani, M. Crestani.

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

#Dipartimento di Morfologia Umana Università degli Studi di Milano,

***Dipartimento Studi Farmaceutici Università degli Studi di Roma "La Sapienza",**

****Department of Chemical Physiology The Scripps Research Institute La Jolla CA**

pag. 4

5) SVILUPPO DI NUOVI INIBITORI DI RAC1 QUALI POTENZIALI AGENTI FARMACOLOGICI PER IL TRATTAMENTO DELL'ATEROSCLEROSI

Nicola Ferri¹, Sergio Kevin Bernini¹, Alberto Corsini¹, and Alessandro Contini²

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

pag. 5

6) RUOLO DELLE HDL SUI MONOCITI NELL'UOMO E IN MODELLI ANIMALI

L. Cutuli¹, F. Sala¹, S. Fiorelli¹, L. Grigore², K. Garlaschelli², G. Chiesa¹, G.D. Norata^{1,2}, A.L. Catapano^{1,2}

1 Università degli studi di Milano, Italia; 2 Centro SISA per lo studio dell'aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia

pag. 6

7) PROFILO PROTROMBOTICO E TRASCRIPTOMICO DELLE PIASTRINE NEI PAZIENTI CORONAROPATICI CON DIABETE MELLITO DI TIPO 2

L. Rossetti¹, M. Brambilla¹, P. Canzano¹, L. Piacentini¹, D. Trabattoni¹, F. Saporiti¹, G. Teruzzi¹, GC. Marenzi¹, G.I. Colombo¹, A. Bartorelli¹, E. Tremoli^{1,2}, M. Camera^{1,2}

1Centro Cardiologico Monzino IRCCS

2Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

pag. 7

8) MODIFICAZIONI ULTRASONOGRAFICHE DEL TESSUTO ADIPOSO VISCERALE E SOTTOCUTANEO DOPO TERAPIA CON PIOGLITAZIONE O GLIBENCLAMIDE IN COMBINAZIONE CON ROSUVASTATINA IN PAZIENTI DIABETICI DI TIPO 2 NON BEN CONTROLLATI DA METFORMINA

Pamela Maffioli, Angela D'Angelo, Tiziano Perrone, Elena Fogari, Giuseppe Derosa
Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Pavia

pag. 8

1) LA POLARIZZAZIONE DEI LINFOCITI T AD OPERA DELLE CELLULE DENDRITICHE È INFLUENZATA DALLE DIVERSE ISOFORME DELL'APOLIPOPROTEINA E

Lupini S¹, Garlaschelli K.¹, Grigore L.¹, Catapano A.L.^{1,2,3}, Norata G.D.^{1,2}

¹ Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi – U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano, ² Università degli Studi di Milano, Dipartimento Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Milano, ³ IRCCS Multimedica, Cinisello Balsamo, Milano

pag. 9

2) FATTORE TESSUTALE: DAL MEGACARIOCITA ALLA PIASTRINA

Facchinetti L.¹, Boselli D.¹, Brambilla M.¹, Canzano P.¹, Tremoli E.^{1,2} and Camera M.^{1,2}

¹Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Centro di Ricerche Farmacologiche per lo Studio e la Prevenzione delle Malattie Cardiovascolari, Milano, Italia

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

pag. 10

3) RUOLO DELL'ATTIVAZIONE DI LXR NELLA NEUROPATIA PERIFERICA INDOTTA DAL DIABETE

E. Brioschi¹, G. Cermenati¹, F. Abbiati¹, S. Cermenati², E. Saez³, E. De Fabiani¹, M. Crestani¹, L.M. Garcia-Segura⁴, R.C. Melcangi¹, and D. Caruso¹ and N. Mitro¹

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano. ²Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli Studi di Milano. ³Department of Chemical Physiology, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA. ⁴Instituto Cajal, C.S.I.C., Madrid, Spain.

pag. 11

4) DANNO VASCOLARE DOPO IMPIANTO DI STENT: MODULAZIONE DELL'ESPRESSIONE GENICA IN UN MODELLO DI CELLULE ENDOTELIALI UMANE.

Lorena Cozzi¹, Jonica Campolo¹, Federico Vozzi², Silvana Penco³, Claudio Domenici², Arti Ahluwalia⁴, Paolo Marraccini², Oberdan Parodi¹

¹Istituto di Fisiologia Clinica CNR Milano, Dipartimento Cardioracovascolare, Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano; ²Istituto di Fisiologia Clinica CNR Pisa;

³Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Genetica Medica, Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano; ⁴Centro di Ricerca Interdipartimentale E. Piaggio, Università di Pisa.

pag. 12

5) IL CONTENUTO INTRACELLULARE DI COLESTEROLO MODULA L'ATTIVITÀ DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE IN CELLULE SCHIUMOSE

G. Tibolla^{1,2}, P. Uboldi¹, V. Chiurchiù³, M. Lanuti^{3,4}, M. Maccarrone^{3,4} and A.L. Catapano^{1,5}

¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano - ²Centro SISA per lo studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, - ³European Center for Brain Research (CERC), Fondazione Santa Lucia I.R.C.C.S., Roma - ⁴Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Teramo - ⁵I.R.C.C.S. Ospedale MultiMedica, Milano

pag. 13

6) CAPACITÀ VASOPROTETTIVA DELLE HDL DI SOGGETTI CON DEFICIT GENETICO DI CETP

A. Ossoli¹, S. Pozzi¹, P. Nilsson², W. Jessup³, J.A. Kuivenhoven⁴, R. Spina⁵, V. Valenti⁵, A.B. Cefalù⁵, M.R. Averna⁵, C.R. Sirtori¹, G. Franceschini¹, L. Calabresi¹, M. Gomaraschi¹

¹Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti 9, 20133 Milano - ²Department of Clinical Sciences, Lund University, University Hospital, Malmö, Sweden - ³Center of Vascular Research, University of New South Wales, Sydney, Australia; - ⁴Department of Experimental Vascular Medicine, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands; - ⁵Dipartimento di Medicina Clinica e delle Patologie Emergenti, Policlinico "Paolo Giaccone", Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italy

pag. 14

7) INSUFFICIENZA RENALE IN PAZIENTI CON SINDROME CORONARICA ACUTA: UNO SGUARDO AL PROFILO PROTROMBOTICO, TRASCRITTOmico E PROTEOMICO PIASTRINICO

P. Canzano¹, M. Brambilla¹, M. Brioschi¹, L. Piacentini¹, L. Rossetti¹, GC. Marenzi¹, C. Banfi¹, G. Teruzzi¹, E. Bono¹, D. Trabattoni¹, G.I. Colombo¹, M. De Metrio¹, A. Bartorelli¹, E. Tremoli^{1,2}, M. Camera^{1,2}

¹Centro Cardiologico Monzino IRCCS

²Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

pag. 15

8) BASSI LIVELLI DI COLESTEROLO HDL SONO PREDITTORI INDIPENDENTI DELLA PROGRESSIONE DELL'INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

A. Baragetti^{1,2}, G.D. Norata^{1,2}, C. Sarcina³, F. Rastelli³, L. Grigore¹, K. Garlaschelli¹, P. Uboldi², C. Pozzi³, I. Baragetti³, A.L. Catapano^{1,2,4}

1 Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi – U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano 2 Università degli Studi di Milano, Dipartimento Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Milano 3 U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano, 4 IRCCS Multimedica, Cinisello Balsamo, Milano

pag. 16

9) OMOCISTEINA PLASMATICA E GENOTIPO MTHFR IN UNA POPOLAZIONE DI BAMBINI CON IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE ETEROZIGOTE

C. Pederiva, M.E. Capra, A. Domi, M. Giovannini, E. Riva.

Clinica Pediatrica, Ospedale San Paolo, Università degli Studi di Milano

pag. 17

1) PROFILO DI UTILIZZO DELLE STATINE EQUIVALENTI NEL NORD, CENTRO E SUD ITALIA

M. Casula¹, A.L. Catapano¹, L. Manzoli², A. Zucchi³, S. Cammarota⁴, S. Riegler⁴, E. Tragni¹

1 Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva, Università degli Studi di Milano; 2 ASR Regione Abruzzo; 3 ASL di Bergamo; 4 Centro Interdipartimentale di Ricerca in Farmacoeconomia e Farmacoutilizzazione, Università Federico II di Napoli

pag. 18

2) UTILIZZO PEDIATRICO OFF-LABEL DI FARMACI CARDIOVASCOLARI: STUDIO DI POPOLAZIONE IN LOMBARDIA, 2006-2010

Gizzi Alessio^{a*}, Borraccia Francesca^{a*}, Casula Manuela^a, Zambon Antonella^b, Corrao Giovanni^b, Catapano Alberico^{a,c}, Tragni Elena^a

**Gli Autori hanno egualmente contribuito allo svolgimento dello studio*

^aCentro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano.

^bUnità di Biostatistica ed Epidemiologia, Dipartimento di Statistica, Università degli Studi Milano-Bicocca. - ^cIRCCS MultiMedica, Sesto San Giovanni (MI).

pag. 19

3) INIBIZIONE MULTIPLA DEL PROCESSO ATEROSCLEROTICO MEDIANTE IBRIDI NO-DONATORI FUROSSANO-BASATI: UNO STUDIO SULLE PROPRIETA' ANTIPROLIFERATIVE IN CELLULE MUSCOLARI LISCE

Lorenzo Arnaboldi^{*}, Laura Sommariva^{*}, Barbara Rolando[#], Loretta Lazzarato[#], Roberta Fruttero[#], Antonella Di Stilo[#], Alberto Gasco[#], Alberto Corsini^{*}.

^{*} Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

[#] Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università degli Studi di Torino

pag. 20

4) AGGIUNTA DI FITOSTEROLI ALLA TERAPIA CON STATINE SUI LIVELLI DI LDL IN PAZIENTI CON DIABETE MELLITO TIPO 2 E IPERCOLESTEOLEMIA

Donatella Zavaroni, Giovanni Mancastroppa, Paola Scatola, Umberto De Joannon, Maurizio Bianco

UOD Diabetologia e Malattie Metaboliche Azienda USL di Piacenza

pag. 21

5) MICROPARTICELLE CIRCOLANTI UMANE: CARATTERIZZAZIONE DELLE LORO PROPRIETÀ FISICHE E ANTIGENICHE ATTRAVERSO UN APPROCCIO MULTIPARAMETRICO DI CITOMETRIA A FLUSSO

Daniela Boselli¹, Marta Brambilla¹, Daniele Manganaro², Elena Tremoli^{1,3}, Marina Camera^{1,3}.

1 Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milan, Italy - 2 BD Biosciences, Italia - 3 Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Italia

pag. 22

6) LIPOPROTEINA(A): CONCENTRAZIONE, ISOFORME E POLIMORFISMI

Cecilia Vitali¹; Sara Simonelli¹; Claudia Tarlarini²; Chiara Pavanello¹; Giuliana Mombelli¹; Silvana Penco²; Cesare Riccardo Sirtori¹; Laura Calabresi¹.

