

SOCIETÀ ITALIANA
PER LO STUDIO
DELL'ARTERIOSCLEROSI



28° CONGRESSO NAZIONALE S.I.S.A.

Società Italiana per lo Studio dell'Arteriosclerosi

ROMA, 23-25 Novembre 2014

NH Vittorio Veneto



ABSTRACT

IMPAIRED HDL CHOLESTEROL EFFLUX CAPACITY DURING DEVELOPMENT OF PACING-INDUCED HEART FAILURE IN MINIPIG

M.P. Adorni¹, F. Bigazzi², M. Puntoni⁴, F. Sbrana², V. Lionetti^{2,3}, B. Dal Pino², F. Bernini¹, F.A. Recchia^{3,5}, E. Favari¹, T. Sampietro²
¹Department of Pharmacy, University of Parma;
²Fondazione Toscana Gabriele Monasterio, Pisa;
³Laboratory of Medical Science, Institute of Life Sciences, Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa; ⁴CNR Institute of Clinical Physiology, Pisa; ⁵Department of Physiology, Temple University School of Medicine, Philadelphia, PA, USA
 E-mail: mariapia.adorni@unipr.it

Introduction and aim. Recent studies suggest high-density lipoproteins (HDL) and apolipoprotein A-I (apoA-I) may lead to heart failure (HF) despite normal coronary arteries. We tested whether low HDL cholesterol (HDLc) and pro-inflammatory state combination occurs during progressive decay of left ventricular (LV) function in a swine model of dilated cardiomyopathy (DCM). In the same animal model we also evaluated serum HDL cholesterol efflux capacity (CEC), a metric of HDL functionality.

Methods. HF was induced in 13 chronically instrumented minipigs by pacing the LV free wall at 180 beats/min for 3 weeks. Blood samples were collected:

1. prior device implantation (baseline);
2. at ten days after surgery (pacing off);
3. in failing animals. Serum CEC from macrophage was assessed for all the above time points.

Results. LV ejection fraction was $34.5 \pm 2.3\%$ and LV end-diastolic pressure was 19.3 ± 5.0 mmHg after 3 weeks of sustained LV pacing (all $p < 0.05$ vs. pacing off). Total circulating level of HDLc and apoA-I was dramatically decreased in HF pigs (24.5 ± 8.0 vs 12.4 ± 5.7 mg/dl, $p < 0.0001$ and 20.9 ± 9.3 vs 11.8 ± 5.5 mg/dl, $p < 0.005$ respectively) despite normal total serum cholesterol and triglycerides level. Conversely, plasma ceruloplasmin, an inflammatory mediator, was significantly increased (24.7 ± 20.8 vs 83.9 ± 54.6 mg/dl, $p < 0.005$) in HF animals. Serum total CEC from macrophages was significantly reduced at pacing off condition ($p < 0.05$ vs. baseline) and no further changes occurred in failing animals. Both aqueous diffusion and SR-BI CEC significantly reduced at three weeks of pacing activation compared to pacing off condition (from $6.35 \pm 0.53\%$ to $5.22 \pm 0.27\%$, $p < 0.005$ and from $3.95 \pm 0.30\%$ to $3.03 \pm 0.32\%$, $p < 0.001$, respectively). No changes in ABCA1 CEC were observed after induction of heart failure.

Conclusions. Sustained LV pacing induces progressive reduction in the total level of serum HDLc and plasma apoA-I. In addition HDL function modifications with respect to cholesterol metabolism in HF were observed possibly linked to an active inflammatory status.

LA LIPIDOMICA DELLA NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: ANALISI DELLA CINETICA DELL'ACIDO PALMITICO MEDIANTE L'USO DI UN ISOTOPO STABILE IN UN MODELLO IN VITRO

I. Altieri¹, S. Indelicato², O. Palesano¹, R. Spina¹, G. Misiano¹, V. Valenti¹, V. Ingrassia, F. Fayer¹, A.B. Cefalù¹, C.M. Barbagallo, D. Noto¹, F. Di Gaudio², M.R. Averna¹
¹Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica (DI.BI.MI.S), Università di Palermo;
²Laboratorio di Controllo Qualità e Rischio Chimico (CQRC), AOUP "Paolo Giaccone" di Palermo
 E-mail: idalt85@gmail.com

La NAFLD è una patologia caratterizzata dall'accumulo epatico di lipidi, in gran parte rappresentato da trigliceridi (TG). Tale patologia evolve in una percentuale limitata dei casi verso la "non alcoholic steatohepatitis" (NASH) e poi in cirrosi post-NASH. La NAFLD colpisce in elevata prevalenza i soggetti obesi insulino-resistenti, pur essendo presente in soggetti magri insulino-sensibili. L'attivazione di un complesso network di segnali intracellulari nella IR è alla base delle complesse modifiche cellulari che portano e conseguono alla NAFLD.

Tra i meccanismi che conducono alla NAFLD vanno menzionati la produzione di ceramidi e sfingomieline; tali composti stati correlati allo sviluppo di IR ma anche a fenomeni ossidativi ed apoptotici che sono alla base della evoluzione verso