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

2 S.S. Genetica Medica, Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano

pag. 23

7) METODO INNOVATIVO DI PROGETTAZIONE DI NUOVE ENTITÀ CHIMICHE CON ATTIVITÀ INIBITORIA SU RAC: STUDI FARMACOLOGICI IN VITRO DI ATEROGENESI

Sergio Kevin Bernini¹, Nicola Ferri¹, Alberto Corsini¹, Maria Pia Adorni², Elda Favari², Franco Bernini², Francesca Clerici³, and Alessandro Contini³

1 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano - 2 Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Parma - 3 Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano

pag. 24

8) LA PERCENTUALE DI MASSA GRASSA È UN UTILE SUPPORTO PER LA VALUTAZIONE DELL'INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

A. Baragetti^{1,2}, C. Tidone¹, K. Garlaschelli¹, G.D. Norata^{1,2}, I. Baragetti³, C. Pozzi³, A.L. Catapano^{1,2,4}

1 Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi – U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano 2 Università degli Studi di Milano, Dipartimento Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Milano 3 U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano, 4 IRCCS Multimedica, Cinisello Balsamo, Milano

pag. 25

9) PAZIENTI AFFETTI DA IPERLIPEMIA FAMILIARE COMBINATA E CARATTERIZZATI DA BASSE HDL PRESENTANO UN NUMERO RIDOTTO DI UNITÀ FORMANTI COLONIE ENDOTELIALI ISOLABILI EX-VIVO

Fabio Pellegatta^{1,2}, Liliana Grigore¹, Simona Tramontana¹, Katia Garlaschelli¹, Andrea Baragetti^{1,2}, Alberico L. Catapano^{1,2,3}

1 Centro SISA per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia. 2 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, 3 IRCCS Multimedica - Milano, Italia.

pag. 26

10) UNA DIAGNOSI PRECOCE DI ABETALIPOPROTEINEMIA

Ghigliani Daniele G, Fiocchi Alessandro, Terracciano Luigi, Zoja Alexa Melloni Paediatria - Az. Osp. FBF Milano

pag. 27

PENTRAXINA 3 E TROMBOSI ARTERIOSA

F. Bonacina^{1*}, L. Cutuli^{1*}, S.S. Barbieri^{2*}, P. Amadio¹, M. Sironi³, B. Bottazzi³, C. Garlanda³, A. Mantovani³, E. Tremoli^{1,2}, A.L. Catapano^{1,4}, G.D. Norata^{1,4}

*Questi autori hanno contribuito equamente al lavoro

¹Università degli Studi di Milano; ² Centro Cardiologico Monzino, Milano; ³Istituto Clinico Humanitas, Rozzano; ⁴IRCSS Multimedica, Milano

Pentraxina 3, un membro della famiglia delle pentraxine, è una proteina di fase acuta associata all'esito di malattie cardiovascolari e all'aterosclerosi. Studi precedenti hanno dimostrato che la mancanza di PTX3 in topi ApoE KO è associata ad una lesione aterosclerotica più estesa e ad un maggior profilo infiammatorio nella parete vascolare.

Lo scopo di questo studio è di valutare il potenziale ruolo di PTX3 nella trombosi arteriosa. Topi PTX3 KO, in cui è stata indotta una lesione chimica a livello carotideo mediante l'applicazione topica di FeCl₃, mostrano una riduzione significativa del flusso ematico con la formazione di un trombo di maggiori dimensioni rispetto a topi controllo. Questo effetto risulta indipendente da alterate proprietà emostatiche, come dimostrato dal confronto del tempo di sanguinamento, dai livelli plasmatici di fibrinogeno e dalla conta piastrinica, o da una differente attivazione piastrinica dal momento che l'espressione di molecole di adesione quali P-selectina e integrina $\alpha_2\beta_3$, dopo stimolazione con collagene, l'analogo del trombossano U46619 e trombina non risulta significativamente diversa tra topi PTX3 KO e controllo. Inoltre, esperimenti di trombo-embolismo polmonare, indotto mediante iniezione endovenosa di collagene ed epinefrina, non hanno evidenziato differenze tra le curve di sopravvivenza dei due genotipi esaminati, limitando il ruolo delle piastrine negli effetti osservati.

Recentemente è stato dimostrato che PTX3 viene rilasciata in seguito a degranolazione dei neutrofili, lega P-selectina, inibisce il rolling dei leucociti sull'endotelio e riduce l'interazione tra piastrine-leucociti dopo IM. Per indagare se tali meccanismi possano essere coinvolti nel fenotipo osservato dopo danno vasale indotto da FeCl₃, esperimenti di trombosi arteriosa sono stati condotti in topi P-selectina KO/PTX3 KO e P-selectina KO. Topi P-selectina KO/PTX3 KO mostrano una riduzione significativa del flusso ematico, associato alla formazione di un trombo di maggiori dimensioni, rispetto alla lieve riduzione del flusso ematico osservato in topi P-selectina KO.

Questi dati suggeriscono che PTX3 possa svolgere un ruolo protettivo nella trombosi arteriosa, effetto che non sembra essere legato ad una modulazione diretta dell'attività e della funzionalità piastrinica e inoltre suggeriscono che l'azione di PTX3 possa coinvolgere altri meccanismi oltre l'interazione con P-selectina.

LA MANCANZA DEI microRNA 143-145 È ASSOCIATA A UNA RIDOTTA PROGRESSIONE DELL'ATEROSCLEROSI IN ANIMALI LDL-R KNOCK OUT

Federica Sala¹, Fabio Zappella¹, Leonardo Elia³, Gianluigi Condorelli^{3,4,5}, Alberico Luigi Catapano^{1,4}, Giuseppe Danilo Norata^{1,2}

1 Università degli Studi di Milano (Italy); 2 Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo (Italy); 3 Istituto Clinico Humanitas, Rozzano (Italy); 4 IRCCS MultiMedica, Milano (Italy); 5 Università degli Studi Milano Bicocca, Milano (Italy)

I microRNA sono una classe di piccoli RNA endogeni non codificanti, di circa 22 nucleotidi, a singola catena, che regolano l'espressione genica a livello post-trascrizionale inducendo principalmente l'inibizione della traduzione, oppure promuovendo la degradazione dell'mRNA target. Nell'uomo sono stati rivelati oltre 900 differenti miRNA, suggerendo un loro coinvolgimento in quasi tutti i processi biologici, inclusi proliferazione/differenziazione cellulare, apoptosi, controllo metabolico, risposta immunitaria. I microRNA 143-145 hanno un ruolo cruciale nella modulazione del fenotipo delle cellule muscolari vascolari lisce (VSMC) il cui switch fenotipico è associato a disturbi vascolari tra cui l'aterosclerosi. Al fine di studiare il ruolo di tali microRNA nello sviluppo dell'aterosclerosi, abbiamo generato una linea di topi knock-out (KO) per tali microRNA e aventi un background aterogenico quale la mancanza del recettore per le LDL (LDL-R); i topi sono stati quindi nutriti per 16 settimane con una dieta aterogena, ad alto contenuto in grassi e colesterolo. Dopo 4 mesi di dieta, i livelli plasmatici di lipidi quali colesterolo e trigliceridi dei topi doppi KO non sono risultati significativamente differenti rispetto agli animali controllo (LDL-R KO), escludendo la possibilità di un coinvolgimento di questi microRNA nella regolazione del metabolismo lipidico. Un'analisi morfometrica delle placche aterosclerotiche a livello della valvola tricuspide ha rivelato invece una diminuzione del 40% nell'estensione della placca dei topi doppi KO rispetto ai controlli mentre la composizione della placca in termini di nucleo necrotico e contenuto in collagene non ha mostrato alcuna differenza. Per approfondire i meccanismi alla base di questi risultati e capire la reale influenza di questi microRNA sullo sviluppo aterosclerotico, è ora in corso la valutazione dell'espressione genica di quelli che, in vitro, si sono dimostrati essere gli mRNA target dei microRNA 143-145. In conclusione, si potrebbe ipotizzare che la mancanza di tale microRNA abbia un effetto ateroprotettivo in questo modello animale di aterosclerosi.

LE ISTONE DEACETILASI DI CLASSE I REGOLANO IL METABOLISMO ENERGETICO IN UN MODELLO DI DIABETE DI TIPO 2 E DI OBESITÀ

A. Ferrari, A. Galmozzi, N. Mitro, E. Fiorino, E. Gers, F. Gilardi, **C. Godio, G. Cermenati, D. Caruso, U. Guerrini, E. Donetti, *A. Mai, **E. Saez, E. De Fabiani, M. Crestani.

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari Università degli Studi di Milano,
*Dipartimento di Studi Farmaceutici Università degli Studi di Roma "La Sapienza",
**Department of Chemical Physiology The Scripps Research Institute La Jolla CA

Le istone deacetilasi (Hdac) giocano un ruolo chiave nella regolazione del metabolismo lipidico nel muscolo scheletrico, nel tessuto adiposo e nel fegato in condizioni normali e patologiche. La disfunzione mitocondriale associata alla disregolazione dell'omeostasi energetica contribuisce all'insorgenza di obesità e insulino-resistenza. Scopo: Attraverso l'impiego di inibitori biochimici selettivi, lo scopo del nostro lavoro è stato indagare in che modo le Hdac di classe I regolano il metabolismo energetico e la funzionalità mitocondriale nel muscolo scheletrico e nel tessuto adiposo. Risultati: MS275, un inibitore selettivo delle Hdac di classe I, aumenta la biogenesi mitocondriale e il metabolismo ossidativo in miotubuli C2C12, in modo Pgc1a-dipendente. Il knock down di Hdac3 aumenta l'espressione genica di Pgc1a e mima gli effetti di MS275. MS275 migliora il fenotipo obeso/diabetico di topi db/db, riducendo il peso corporeo, l'insulina e il glucosio plasmatici e migliorando l'insulino-sensibilità. Nel tessuto adiposo bianco (WAT) MS275 riduce la dimensione degli adipociti, promuove la biogenesi mitocondriale e il catabolismo lipidico stimolando l'espressione di Pgc1a/PPAR γ . Il WAT viscerale di topi trattati con MS275 assume un fenotipo più ossidativo (brown-like) in modo Prdm16-indipendente, con una riduzione di tipici geni infiammatori. Il trattamento con MS275, inoltre, reduce i livelli circolanti di acidi grassi liberi e trigliceridi. Conclusioni: L'inibizione biochimica delle Hdac di classe I stimola la funzionalità mitocondriale attraverso Pgc1a nel muscolo scheletrico e l'asse Pgc1a/Pparg nel tessuto adiposo, inducendo così effetti insulino-sensibilizzanti e migliorando il metabolismo lipidico in topi db/db.

Funded by EU FP6 LSHM-CT2006-037498, Cariplo Foundation 2008.2511, The Armenise-Harvard Foundation and PRIN 2008 ZTN724

ISTONE DEACETILASI DI CLASSE I (HDAC) E METABOLISMO ENERGETICO: NUOVI ATTORI NEL "BROWNING" DEL TESSUTO ADIPOSO?

E. Fiorino, A. Ferrari, A. Galmozzi, N. Mitro, E. Gers, F. Gilardi, **C. Godio, G. Cermenati, D. Caruso, U. Guerrini, #A. Gualerzi, *A. Mai, **E. Saez, E. De Fabiani, M. Crestani.

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

#Dipartimento di Morfologia Umana Università degli Studi di Milano,

*Dipartimento Studi Farmaceutici Università degli Studi di Roma "La Sapienza",

**Department of Chemical Physiology The Scripps Research Institute La Jolla CA

E' stato dimostrato che le HDAC sono modificatori epigenetici che influenzano l'espressione dei geni del metabolismo lipidico. Il tessuto adiposo bruno (BAT) brucia acidi grassi per produrre calore in risposta al freddo e nei soggetti obesi e insulino resistenti la sua funzionalità è compromessa. Nei topi db/db l'inibitore selettivo delle HDAC di classe I MS275, migliora il fenotipo diabetico stimolando il consumo energetico in diversi tessuti.

OBIETTIVI: Determinare il contributo del BAT e i meccanismi molecolari alla base degli effetti antidiabetici di MS275.

RISULTATI: MS275 riduce la dimensione degli adipociti bruni e l'analisi MRI mostra un'aumentata area del BAT interscapolare nei topi db/db. Come prova di migliorata funzionalità del BAT, i topi trattati con MS275 mantengono la temperatura corporea meglio dei controlli durante esposizione al freddo. MS275 non solo aumenta l'espressione di Ucp1 nel BAT e nel WAT ma aumenta anche Adrb3 e altri geni specifici del BAT nel WAT, suggerendo che Adrb3 può essere centrale nel browning del WAT causato dall'inibitore delle HDAC di classe I. Poichè MS275 aumenta l'espressione di Adrb3 negli adipociti bruni, proponiamo che Adrb3 sia un target delle HDAC. L'analisi bioinformatica del promoter di Adrb3 ha identificato siti di legame putativi di PPAR γ , il trattamento con rosiglitazone riduce nettamente i livelli trascrizionali di Adrb3. PPAR γ potrebbe quindi essere un regolatore negativo di questo gene.

CONCLUSIONE: Sulla base dei nostri risultati ipotizziamo che le HDAC di classe I sono centrali nel browning del WAT e Adrb3 ha un ruolo cruciale in questo cambiamento fenotipico.

Finanziato da EU FP6 LSHM-CT2006-037498, Cariplo Foundation 2008.2511, The Armenise-Harvard Foundation and PRIN 2008 ZTN724

SVILUPPO DI NUOVI INIBITORI DI RAC1 QUALI POTENZIALI AGENTI FARMACOLOGICI PER IL TRATTAMENTO DELL'ATEROSCLEROSI

Nicola Ferri¹, Sergio Kevin Bernini¹, Alberto Corsini¹, and Alessandro Contini²

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

2 Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milano

Osservazioni cliniche e sperimentali hanno documentato il coinvolgimento della proteina G monomeric Rac1 in patologie cardiovascolari portando allo sviluppo di una nuova classe di agenti farmacologici. Il nostro gruppo di ricerca ha recentemente individuato due derivati a struttura N-(sulfamoidil)arilammidica con proprietà inibitorie di Rac (composti 4 e 5) [1]. In questo studio abbiamo esteso questa osservazione utilizzando un approccio computazionale che ha permesso di selezionare 57 nuove entità chimiche simili ai composti 4 e 5 ma con alcune modificazioni in due regioni chimiche. 23 composti si sono dimostrati in grado di ridurre i livelli di Rac-GTP in maniera significativa in cellule muscolari lisce (CML) in coltura. Una analisi comparativa su questi composti, alla concentrazione di 25 μM , ha portato ad identificare i composti 1, 2, 3, 11 e 21 quali i più potenti inibitori di Rac.

I valori di IC₅₀ erano compresi tra il 2.9 e 29.1 μM . I composti 1, 2, 3 e 21 non hanno mostrato alcun effetto sull'attivazione della proteina RhoA, mentre il composto 11 ha ridotto parzialmente i livelli di RhoA-GTP, mostrando una scarsa selettività. L'inibitore più promettente, il composto 2, ha ridotto i livelli di Rac-GTP indotti dalla espressione esogena di tre diversi fattori di scambio del nucleotide guanina (GEF: Tiam1, TrioN and Vav2) in CML. Il composto 2, inoltre, ha inibito la migrazione delle CML in risposta al PDGF-BB in maniera concentrazione dipendente (IC₅₀ = 5.8 μM) e l'adesione della linea cellulare di monociti umani THP-1 alle cellule endoteliali di cordone ombelicale umano (HUVEC), suggerendo un potente effetto anti-infiammatorio. In conclusione, mediante un approccio computazionale, abbiamo identificato quattro nuovi composti con una attività inibitoria su Rac potente e selettiva. In particolare, il composto 2 ha inibito in modo concentrazione dipendente l'attività di Rac interferendo con lo scambio GDP-GTP mediato dai GEF. Questo composto è risultato essere più potente degli inibitori originariamente individuati (composti 4 e 5) e utilizzabile per studi futuri in modelli in vivo di aterosclerosi.

[1] Ferri N, Corsini A, Bottino P, Clerici F, Contini A, J Med Chem 2009, 52; 4087-4090.

RUOLO DELLE HDL SUI MONOCITI NELL'UOMO E IN MODELLI ANIMALI

L. Cutuli¹, F. Sala¹, S. Fiorelli¹, L. Grigore², K. Garlaschelli², G. Chiesa¹, G.D. Norata^{1,2}, A.L. Catapano^{1,2}

1 Università degli studi di Milano, Italia; 2 Centro SISA per lo studio dell'aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia

HDL possiedono funzioni ateroprotettive incluso la modulazione di cellule del sistema immunitario come i monociti, attraverso la deplezione di colesterolo dai lipid rafts.

Lo scopo dello studio è stato in primo luogo quello di investigare la correlazione tra le sottopopolazioni monocitarie e le HDL nell'uomo e in modelli animali; in seguito si è studiato l'effetto delle HDL su marker immunologici nei monociti umani.

Una correlazione inversa significativa è stata osservata tra i livelli di HDL e la percentuale di CD14⁺⁺CD16⁻ (monociti classici) in una popolazione comune ($r = -0,36$; $p < 0,001$). Pazienti con ipoalfalipoproteinemia primaria mostravano un alta percentuale di monociti CD14⁺⁺CD16⁻ (monociti non classici) comparati con soggetti controllo, abbinati per età e sesso ($92,42\% \pm 3,95\%$ vs $88,78\% \pm 3,07\%$, rispettivamente; $p < 0,01$;) e, una significativa riduzione in percentuale di monociti CD14⁻CD16⁺⁺. Un'analisi dell'espressione genica aveva mostrato che monociti provenienti da pazienti con ipoalfalipoproteinemia presentavano aumentati livelli di CD40L, MCP-1 e IL-10, mentre non si osservavano differenze per l'espressione di IL-6, TNF γ ; TNF α ; and CD40. La terza corte, che presentava un significativo aumento dei livelli plasmatici di colesterolo totale, trigliceridi e ApoB e una significativa riduzione dei livelli di HDL e ApoA1 mostrava un significativo incremento di monociti CD14⁺⁺CD16⁻ ($92,65 \pm 3,52\%$ vs $88,57 \pm 5,39\%$; $p = 0,03$). Interessante, inoltre osservare come topi ApoA1 Knockout mostravano un alta percentuale di monociti classici rispetto ai topi tg ApoA1 (Ly6C in CD11b⁺) ($92,11 \pm 2,65\%$ vs $83,57 \pm 4,14\%$; $p < 0,01$). Infine è stato studiato come l'espressione di CD14 sui monociti di soggetti normali dopo stimolazione con HDL e rHDL si è ridotta di circa il 23% rispetto ai monociti controllo ($p < 0,05$).

I nostri dati indicano che bassi livelli di HDL sono associati con un aumento percentuale dei monociti classici sia nell'uomo che nei modelli animali. Inoltre le HDL potrebbero modulare il colesterolo nei lipid rafts di cellule del sistema immunitario e indirettamente l'espressione di CD14. Gli studi futuri sono indirizzati a capire i potenziali meccanismi molecolari alla base della correlazione tra HDL e risposta immunitaria cellulare.

PROFILO PROTROMBOTICO E TRASCRITTOMICO DELLE PIASTRINE NEI PAZIENTI CORONAROPATICI CON DIABETE MELLITO DI TIPO 2

L. Rossetti¹, M. Brambilla¹, P. Canzano¹, L. Piacentini¹, D. Trabattoni¹, F. Saporiti¹, G. Teruzzi¹, GC. Marenzi¹, G.I. Colombo¹, A. Bartorelli¹, E. Tremoli^{1,2}, M. Camera^{1,2}

1Centro Cardiologico Monzino IRCCS

2Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

Introduzione: Studi condotti recentemente dal nostro gruppo hanno evidenziato che nei pazienti con malattia coronarica (CAD) il Fattore Tessutale associato alle piastrine (pTF) è aumentato e che il trascrittoma piastrinico è modificato rispetto ai volontari sani.

Le alterazioni metaboliche correlate al diabete mellito di tipo 2 (T2DM) incrementano la reattività piastrinica.

In questo studio abbiamo valutato se il diabete influenzi l'espressione di pTF, la funzione emostatica globale e il profilo trascrittomico piastrinico nei pazienti CAD.

Materiali e metodi: Trenta pazienti CAD con T2DM e trenta pazienti CAD senza T2DM sono stati arruolati. L'espressione di pTF è stata valutata mediante citofluorimetria in sangue intero, sia in condizioni basali che dopo stimolazione con ADP. La funzione emostatica globale è stata verificata utilizzando la tromboelastometria (ROTEM). Il profilo trascrittomico piastrinico è stato studiato attraverso i microarrays Illumina BeadChip Human HT-12 v4.

Risultati: Nei pazienti T2DM la percentuale di piastrine positive al TF è significativamente maggiore ($3.7 \pm 1.2\%$) rispetto ai pazienti non diabetici ($2.4 \pm 0.5\%$).

L'incremento percentuale di espressione di pTF dopo stimolazione rispetto alla condizione basale è significativamente più alto nei pazienti con diabete ($30.5 \pm 11.7\%$) rispetto ai pazienti non diabetici ($17.6 \pm 3.9\%$).

I parametri tromboelastometrici valutati mediante ROTEM sono significativamente incrementati nei pazienti diabetici.

L'analisi dei microarray ha mostrato che 23 trascritti sono differenzialmente espressi nelle piastrine di pazienti diabetici rispetto ai non diabetici e che due funzioni molecolari, lo splicing alternativo e il nucleotide binding, sono significativamente alterate dal T2DM nei pazienti CAD.

Conclusioni: La maggior quantità di piastrine TF-positive e l'aumentata funzione emostatica globale estendono le nostre conoscenze sul potenziale meccanismo responsabile del fenotipo protrombotico associato al diabete.

I trascritti differenzialmente espressi nelle piastrine dei pazienti diabetici possono essere utili per comprendere i meccanismi alla base dell'aumentata reattività piastrinica e/o potrebbero rappresentare dei biomarcatori per il rischio trombotico.

MODIFICAZIONI ULTRASONOGRAFICHE DEL TESSUTO ADIPOSO VISCERALE E SOTTOCUTANEO DOPO TERAPIA CON PIOGLITAZIONE O GLIBENCLAMIDE IN COMBINAZIONE CON ROSUVASTATINA IN PAZIENTI DIABETICI DI TIPO 2 NON BEN CONTROLLATI DA METFORMINA

Pamela Maffioli, Angela D'Angelo, Tiziano Perrone, Elena Fogari, Giuseppe Derosa

Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Pavia

Scopo: valutare gli effetti di pioglitazone o glibenclamide in monoterapia o in combinazione con rosuvastatina sulla steatosi epatica in pazienti diabetici di tipo 2 non adeguatamente controllati da metformina.

Metodi: 160 pazienti sono stati arruolati. Dopo un periodo di tre mesi di metformina al dosaggio di 850 mg tre volte al giorno, i pazienti sono stati randomizzati ad assumere pioglitazone 15 mg due volte al giorno o glibenclamide 5 mg due volte al giorno per 6 mesi, poi rosuvastatina è stata aggiunta per altri 6 mesi. I pazienti sono stati sottoposti ad un esame ecografico per valutare il grado di steatosi, il tessuto adiposo sottocutaneo (SAT) e il tessuto adiposo viscerale (VAT), ad un clamp isoglicemico iperinsulinemico per valutare il tasso di infusione di glucosio (GIR) e ad un prelievo di sangue per valutare il valore di emoglobina glicata (HbA1c), la glicemia a digiuno (FPG), la glicemia post-prandiale (PPG), l'insulinemia a digiuno (FPI), il profilo lipidico, l'adiponectina (ADN), il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF-alfa), l'interleuchina 6 (IL-6) e la proteina C-reattiva ad alta sensibilità (Hs-CRP) al basale, a 6 e 12 mesi.

Risultati: sia pioglitazone che glibenclamide hanno dato una riduzione significativa del compenso glicemico rispetto al basale ($p < 0.05$). Pioglitazone ha ridotto FPI ($p < 0.05$), mentre glibenclamide l'ha aumentata ($p < 0.05$). Pioglitazone ha significativamente aumentato GIR rispetto a glibenclamide. L'aggiunta di rosuvastatina non ha portato ad un peggioramento del compenso glicemico. Per quanto riguarda il profilo lipidico, pioglitazone ha significativamente ridotto il colesterolo totale e i trigliceridi, e ha aumentato il colesterolo HDL, mentre glibenclamide non ha influenzato questi parametri. L'aggiunta di rosuvastatina ha portato ad un miglioramento del profilo lipidico in entrambi i gruppi, anche se il miglioramento è stato maggiore nel gruppo in terapia con pioglitazone e rosuvastatina ($p < 0.05$ vs glibenclamide e rosuvastatina). Pioglitazone + rosuvastatina hanno significativamente ridotto i parametri infiammatori rispetto a glibenclamide + rosuvastatina ($p < 0.05$). Pioglitazone ha significativamente ridotto il grado di steatosi, SAT, e VAT rispetto al basale ($p < 0.05$), mentre glibenclamide non ha influenzato questi parametri. L'aggiunta di rosuvastatina ha portato ad un ulteriore miglioramento di tali parametri rispetto al basale sia nel gruppo trattato con pioglitazone ($p < 0.01$ vs basale) sia nel gruppo trattato con glibenclamide ($p < 0.05$), ma il miglioramento è risultato superiore con l'associazione di pioglitazone e rosuvastatina.

Conclusioni: pioglitazone è risultato più efficace di glibenclamide nel migliorare il grado di steatosi epatica sia in monoterapia che in associazione con rosuvastatina.

LA POLARIZZAZIONE DEI LINFOCITI T AD OPERA DELLE CELLULE DENDRITICHE È INFLUENZATA DALLE DIVERSE ISOFORME DELL'APOLIPOPROTEINA E

Lupini S¹, Garlaschelli K.¹, Grigore L.¹, Catapano A.L.^{1,2,3}, Norata G.D.^{1,2}

1 Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi – U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano, 2 Università degli Studi di Milano, Dipartimento Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Milano, 3 IRCCS Multimedica, Cinisello Balsamo, Milano

Alterazioni dei livelli e della funzionalità di proteine chiave del metabolismo lipidico quali l'apolipoproteina E (ApoE) sono state associate ad un'aumentata infiammazione e aterosclerosi nei modelli animali. L'ApoE viene prodotta anche da cellule di origine mieloide e potrebbe essere potenzialmente coinvolta nella regolazione della maturazione e della funzionalità delle cellule immunitarie comprese quelle coinvolte nella presentazione dell'antigene (APCs). Le APCs, tra cui le cellule dendritiche, sono presenti nella placca aterosclerotica e nei linfonodi e favoriscono la maturazione e la polarizzazione dei linfociti T naive CD4⁺ (Tn) verso fenotipi memoria che recentemente si sono associati ad aumentata aterosclerosi preclinica e sindromi coronariche acute. Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare le proprietà di cellule dendritiche di soggetti portatori di differenti isoforme di ApoE (E2, E3, E4) nel modulare la polarizzazione delle cellule T naive a fenotipi memoria

MATERIALI E METODI Le cellule dendritiche immature sono state generate dopo incubazione dei monociti, isolati da soggetti portatori delle diverse isoforme dell'apolipoproteina E, mediante l'aggiunta di IL-4 e GM-CSF per 5 giorni. Le cellule sono state quindi incubate con N-LDL o OX-LDL, utilizzati come antigeni per attivare e permettere la maturazione delle cellule dendritiche, per 48h e successivamente sono stati aggiunti i linfociti T naive autologhi isolati mediante l'utilizzo di biglie magnetiche e selezione negativa (CD4 Tn mylteni). La polarizzazione dei linfociti T verso i fenotipi memoria (Mixed lymphocyte reaction) è stata valutata mediante analisi citofluorimetrica delle seguenti popolazioni linfocitarie: central memory (CD4⁺;CD45RO⁺;CCR7⁺; Tcm) effector memory (CD4⁺;CD45RO⁺;CCR7⁻; Tem) e della controparte T naive (CD4⁺;CD45RO⁻;CCR7⁻; Tn).

RISULTATI I risultati della mixed lymphocyte reaction mostrano come cellule dendritiche che esprimono apoE3 promuovono l'acquisizione del fenotipo memoria nel (46.37%) delle cellule TCD4⁺ e nel dettaglio si osserva il 43,59% di Tcm, il 2,78 % di Tem e 53,64 % di cellule Tn. Simili valori si osservano anche nel caso di mixed lymphocyte reaction effettuata con cellule dendritiche isolate da portatori dell'apoE4 (47,95% di Tcm, 7,97% di Tem e 43,99% di cellule Tn). Invece, cellule dendritiche che esprimono apoE2, si associano ad una ridotta percentuale di cellule memoria sia per quanto riguarda Tcm che Tem. Questo dato si conferma anche quando vengono utilizzate N-LDL oppure Ox-LDL suggerendo che la protezione associata all'isoforma E2 possa essere indipendente dall'effetto proaterogeno delle lipoproteine.

CONCLUSIONI La presenza di linfociti Tem è associata alle malattie cardiovascolari nell'uomo e in modelli animali privi di apoE. I nostri dati suggeriscono che le differenti isoforme di apoE possono influenzare i meccanismi di attivazione della risposta immunitaria adattativa attraverso la regolazione dell'efficienza delle cellule dendritiche nel polarizzare i linfociti T verso i fenotipi memoria. Nel dettaglio l'isoforma E2 si associa ad una significativa riduzione delle popolazioni Tem e Tcm.

FATTORE TESSUTALE: DAL MEGACARIOCITA ALLA PIASTRINA

Facchinetti L.¹, Boselli D.¹, Brambilla M.¹, Canzano P.¹, Tremoli E.^{1,2} and Camera M.^{1,2}

¹Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Centro di Ricerche Farmacologiche per lo Studio e la Prevenzione delle Malattie Cardiovascolari, Milano, Italia

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

INTRODUZIONE — Il fattore tissutale (TF), una glicoproteina transmembrana di 47kDa, è il principale attivatore della cascata della coagulazione. Negli anni 2000 Yale Nemerson dimostrò per la prima volta che il TF è presente, tra le cellule circolanti, anche nelle piastrine. Diversi meccanismi potrebbero essere responsabili della presenza del TF, sia proteina che mRNA, nelle piastrine: il trasferimento mediante le microparticelle, il trasferimento dai megacariociti oppure la sintesi endogena. Tuttavia l'espressione del TF è ancora controversa, infatti alcuni studi sembrano non confermarne la presenza nei megacariociti e nelle piastrine.

SCOPO — Lo scopo di questo lavoro è stato quindi dimostrare che sia i megacariociti che le piastrine esprimono il TF utilizzando una linea cellulare megacariocitaria in vitro, in modo da evitare l'interazione con altre cellule circolanti.

METODI — Una linea cellulare umana megacarioblastica, MEG-01, è stata trattata in presenza di acido valproico (VPA, 2mM) per indurre il differenziamento (MK) e la produzione di "platelet-like particles" (PLPs). MK e PLPs sono state caratterizzate per la presenza di marcatori di popolazione (glicoproteina IIb [CD41] e IIIa [CD61]) e per l'espressione del TF mediante ELISA, citofluorimetria e immunocitochimica. La presenza dell'mRNA del TF è stata valutata mediante RT-PCR sia nei MK che nelle PLPs.

RISULTATI — La megacariopoiesi delle MEG-01 indotta dal VPA risultava in un significativo aumento della percentuale di cellule adese (da $2,6 \pm 1,5$ a $70 \pm 2,3$) che mostravano le principale caratteristiche dei MK quali la poliploidia, la formazione di "pro-platelet" e l'elevata espressione di marcatori megacariocitari CD41 e CD61 (90% e 95%, rispettivamente). Anche le PLPs erano CD61⁺ (65%) e CD41⁺ (30%). Il TF era espresso dai MK e dalle PLPs sia in superficie che all'interno delle cellule, come dimostrato mediante analisi citofluorimetrica, immunocitochimica ed ELISA. Esperimenti di RT-PCR hanno confermato la presenza dell'mRNA di TF, GpIIIa e GpIb sia nei MK che nelle PLPs.

CONCLUSIONI — L'utilizzo di una linea cellulare ben caratterizzata, MEG-01, ci ha permesso di dimostrare l'espressione del TF sia nei megacariociti che nelle PLPs, confermando l'ipotesi che il trasferimento del TF dal megacariocita può giustificare la sua presenza nelle piastrine.

RUOLO DELL'ATTIVAZIONE DI LXR NELLA NEUROPATIA PERIFERICA INDOTTA DAL DIABETE

E. Brioschi¹, G. Cermenati¹, F. Abbiati¹, S. Cermenati², E. Saez³, E. De Fabiani¹, M. Crestani¹, L.M. Garcia-Segura⁴, R.C. Melcangi¹, and D. Caruso¹ and N. Mitro¹

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

²Dipartimento di Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università degli Studi di Milano.

³Department of Chemical Physiology, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA.

⁴Instituto Cajal, C.S.I.C., Madrid, Spain.

La neuropatia periferica (NP) è una delle più comuni complicazioni indotte dal diabete (1). Questa patologia si manifesta con danni a livello dei nervi periferici dovuti ad alterazioni della guaina mielinica che si traducono in una diminuzione della velocità di conduzione nervosa (2). La mielina è una membrana biologica caratterizzata da un alto contenuto lipidico che le conferisce la capacità elettrico-isolante necessaria per la propagazione saltatoria dell'impulso nervoso. Recentemente abbiamo dimostrato che l'attivazione dei recettori nucleari Liver X Receptors (LXRs), promuovendo l'utilizzo di colesterolo intracellulare, è in grado di proteggere animali diabetici dallo sviluppo di NP (3). Inoltre gli LXRs regolano direttamente la sintesi degli acidi grassi, attivando l'espressione della Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c (SREBP-1c), noto fattore di trascrizione lipogenico.

L'obiettivo del nostro lavoro è stato quello di determinare se l'attivazione della lipogenesi mediata da LXR (tramite SREBP-1c) avesse un effetto protettivo sulle alterazioni della guaina mielinica dei nervi periferici di animali diabetici.

Lo studio è stato condotto su nervi periferici (sciatico) isolati da ratti controllo, ratti diabetici ottenuti tramite iniezione intraperitoneale di streptozotocina (modello sperimentale di diabete di tipo I) e ratti diabetici trattati con un ligando sintetico di LXR (GW3965). Mediante analisi in LC-MS/MS abbiamo dimostrato che il diabete, nel nervo sciatico, promuove l'accumulo di acidi grassi saturi che alterano la composizione lipidica della guaina mielinica. Parallelamente abbiamo osservato una diminuzione nei livelli di espressione dei geni chiave nella via biosintetica degli acidi grassi. Inoltre, gli animali diabetici mostravano anche una diminuzione significativa (circa il 60%) del livello di colesterolo di membrana, indicando una possibile alterazione della fluidità di membrana. Infine, il trattamento di animali diabetici con GW3965 ripristina i livelli di acidi grassi, di colesterolo e l'espressione di geni della via biosintetica degli acidi grassi a quelli osservati negli animali controllo. Questi effetti benefici si riflettono in un netto miglioramento di parametri fisiologici come la sensibilità termica e la velocità di conduzione nervosa. Questi dati suggeriscono che l'attivazione di LXR abbia un ruolo protettivo nella neuropatia periferica indotta dal diabete attraverso la modulazione del metabolismo lipidico.

Referenze:

1. Zimmet P, Alberti KGMM, Shaw J (2001) Global and societal implication of the diabetes epidemic. *Nature*, 414: 782-787.
2. Vinik AI, Park TS, Stansberry KB, Pittenger GL: Diabetic neuropathies (2000) *Diabetologia* 43:957-973.
3. Cermenati G, Giatti S, Cavaletti G, Bianchi R, Maschi O, Pesaresi M, Abbiati F, Volonterio A, Saez E, Caruso D, Melcangi RC, Mitro N (2010) *The Journal of Neuroscience*, 30:11896-11901.

DANNO VASCOLARE DOPO IMPIANTO DI STENT: MODULAZIONE DELL'ESPRESSIONE GENICA IN UN MODELLO DI CELLULE ENDOTELIALI UMANE.

Lorena Cozzi¹, Jonica Campolo¹, Federico Vozzi², Silvana Penco³, Claudio Domenici², Arti Ahluwalia⁴, Paolo Marraccini², Oberdan Parodi¹

¹Istituto di Fisiologia Clinica CNR Milano, Dipartimento Cardioracovascolare, Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano; ²Istituto di Fisiologia Clinica CNR Pisa; ³Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Genetica Medica, Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano; ⁴Centro di Ricerca Interdipartimentale E. Piaggio, Università di Pisa, Pisa.

Introduzione. E' noto che un'alterazione dello shear stress può causare a livello vascolare un danno endoteliale attraverso la regolazione di specifici pattern di espressione genica. Non è invece chiaro come una procedura interventistica, come l'applicazione di uno stent, possa influenzare la risposta trascrizionale dell'endotelio. Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'effetto dello shear stress in presenza di uno stent sull'espressione genica di cellule endoteliali umane di cordone ombelicale (HUVEC) in un modello sperimentale di bioreattore a flusso laminare (LFB).

Metodi. Le HUVEC sono state posizionate in un sistema LFB per 24 ore ed esposte a 2 differenti stimoli di shear stress, 1 dyne/cm² (F1) e 10 dyne/cm² (F10), in assenza (AS) o presenza (PS) di stent. L'analisi dei profili di espressione genica è stata valutata mediante piattaforma Affymetrix dopo estrazione dell'RNA totale da ciascun esperimento. I geni differenzialmente espressi nelle diverse condizioni sperimentali sono stati individuati sulla base di un'analisi della varianza (ANOVA) considerando valori di $P < 0,01$ e un fold change > 3 in modulo.

Risultati. Dal confronto dell'espressione genica ottenuta a F1 rispetto a F10 nelle due condizioni AS e PS, sono stati identificati due principali cluster genetici. Cluster 1 comprende 32 geni comuni, espressi sia nel confronto F1AS versus F10AS che in quello F1PS versus F10PS. Cluster 2 è costituito da 115 probes che comprendono 83 nuovi geni espressi solo nel confronto tra F1PS e F10PS, oltre ai 32 geni comuni del cluster 1.

Al primo cluster appartengono geni che codificano per mediatori infiammatori ed apoptotici. Al secondo cluster geni coinvolti nell'organizzazione del citoscheletro, nella funzione della matrice extracellulare, e nel trasporto/metabolismo del colesterolo.

Conclusioni. La presenza dello stent sembra modulare il maggior numero di geni nel nostro modello di bioreattore, molti dei quali sono coinvolti nella permeabilità ed attivazione dell'endotelio. Questi cambiamenti potrebbero contribuire al danno vascolare che caratterizza la restenosi intra-stent.

IL CONTENUTO INTRACELLULARE DI COLESTEROLO MODULA L'ATTIVITÀ DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE IN CELLULE SCHIUMOSE

G. Tibolla^{1,2}, P. Uboldi¹, V. Chiurchiù³, M. Lanuti^{3,4}, M. Maccarrone^{3,4} and A.L. Catapano^{1,5}

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

2 Centro SISA per lo studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia

3 European Center for Brain Research (CERC), Fondazione Santa Lucia I.R.C.C.S., Roma, Italia

4 Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Teramo, Teramo, Italia

5 I.R.C.C.S. Ospedale MultiMedica, Milano, Italia

Numerose evidenze sperimentali suggeriscono un ruolo importante del sistema endocannabinoide nello sviluppo dell'aterosclerosi. In questo studio è stato studiato come il contenuto di colesterolo moduli l'espressione delle diverse componenti del sistema endocannabinoide e l'effetto dell'attivazione del sistema stesso sul metabolismo del colesterolo in cellule schiumose. Esperimenti di Q-PCR in linee macrofagi che immortalizzate, J774 e RAW264.7, e macrofagi murini peritoneali mostrano come il trattamento con LDL acetilate (AcLDL) 100 µg/mL aumenti significativamente l'espressione del recettore endocannabinoide di tipo 1 (Cb1R) diminuendo invece l'enzima deputato alla degradazione di anandamide (FAAH), mentre l'espressione del recettore endocannabinoide di tipo 2 (Cb2R) rimane invariata. In cellule RAW 264.7 incubate con WIN 55,212-2, un agonista di entrambi i recettori endocannabinoidi Cb1R e Cb2R, si assiste ad un aumento significativo del recettore scavenger CD36 sulla membrana plasmatica, questo effetto viene però abrogato in presenza di AcLDL e LDL ossidate e non si associa con un aumentato uptake di LDL modificate. L'analisi dell'espressione genica dei principali trasportatori del colesterolo mostra invece come l'attivazione del sistema endocannabinoide diminuisca in modo specifico i livelli di ABCA1, senza nessun effetto sull'espressione di ABCG1 e SR-BI, suggerendo un effetto sull'efflusso di colesterolo verso apolipoproteina A1 (ApoA1). Ulteriori studi in macrofagi murini peritoneali confermano questa ipotesi e mostrano che il trattamento con WIN 55,212-2 riduce (-40%, p=0.03) l'efflusso di colesterolo mediato da ApoA1 mentre non si hanno effetti utilizzando HDL3 come accettore. I nostri dati mostrano quindi che il contenuto di colesterolo intracellulare modula positivamente l'espressione di Cb1R e che la stimolazione del sistema endocannabinoide in cellule schiumose riduce l'efflusso mediato da ApoA1 senza alterare l'uptake di LDL modificate.

CAPACITÀ VASOPROTETTIVA DELLE HDL DI SOGGETTI CON DEFICIT GENETICO DI CETP

A. Ossoli¹, S. Pozzi¹, P. Nilsson², W. Jessup³, J.A. Kuivenhoven⁴, R. Spina⁵, V. Valenti⁵, A.B. Cefalù⁵, M.R. Averna⁵, C.R. Sirtori¹, G. Franceschini¹, L. Calabresi¹, M. Gomaraschi¹

¹Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Via Balzaretti 9, 20133 Milano

²Department of Clinical Sciences, Lund University, University Hospital, Malmö, Sweden

³Center of Vascular Research, University of New South Wales, Sydney, Australia;

⁴Department of Experimental Vascular Medicine, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands;

⁵Dipartimento di Medicina Clinica e delle Patologie Emergenti, Policlinico "Paolo Giaccone", Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italy

La Cholesteryl ester transfer protein (CETP) è una glicoproteina plasmatica che catalizza lo scambio di esteri del colesterolo e trigliceridi tra le HDL e le lipoproteine contenenti apoB.

I difetti genetici di CETP sono una tra le principali cause di iperalfalipoproteinemia e rappresentano un modello di studio ideale per valutare come le alterazioni strutturali delle HDL possano modificare la loro funzionalità. Scopo del presente lavoro è valutare l'attività vasoprotettiva delle HDL isolate da soggetti con deficit genetico di CETP.

Le HDL totali, HDL2 e HDL3 sono state isolate dal plasma di soggetti portatori di tre differenti mutazioni sul gene che codifica per la CETP (R37X, Q165X e IVS7+1); tutte le tre mutazioni portano alla formazione di una proteina tronca e inattiva. Le HDL sono state quindi caratterizzate per composizione lipidico/lipoproteica e sono state valutate le loro proprietà anti-infiammatorie e di promozione della produzione di ossido nitrico (NO) in cellule endoteliali.

La capacità di inibire l'espressione di VCAM-1 e di promuovere l'espressione di eNOS delle HDL e HDL3 dei soggetti con deficit genetico di CETP è paragonabile a quella di HDL e HDL3 dei soggetti controllo. Le HDL2 dei soggetti portatori della mutazione hanno invece dimostrato maggiori proprietà anti-infiammatorie e un'aumentata capacità di promuovere l'espressione di eNOS, dovute probabilmente alla loro particolare composizione lipidica e all'aumentato contenuto in apoE. Al contrario, le HDL e le relative sottopopolazioni dei portatori mostrano una ridotta capacità di attivare l'eNOS e di promuovere la produzione di NO.

Le HDL2, che si accumulano nei soggetti con deficit genetico di CETP, si sono dimostrate capaci di mantenere l'omeostasi endoteliale, supportando quindi lo sviluppo di una terapia farmacologica mirata all'inibizione di CETP per aumentare la concentrazione plasmatica di HDL e favorire quindi i meccanismi ateroprotettivi da esse mediati.

INSUFFICIENZA RENALE IN PAZIENTI CON SINDROME CORONARICA ACUTA: UNO SGUARDO AL PROFILO PROTROMBOTICO, TRASCRITTOMICO E PROTEOMICO PIASTRINICO

P. Canzano¹, M. Brambilla¹, M. Brioschi¹, L. Piacentini¹, L. Rossetti¹, GC. Marenzi¹, C. Banfi¹, G. Teruzzi¹, E. Bono¹, D. Trabattoni¹, G.I. Colombo¹, M. De Metrio¹, A. Bartorelli¹, E. Tremoli^{1,2}, M. Camera^{1,2}

¹Centro Cardiologico Monzino IRCCS

²Dip. di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

Introduzione - I pazienti con insufficienza renale cronica (IRC) presentano un maggior rischio di sviluppare malattia coronarica. L'IRC causa modificazioni nella reattività piastrinica portando ad una maggiore incidenza di complicanze trombotiche rispetto ai pazienti con malattia cardiovascolare ma non affetti da IRC.

Recentemente, il nostro gruppo ha dimostrato che l'espressione piastrinica di Fattore Tessutale (TF) è maggiore nei pazienti con sindrome coronarica acuta (ACS) rispetto ai pazienti con angina stabile (SA). Inoltre, le piastrine, in particolari condizioni patologiche, in risposta all'attivazione, possono presentare un corredo trascrittomico modificato.

Scopo - In questo studio abbiamo comparato, in pazienti con ACS con e senza IRC, l'espressione piastrinica di TF, il profilo di espressione genica piastrinico e il profilo proteomico plasmatico.

Materiali e Metodi - Sono stati arruolati 75 pazienti con ACS: 25 affetti da IRC e 50 senza IRC. Il TF piastrinico è stato valutato mediante citofluorimetria in sangue intero; il trascrittoma piastrinico mediante Illumina Human BeadChips; i cambiamenti nelle proteine plasmatiche mediante elettroforesi bidimensionale (2-DE).

Risultati - La percentuale di piastrine TF-positive nei pazienti con IRC è risultata significativamente inferiore rispetto ai pazienti senza IRC sia in condizioni basali (3.65 ± 1.17 e 4.69 ± 0.8 , rispettivamente) sia dopo stimolazione con ADP (14.5 ± 3.2 e 20.38 ± 1.52 , rispettivamente). L'analisi di espressione differenziale del trascrittoma ha mostrato che 28 geni risultano almeno 1.5 volte più espressi e 16 geni meno espressi nei pazienti con IRC ($p < 0.01$). I livelli di espressione di 87 geni correlano con la severità dell'IRC: 68 positivamente e 19 negativamente ($p < 0.01$). L'analisi proteomica mediante elettroforesi bidimensionale ha rivelato differenze significative tra i due gruppi nell'espressione di 10 proteine plasmatiche, tra cui la Fetuina, proteina che regola la concentrazione di calcio.

Conclusioni - La minore espressione piastrinica di TF nei pazienti con ACS con IRC rispetto ai pazienti senza IRC potrebbe indicare uno stato di continua attivazione, che porterebbe ad una diminuzione dell'espressione "da consumo".

Due meccanismi molecolari sembrano essere influenzati dall'IRC: i geni che regolano l'interazione matrice extracellulare-recettore risultano iper-espressi, mentre i geni per i fattori coinvolti nella traduzione risultano ipo-espressi.

Saranno necessarie, inoltre, ulteriori indagini per determinare la rilevanza, come possibili biomarker prognostici, delle proteine plasmatiche identificate mediante analisi proteomica.

BASSI LIVELLI DI COLESTEROLO HDL SONO PREDITTORI INDIPENDENTI DELLA PROGRESSIONE DELL'INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

A. Baragetti^{1,2}, G.D. Norata^{1,2}, C. Sarcina³, F. Rastelli³, L. Grigore¹, K. Garlaschelli¹, P. Uboldi², C. Pozzi³, I. Baragetti³, A.L. Catapano^{1,2,4}

1 Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi – U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano 2 Università degli Studi di Milano, Dipartimento Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Milano 3 U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano, 4 IRCCS Multimedica, Cinisello Balsamo, Milano

INTRODUZIONE. Il paziente affetto da insufficienza renale cronica (CKD) spesso presenta bassi livelli di colesterolo HDL (HDL-C). Non è ancora chiaro se questa riduzione sia causa o effetto della progressione del danno renale. Abbiamo pertanto studiato la relazione tra i livelli di HDL-C, la funzionalità di questa frazione lipoproteica e il declino della capacità filtrante (GFR) in pazienti affetti da CKD.

MATERIALI E METODI. Abbiamo selezionato 176 pazienti (50.85 ± 29.26 mL/min/1.73 m²) e ne abbiamo osservato la progressione della CKD in un follow-up di 84 mesi. Sono stati valutati il profilo lipidico e lo stato clinico metabolico e comparati con quelli di soggetti (n=453) selezionati tra la popolazione generale. Inoltre in 19 pazienti in stadio avanzato di CKD (ESRD) e in controlli matchati per età e sesso sono stati determinati i potenziali di trasporto inverso di colesterolo mediati da Scavenger Receptor class B member 1 (SR-B1) e ATP-Binding Cassette transporter A1 (ABCA-1).

RISULTATI. Diabete e Ipertensione erano associati inizialmente con un ridotta (GFR); lo stesso si osservava per i livelli di HDL-C (< 50 mg/dL se donna o < 40 mg/dL se uomo) ($\beta = -0.056$, $p < 0.001$), i quali hanno predetto un più precoce ingresso in dialisi o raddoppio della creatinemia ($p = 0.001$). All'analisi multivariata i livelli di HDL-C sono rimasti l'unica frazione lipidica ad essere associata con la progressione della CKD, indipendentemente dalla presenza di diabete (RR = 0.951 [0.917-0.986] 95% C.I., $p = 0.007$); inoltre l'aggiunta di questi livelli agli altri fattori di rischio incrementava l'accuratezza predittiva dell'evento (C-statistic: 0.752 [0.644-0.860] vs 0.729 [0.629-0.829] 95% C.I.). Per contro, i livelli plasmatici di HDL non erano correlati con il potenziale di trasporto inverso del colesterolo mediata da SR-B1 nei pazienti con ridotta GFR.

CONCLUSIONI. Ridotti livelli di HDL-C si sono mostrati associati alla prognosi peggiore della malattia. La funzionalità delle HDL nel trasporto inverso del colesterolo sembra non associata con un'alterata funzionalità renale. Questi dati rendono evidente l'ipotesi di un ruolo delle HDL nella progressione della CKD.

OMOCISTEINA PLASMATICA E GENOTIPO MTHFR IN UNA POPOLAZIONE DI BAMBINI CON IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE ETEROZIGOTE

C. Pederiva, M.E. Capra, A. Domi, M. Giovannini, E. Riva.

Clinica Pediatrica, Ospedale San Paolo, Università degli Studi di Milano

Obiettivo: livelli aumentati di omocisteina plasmatica (tHcy) sono un fattore di rischio indipendente per patologia cardiovascolare (CVD) in età adulta. L'obiettivo di questo studio è la valutazione dei livelli di tHcy e la correlazione con genotipo MTHFR in una popolazione di bambini con ipercolesterolemia familiare (FH) al primo accesso presso il nostro Centro di Dislipidemie Pediatriche.

Metodi: 119 bambini FH (diagnosi genetica), età 2-17 anni (mediana 8), 55 maschi e 64 femmine, sono stati valutati per storia familiare per CVD (linee guida AAP 2008), parametri antropometrici, stadio puberale (Tanner=1 vs >1), prelievo ematico per profilo lipidico, tHcy (FPIC, IMxAbbot), genotipo MTHFR (mutazione C677T) (HRM), vitamina B12 e acido folico (Radio-assay, DPC'S Solid Phase No Boil Dualcont). Nessun bambino era in trattamento farmacologico, dietetico o assumeva supplementazione vitaminica. Statistica: analisi della varianza con tHcy variabile dipendente e stadio puberale e genotipo MTHFR come fattori.

Risultati: I valori di tHcy (media $\mu\text{mol/l} \pm$ deviazione standard) sono risultati 5.9 ± 2.1 . Il genotipo MTHFR è risultato omozigote per la variante termostabile (CC) in 27 bambini, eterozigote in 69 (CT) ed omozigote per la variante termolabile (TT) in 23. I valori di tHcy sono risultati più elevati nei puberi (Tanner>1, 32/119) rispetto ai prepuberi (Tanner=1, 87/119), rispettivamente 7.0 ± 2.5 vs 5.5 ± 1.8 , $p < 0.0001$. L'analisi della varianza ha evidenziato una associazione significativa di tHcy con stadio puberale ($p < 0.001$) con effetto differente nei diversi gruppi MTHFR ($p = 0.048$). In particolare, CC (prepuberi vs puberi): 5.8 ± 1.63 vs 6.9 ± 1.9 , $p = 0.266$; CT 5.5 ± 1.9 vs 6.4 ± 2.2 , $p = 0.110$; TT 5.3 ± 1.7 vs 8.4 ± 2.9 , $p = 0.004$. Il profilo lipidico non è risultato differente per sesso, età, stadio puberale né storia familiare per CVD. I valori di tHcy non risultano correlati con la storia familiare per CVD. I valori plasmatici di vitamina B12 e acido folico sono risultati nella norma.

Conclusioni: nella popolazione di bambini FH abbiamo riscontrato livelli di tHcy sempre nella norma; tali valori aumentano durante la fase puberale, in particolare nei soggetti TT. L'analisi genetica consente dunque di individuare precocemente quei soggetti che, in assenza di supplementazione vitaminica specifica (vitamina B12 e acido folico), svilupperanno iperomocisteinemia moderata in età adulta.

PROFILO DI UTILIZZO DELLE STATINE EQUIVALENTI NEL NORD, CENTRO E SUD ITALIA

M. Casula¹, A.L. Catapano¹, L. Manzoli², A. Zucchi³, S. Cammarota⁴, S. Riegler⁴, E. Tragni¹

1 Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva, Università degli Studi di Milano; 2 ASR Regione Abruzzo; 3 ASL di Bergamo; 4 Centro Interdipartimentale di Ricerca in Farmacoeconomia e Farmacoutilizzazione, Università Federico II di Napoli

OBIETTIVI: Stimare il profilo di utilizzo delle statine equivalenti a livello di ASL nel nord, centro e sud Italia.

METODI: Sono stati utilizzati i database amministrativi delle prescrizioni di 1 ASL lombarda (Bergamo; 2006-2009), 3 ASL abruzzesi (Chieti, l'Aquila, Teramo; 2006-2008) e 3 ASL campane (Avellino, Benevento, Caserta; 2007-2010) per stimare le dispensazioni di statine branded (incluse le specialità branded delle molecole con brevetto scaduto) ed equivalenti (specialità commercializzate dopo aprile 2007 per simvastatina, dicembre 2007 per pravastatina e agosto 2008 per fluvastatina).

RISULTATI: La percentuale di confezioni di equivalenti dispensate mostra per tutte le ASL un trend deciso di crescita, dall'1,2% nel 2007 nella ASL-l'Aquila (valore che quadruplica nel 2008) a 5,6% nella ASL-Bergamo (che raggiunge il 20,4% nel 2009). Nelle ASL campane l'aumento medio in 4 anni è di 9 volte.

Considerando gli utilizzatori prevalenti, si osserva nel tempo un incremento di coloro che almeno una volta hanno fatto uso di una specialità equivalente nell'anno considerato. Nella ASL-Bergamo questa percentuale è del 13,4%, 2-3 volte superiore a quella delle altre ASL nel 2007, arrivando nel 2009 a comprendere un quarto degli utilizzatori, con differenze minori con le ASL campane. Nel primo anno di disponibilità di simvastatina generica (2007), la sua prevalenza d'uso si attesta al 10,5%-33,4% e aumenta negli anni successivi, raggiungendo il 58,6% a Bergamo nel 2009. I nuovi utilizzatori di statine iniziano la terapia con una specialità generica nel 7,3%-25,3% dei casi nel 2008 e nel 15,2%-27,0 % nel 2009. Nei nuovi utilizzatori che iniziano la terapia con una statina branded, il 5,5%-20,2% ha almeno un cambio verso un equivalente, ma circa la metà torna al branded.

CONCLUSIONI: Il tasso di utilizzo delle statine equivalenti è molto differente nei tre contesti regionali osservati, mostra complessivamente un trend di crescita pur attestandosi a livelli inferiori a quelli di altri Paesi occidentali.

UTILIZZO PEDIATRICO OFF-LABEL DI FARMACI CARDIOVASCOLARI: STUDIO DI POPOLAZIONE IN LOMBARDIA, 2006-2010

Gizzi Alessio^{a*}, Borraccia Francesca^{a*}, Casula Manuela^a, Zambon Antonella^b, Corrao Giovanni^b, Catapano Alberico^{a,c}, Tragni Elena^a

*Gli Autori hanno egualmente contribuito allo svolgimento dello studio

^aCentro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano.

^bUnità di Biostatistica ed Epidemiologia, Dipartimento di Statistica, Università degli Studi Milano-Bicocca.

^cIRCCS MultiMedica, Sesto San Giovanni (MI).

CONTESTO Gran parte dei farmaci in commercio sono stati studiati e sperimentati solo nell'adulto e quindi sono privi di autorizzazione specifica per l'uso pediatrico, pur essendo necessari per trattare patologie gravi e spesso croniche. L'obiettivo di questo lavoro è valutare il profilo prescrittivo di farmaci cardiovascolari (CV) in bambini e adolescenti, focalizzando l'attenzione sull'utilizzo *off-label*.

METODI È stato condotto uno studio di coorte retrospettivo utilizzando il database amministrativo delle prescrizioni farmaceutiche della Lombardia per il periodo 2006-2010. I soggetti inclusi avevano un'età compresa fra 0 e 17 anni e presentavano almeno una prescrizione di farmaci CV (tutti gli ATC1-C esclusi i farmaci vasoprotettori, C05). È stato definito *in-label/off-label* l'uso in presenza o in assenza di un'autorizzazione pediatrica (considerando eventuali restrizioni per età).

RISULTATI Nel 2010, su 1.646.835 minorenni residenti, il 49,6% ha ricevuto almeno una prescrizione di farmaci. I soggetti esposti a farmaci CV sono aumentati dal 2006 (3302) al 2007 (4390; +33,0%), per poi diminuire progressivamente fino al 2010 (3634). La prevalenza si attesta attorno al valore medio dello 0,23% per tutto il periodo. Anche il consumo di farmaci è cresciuto dal 2006 (25.449 pezzi) al 2007 (31.101; +22,2%), rimanendo pressoché costante fino al 2010 (30.770). In media il 35,9% dei soggetti è stato esposto almeno ad un farmaco con attività sul sistema renina-angiotensina-aldosterone (ATC3-C09). Nel 2010 i tre principi attivi più prescritti sono stati enalapril, ramipril e furosemide, rappresentando il 31,5% (9.701) delle confezioni totali (30.770). Solo il 6,3% dei principi attivi prescritti nel 2010 aveva in RCP un'autorizzazione pediatrica, e il numero di soggetti con almeno una prescrizione *off-label* è stato 3330 (91,6%, -2,0% rispetto al 2006). Applicando retrospettivamente le indicazioni fornite dal Working Group Pediatrico dell'AIFA (WGP, 2010), il numero di soggetti trattati in *off-label* si ridurrebbe a 1.930 (46,9%). Enalapril, incluso tra i principi attivi revisionati, da solo rispondeva del 15,1% di tutte le prescrizioni *off-label*.

CONCLUSIONI L'uso *off-label* di farmaci CV in pediatria è correlabile alla carenza di principi attivi autorizzati. È necessario promuovere studi sulla sicurezza e l'efficacia di questi farmaci nei bambini e agevolare l'autorizzazione, soprattutto per quei principi attivi che sono già stati revisionati dal WGP.

INIBIZIONE MULTIPLA DEL PROCESSO ATEROSCLEROTICO MEDIANTE IBRIDI NO-DONATORI FUROSSANO-BASATI: UNO STUDIO SULLE PROPRIETA' ANTIPROLIFERATIVE IN CELLULE MUSCOLARI LISCE

Lorenzo Arnaboldi*, Laura Sommariva*, Barbara Rolando[#], Loretta Lazzarato[#], Roberta Fruttero[#], Antonella Di Stilo[#], Alberto Gasco[#], Alberto Corsini*.

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

Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università degli Studi di Torino

L'aterosclerosi è una patologia multifattoriale in cui i fenomeni ossidativi, l'alterata produzione di ossido d'azoto (NO) e la proliferazione delle cellule muscolari lisce (CML) sono coinvolti in modo predominante. Per cercare di controllare la patologia agendo su diversi fattori, abbiamo sintetizzato molecole NO-donatrici (furossani), in grado di rilasciare il tessuto aortico in modo NO-dipendente e le abbiamo unite a porzioni aventi proprietà antiossidanti, oppure a bisfosfonati (inibitori della farnesilpirofosfato sintetasi, enzima della via del mevalonato implicato nei processi proliferativi) per generare ibridi NO-donatori/antiossidanti oppure NO-donatori/antiproliferativi. I risultati finora ottenuti sulla prima classe di ibridi evidenziano come nelle nostre condizioni sperimentali queste molecole, seppure con diversa potenza, inibiscano la crescita delle CML, al contrario delle porzioni antiossidanti isolate (fenoli, vitamine E/C, carnosina, edaravone, melatonina). Poiché parte dell'effetto antiproliferativo degli ibridi è dovuto alla porzione furossanica, per comprenderne le basi molecolari, dopo aver bloccato con un fenile la posizione 4 dell'anello eterociclico, abbiamo dimostrato come l'inibizione della proliferazione correli con le proprietà elettronattrattrici del gruppo in posizione 3 (R), che correlano a loro volta con l'entità del rilascio di NO da parte dell'eterociclo. Un analogo studio condotto sugli isomeri 3-fenil-4-R-furossanici corrispondenti e sui des-NO analoghi furazanici ha dimostrato che queste ultime due classi di composti sono praticamente inefficaci. Conseguentemente, poiché diverse evidenze sperimentali escludono che l'attività inibitoria sulle CML sia dovuta ad effetti mediati da NO attraverso la via della guanilato ciclasi o quella delle poliamine, stiamo a) effettuando esperimenti di proliferazione su CML in cui i furossani sono cosomministrati a PTIO (un composto NO-sequestrante), b) cercando di identificare, mediante diversi approcci di proteomica, proteine cellulari S-nitrosilate dai furossani coinvolte nei processi proliferativi in fase G1/S, (e.g. dimostrazione di Williams e coll., 2009 sulla modificazione da parte dei furossani della tioredoxina-glutatione-riduttasi, negli Schistosomi). In funzione dei presenti risultati e della modulabilità del rilascio di NO, la comprensione del meccanismo d'azione dei furossani potrà permettere di sfruttare tali sottostrutture nell'ibridazione con antiossidanti o altri farmaci in grado di controllare diversi aspetti del processo aterosclerotico, per sviluppare nuovi ibridi da validare successivamente in modelli animali.

Progetto finanziato dal grant PRIN 2009-K4NFZ4.

AGGIUNTA DI FITOSTEROLI ALLA TERAPIA CON STATINE SUI LIVELLI DI LDL IN PAZIENTI CON DIABETE MELLITO TIPO 2 E IPERCOLESTEOLEMIA

Donatella Zavaroni, Giovanni Mancastroppa, Paola Scatola, Umberto De Joannon, Maurizio Bianco

UOD Diabetologia e Malattie Metaboliche Azienda USL di Piacenza

Un obiettivo terapeutico condiviso nei pazienti diabetici per la prevenzione cardiovascolare (CV) è il raggiungimento dei target lipidemici, in particolare di livelli di LDL inferiori a 100 mg/ dl nel diabetico senza eventi CV. Purtroppo la percentuale di pazienti diabetici che raggiungono il target stabilito è molto inferiore alle aspettative, anche utilizzando dosaggi elevati di statine con possibile aumento degli effetti collaterali.

Scopo di questo studio è stato di valutare gli effetti sull'assetto lipidico e in particolare sui livelli di LDL dell'aggiunta di un preparato commerciale con fitosteroli alla terapia con statine in pazienti diabetici in cui la sola terapia con statine non consentiva il raggiungimento di tale target.

Materiali e Metodi: Sono stati valutati 88 pazienti affetti da diabete mellito tipo 2 (51 uomini e 39 donne, di età compresa tra 59 e 76 anni, in compenso glicometabolico discreto (HbA1c tra 6,5 e 8%) affetti da iperlipidemia con livelli di LDL superiori al target di 100 mg/ dl nonostante terapia con statine ad alte dosi (atorvastatina 40 mg o rosuvastatina 20 mg) assunta per oltre 3 mesi. In tutti i pazienti è stata rivista la dietoterapia con colloquio con la dietista e programmato un aumento dell'attività fisica (30' al giorno di passeggiata a passo veloce). I pazienti sono stati divisi in due gruppi: a. solo modifiche dello stile di vita b. aggiunta di fitosteroli. Dopo 3 mesi è stato eseguito un controllo dell'assetto lipidico.

Risultati: I pazienti del gruppo b) presentavano dopo 3 mesi una riduzione dei livelli di colesterolo LDL rispetto al gruppo a (98 + 6,5 M + DS vs 109 + 7,3) e di colesterolo totale (178 + 12,5 vs 208 + 9,6) In entrambi i gruppi si otteneva una riduzione dei livelli di trigliceridi rispetto ai valori di partenza ed un aumento del col HDL, senza variazioni significative tra i due gruppi.

Conclusioni: L'aggiunta di fitosteroli inseriti in un prodotto farmaceutico può essere un'utile opzione terapeutica in pazienti diabetici dislipidemici per raggiungere il livello target di LDL, senza potenziare ulteriormente i livelli di statine, riducendo il rischio di effetti collaterali.

MICROPARTICELLE CIRCOLANTI UMANE: CARATTERIZZAZIONE DELLE LORO PROPRIETÀ FISICHE E ANTIGENICHE ATTRAVERSO UN APPROCCIO MULTIPARAMETRICO DI CITOMETRIA A FLUSSO

Daniela Boselli¹, Marta Brambilla¹, Daniele Manganaro², Elena Tremoli^{1,3}, Marina Camera^{1,3}.

1 Centro Cardiologico Monzino IRCCS, Milan, Italy

2 BD Biosciences, Italia

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

Introduzione: Le Microparticelle (MP) sono vescicole di grandezza minore di 1µm, caratterizzate da una membrana cellulare intatta ed esprimenti antigeni della cellula da cui derivano. Sono coinvolte in molteplici processi fisiologici e alti livelli di MPs sono stati riscontrati in diverse patologie aterotrombotiche. L'analisi delle MPs viene eseguita principalmente in campioni di plasma; tuttavia esistono evidenze che dimostrano come i risultati ottenuti siano dipendenti dalla preparazione del campione. Al fine di analizzare le MPs in condizioni il più possibile fisiologiche ed evitare ogni artefatto metodologico, è stato messo a punto un test di analisi multiparametrica che prevede l'utilizzo di un citofluorimetro di ultima generazione su MP derivanti da sangue intero. I risultati sono stati paragonati a quelli ottenuti su campioni di Plasma Povero di Piastrine (PPP) e Plasma Libero da Piastrine (PFP).

Metodo: Sangue intero, PPP e PFP di volontari sani è stato incubato in presenza di mAbs al fine di analizzare l'immunofenotipo delle MP. L'analisi è stata eseguita con un citofluorimetro BD FACSAria IIU.

Risultati e Conclusioni: in base alla positività a specifici antigeni cellulari, cinque sottopopolazioni di MP sono state identificate: MP di derivazione Leucocitaria (CD45⁺), Eritrocitaria (CD135⁺), Endoteliale (CD31⁺/CD41⁺), Piastrinica (CD31⁻/CD41⁺) e Monocitaria (CD45⁺/CD14⁺). E' stato dimostrato come l'origine del campione influenzi il fenotipo delle MP: le MP analizzate in sangue intero risultano essere prevalentemente di origine Eritrocitaria (85%) ed Endoteliale (89%), quelle derivanti da PPP, di origine Piastrinica (40%) e quelle da PFP risultano distribuite tra le differenti sottopopolazioni. E' stata inoltre valutata l'espressione di Fosfatidil Serina (PS) ed è stato osservato come anch'essa dipenda dalla provenienza del campione: la PS è espressa dal 10 % delle MP derivanti da Sangue intero, dal 60% delle MP da PPP e dal 40% delle MP da PFP. L'approccio multiparametrico di analisi di MP in sangue intero permette l'identificazione delle diverse sottopopolazioni di MP escludendo ogni manipolazione del campione e può dare un significativo miglioramento nelle metodologie utilizzate fin'ora per la loro caratterizzazione.

LIPOPROTEINA(A): CONCENTRAZIONE, ISOFORME E POLIMORFISMI

Cecilia Vitali¹; Sara Simonelli¹; Claudia Tarlarini²; Chiara Pavanello¹; Giuliana Mombelli¹; Silvana Penco²; Cesare Riccardo Sirtori¹; Laura Calabresi¹.

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

2 S.S. Genetica Medica, Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano

La lipoproteina(a) è una lipoproteina plasmatica a bassa densità, costituita da una glicoproteina, apo(a), legata tramite ponte disolfuro ad apoB100. I suoi livelli plasmatici sono molto variabili all'interno della popolazione, rimanendo pressochè costanti in uno stesso soggetto. Studi epidemiologici hanno mostrato una forte correlazione tra livelli plasmatici di Lp(a) e incidenza di eventi cardiovascolari, ma i farmaci ipolipemizzanti ad oggi disponibili hanno mostrato risultati modesti su di essi. Il meccanismo patogenetico alla base di questa associazione è sconosciuto ma potrebbe coinvolgere sia il processo aterogenico che quello trombotico. Le dimensioni di apo (a) sono molto eterogenee e inversamente correlate alla concentrazione plasmatica. Studi di associazione Genome Wide (studio PROCARDIS) hanno inoltre evidenziato 2 polimorfismi, rs10455872 e rs3798220, che mostrano una forte associazione con elevati livelli plasmatici di Lp(a), con isoforme apo(a) di piccole dimensioni e con un aumentato rischio cardiovascolare.

In questo studio sono stati selezionati 60 soggetti tra i 18 e i 75 anni, in prevenzione primaria, con livelli plasmatici di Lp(a) superiori a 35 mg/dL. È stata valutata la concentrazione di Lp(a), tramite saggio ELISA e l'isoforma di apo(a), tramite elettroforesi (SDS-PAGE). Le isoforme sono state classificate come F, B, S1, S2, S3, S4 in base alla differente mobilità elettroforetica rispetto all'apoB. Infine è stato valutato il genotipo utilizzando il Human CVD BeadChip, per indagare la presenza di SNP per la regione LPA. La concentrazione media di Lp(a) nei 60 pazienti è di 65 mg/dL (range: 39-126 mg/dL). Il 76% dei soggetti (16% nella popolazione generale, secondo dati riportati in letteratura) presenta un'isoforma di piccole dimensioni (F, B, S1, S2), confermando la relazione inversa tra concentrazione e dimensione dell'isoforma dell'apo(a). Dall'analisi genetica è emerso che il 26% dei pazienti presenta lo SNP rs10455872, mentre il 17% il rs3798220. Complessivamente questi dati confermano quelli emersi dallo studio PROCARDIS, dove il 33% dei soggetti con livelli elevati di Lp(a) presentava uno dei due polimorfismi. I soggetti studiati verranno inseriti in un protocollo di somministrazione di L-Carnitina per valutare l'eventuale riduzione dei livelli plasmatici di Lp(a).

METODO INNOVATIVO DI PROGETTAZIONE DI NUOVE ENTITÀ CHIMICHE CON ATTIVITÀ INIBITORIA SU RAC: STUDI FARMACOLOGICI IN VITRO DI ATEROGENESI

Sergio Kevin Bernini¹, Nicola Ferri¹, Alberto Corsini¹, Maria Pia Adorni², Elda Favari², Franco Bernini², Francesca Clerici³, and Alessandro Contini³

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

2 Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Parma

3 Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Milan

Il ruolo della proteina Rac nell'aterosclerosi rimane tutt'ora controverso, infatti Rac è coinvolta in eventi proaterogeni quali la migrazione delle cellule muscolari lisce (CML), l'adesione dei leucociti alle cellule endoteliali, l'ossidazione delle LDL e la degradazione della matrice extracellulare. Tuttavia questa proteina mostra anche effetti antiaterogeni come la capacità di aumentare la produzione di ossido nitrico (NO) e di ridurre la permeabilità endoteliale. Quindi, un'inibizione farmacologica di Rac può rappresentare un importante strumento per comprendere meglio il ruolo di questa proteina nell'aterosclerosi. Sulla base di queste premesse, a partire dalla struttura cristallografica di Rac cocristallizzata con l'inibitore selettivo, composto NSC23766, abbiamo progettato 7 nuovi potenziali inibitori e valutato il loro effetto sui livelli di Rac-GTP (la forma attivata di Rac) in CML umane mediante saggio G-LISA. Alla concentrazione di 10 μM , tutti i composti hanno mostrato un'attività inibitoria significativa su Rac. In particolare, il composto AR148 ha ridotto, in modo concentrazione dipendente, i livelli di Rac-GTP dopo stimolazione con PDGF-BB mostrando una IC₅₀ di 1,2 μM , mentre NSC23766 risulta avere una IC₅₀ di 50 μM . Questo effetto farmacologico ha determinato una profonda azione inibitoria sulla migrazione di CML umane (IC₅₀ = 13,1 μM) e l'adesione di monociti su cellule endoteliali, due eventi chiave nello sviluppo della placca aterosclerotica. Al contrario, AR148 ha dimostrato di ridurre, in modo concentrazione dipendente, l'efflusso di colesterolo ABCA1-mediato dai macrofagi peritoneali di topo, esercitando quindi un potenziale effetto proaterogeno. In conclusione, il nuovo approccio di progettazione di farmaci ha dimostrato di essere un metodo efficace per l'identificazione di nuovi inibitori Rac 50 volte più potenti del composto di riferimento NSC23766. Utilizzando modelli sperimentali in vitro di aterosclerosi, il composto AR148, sembra provocare effetti sia pro- che anti-aterogeni. Studi futuri saranno condotti in un modello sperimentale in vivo di aterosclerosi (topi apoE^{-/-}) per delineare l'effetto di inibizione di Rac sulle malattie cardiovascolari

LA PERCENTUALE DI MASSA GRASSA È UN UTILE SUPPORTO PER LA VALUTAZIONE DELL'INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

A. Baragetti^{1,2}, C. Tidone¹, K. Garlaschelli¹, G.D. Norata^{1,2}, I. Baragetti³, C. Pozzi³, A.L. Catapano^{1,2,4}

1 Centro per lo Studio dell'Aterosclerosi – U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano 2 Università degli Studi di Milano, Dipartimento Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Milano 3 U.O. Nefrologia e Dialisi – Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano, 4 IRCCS Multimedica, Cinisello Balsamo, Milano

INTRODUZIONE. Il paziente affetto da insufficienza renale cronica (CKD) presenta un progressivo stato di malnutrizione parallelo alla riduzione della funzionalità renale (GFR). Il monitoraggio di questo aspetto della patologia può contribuire a un più efficace trattamento clinico. Obiettivo di questo lavoro è quello di investigare l'utilità dell'assorbimetria a doppia energia a raggi-X (DEXA) nella valutazione dello stato di CKD e la sua correlazione con markers metabolici.

MATERIALI E METODI. Abbiamo arruolato 176 pazienti affetti da CKD (50.85 ± 29.26 mL/min/1.73 m²) e li abbiamo confrontati con soggetti di età paragonabile (n=453) selezionati tra la popolazione generale dello studio PLIC. Sono stati determinati il profilo lipidico, la GFR e lo stato metabolico. Tra i parametri antropometrici abbiamo valutato il rapporto vita/fianchi (w/h) e tramite il Lunar DEXA sono stati determinati la percentuale di massa grassa (%FM), la massa magra (LM), il contenuto minerale osseo (BMC), il rapporto androide/ginoide (A/G) e l'indice di massa corporea (BMI).

RISULTATI. I pazienti CKD presentavano un più alto rapporto w/h, un più alto BMI (uomini: 29.77 ± 4.82 Kg/m² vs 26.04 ± 2.79 Kg/m²; donne: 31.06 ± 6.51 Kg/m² vs 25.31 ± 3.67 Kg/m²; entrambi p<0.001) e una più alta %FM (donne: 44.67 ± 5.59 % vs 40.11 ± 6.12 %; uomini 37.08 ± 7.40 % vs 31.06 ± 6.17 %; entrambi p<0.001) rispetto ai controlli.

All'analisi multivariata, rispetto alla sola determinazione del rapporto w/h, l'associazione della %FM aumenta significativamente il potere predittivo per una ridotta GFR (≤ 70 mL/min/1.73 m²) (C-statistic: 0.907 [0.877-0.937] 95% C.I. vs 0.838 [0.789-0.886] 95% C.I.; p< 0.001).

Tra i pazienti CKD, più bassi livelli plasmatici di emoglobina si mostravano predittori di una più alta %FM ($\beta = -0.407$; p<0.001).

CONCLUSIONI. Questi risultati confermano una inversa relazione tra GFR e profilo antropometrico e sostengono l'utilità dell'associazione del Lunar DEXA alla comune determinazione del rapporto w/h nella pratica clinica.

PAZIENTI AFFETTI DA IPERLIPEMIA FAMILIARE COMBINATA E CARATTERIZZATI DA BASSE HDL PRESENTANO UN NUMERO RIDOTTO DI UNITÀ FORMANTI COLONIE ENDOTELIALI ISOLABILI EX-VIVO

Fabio Pellegatta^{1,2}, Liliana Grigore¹, Simona Tramontana¹, Katia Garlaschelli¹, Andrea Baragetti^{1,2}, Alberico L. Catapano^{1,2,3}

1 Centro SISA per lo Studio dell'Aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Italia.
2 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, 3 IRCSS Multimedica - Milano, Italia.

Background: Il numero di Unità Formanti Colonie endoteliali (eCFU) isolabili ex-vivo dal sangue periferico rappresenta un utile strumento per valutare la funzione dei precursori endoteliali circolanti. Tale misurazione correla inoltre con i fattori di rischio cardiovascolare. L'iperlipemia Familiare Combinata (FCH) è un disordine del metabolismo lipidico che si associa ad un aumentato rischio cardiovascolare. Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare il numero di eCFU nei pazienti affetti da FCH.

Metodi: Dodici pazienti con FCH e basso colesterolo HDL, e dodici pazienti controllo con normale colesterolo HDL sono stati arruolati in questo studio. In questi pazienti è stato valutato il numero di eCFU isolabili e la loro correlazione con i livelli plasmatici di colesterolo HDL, ApoA1, colesterolo totale, colesterolo LDL, trigliceridemia, ApoB100 e con la dilatazione flusso-mediata (FMD) o nitroglicerina-mediata (NMD).

Risultati: Nei pazienti FCH il numero di eCFU è risultato ridotto rispetto ai pazienti controllo (16.29 ± 1.76 vs 28.7 ± 4.19 , $P < 0.01$). La dilatazione della arteria brachiale valutata come rapporto FMD/NMD è risultata significativamente ridotta nei pazienti FCH rispetto ai controlli. (0.83 ± 0.03 vs 1.01 ± 0.07 , $P < 0.01$).

All'analisi univariata, il numero di eCFU è risultata correlare con i livelli plasmatici di: colesterolo HDL ($r: 0.231$, $P=0.03$), apoA1 ($r: 0.241$, $P=0.029$), trigliceridemia ($r:-0.271$, $P=0.014$), colesterolemia totale ($r:0.27$ $P=0.014$), colesterolo LDL ($r:0.228$, $P=0.04$), rapporto colesterolo totale/colesterolo HDL (-0.314 , $P=0.029$), apoB100 ($r:-0.335$, $P=0.002$) e con il rapporto FMD/NMD (0.237 , $P=0.032$).

Conclusioni: Il numero ridotto di eCFU osservato nei pazienti FCH indica una disfunzione dei progenitori endoteliali circolanti di questi pazienti. Tale disfunzione potrebbe essere in parte responsabile dell'alterazione vascolare osservata in questa condizione clinica.

UNA DIAGNOSI PRECOCE DI ABETALIPOPROTEINEMIA

Ghiglioni Daniele G, Fiocchi Alessandro, Terracciano Luigi, Zoja Alexa

Melloni Paediatria - Az. Osp. FBF Milano

Viene ricoverata nel nostro reparto di Pediatria una piccola lattante di 34 giorni, alimentata esclusivamente al seno materno, per pianto frequente e alvo stitico negli ultimi 3 giorni, ma soprattutto per scarsissimo accrescimento ponderale (60 grammi dalla nascita. Peso: 2840 grammi).

La bambina è nata a termine dopo gravidanza normodecorsa da taglio cesareo per indicazione materna (peso 2780 g, lunghezza 46 cm, circonferenza cranica 34 cm; Apgar a 5' 10) e dimessa dalla Divisione di Neonatologia in 3a giornata: peso 2500 g.

L'obiettività clinica all'ingresso rileva cute pallida, pannicolo adiposo scarso, fontanella anteriore normotesa, modesto ipotono del tronco, riflessi arcaici normoevocabili, obiettività cardiorespiratoria nella norma, addome meteorico, trattabile. Nessun segno dismorfico salvo micrognazia.

Gli accertamenti eseguiti all'ingresso hanno rilevato esclusivamente una lieve ipertransaminasemia (AST 67, ALT 102 U/l) con acidosi metabolica (pH 7,29). Nei primi giorni l'alimentazione al seno è risultata adeguata (150-200 ml/kg/die) Per rari e inconsistenti episodi di vomito, con un incremento ponderale scarso (70 grammi nei primi 7 giorni di ricovero) e l'aumento delle transaminasi (AST 91 U/l, ALT 173 U/l), sono stati proseguiti gli accertamenti nutrizionali, metabolici e virologici, cardiologici, neurologici, radiologici con rilievo di ipocolesterolemia e grave ipotrigliceridemia. Nell'ipotesi di dislipidemia con grave deficit di assorbimento e/o metabolizzazione di acidi grassi a lunga catena e colesterolo (abetalipoproteinemia, ipobetalipoproteinemia o sindrome di Anderson) è stato contattato il Centro Dislipidemie dell'Istituto di Farmacologia dell'Università di Milano, ove sono stati eseguiti ulteriori accertamenti, con riscontro di livelli ematici indosabili di Apolipoproteina B (estremamente bassi 33 mg/dl nel padre, 31 mg/dl nella madre). E' stato sostituito l'allattamento al seno con latte speciale ricco di acidi grassi a media catena (Pregestimil) e integrazione con Vitamine liposolubili (A, D, E, K).

Così si è assistito a buon incremento ponderale (+425 grammi in 7 giorni) e ad una quasi completa normalizzazione delle transaminasi (AST 32 U/l, ALT 48 U/l, massimo raggiunto di 126 e 223). Tale andamento clinico farebbe sospettare un'abeta- o ipobetalipoproteinemia: la definizione diagnostica è avvenuta in collaborazione con il Centro di Dislipidemie dell'Istituto di Farmacologia dell'Università di Milano: doppia eterozigosi per abetalipoproteinemia.

Con il patrocinio delle Società Scientifiche:



SISF Società Italiana
di Scienze Farmaceutiche

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



Società Italiana
per lo studio
dei Nutraceutici e degli
Integratori Alimentari



Società Italiana di Diabetologia

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

**SISA - Società Italiana per lo Studio dell'Arteriosclerosi
Sezione Regionale Lombarda**

Via Balzaretti, 7 - 20133 Milano - Tel. +39 02 49635289 Fax +39 02 49633384
e-mail: segreteria@sisalombardia.it - www.sisalombardia.it

ECM - FORMAZIONE

Provider N. 200 accreditamento del 12/04/2011

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

Evento RES N. 200-40554 Ed 1 crediti: 6 - Piano formativo 2012

Figura di Farmacista tutte le professioni, Medico Chirurgo tutte le professioni, Biologo, Chimico

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 al domicilio del partecipante dopo aver effettuato tali verifiche.

Grazie al contributo di:

Aegerion®
Pharmaceuticals

AstraZeneca 

genzyme
A SANOFI COMPANY

 NEOPHARMED
GENTILI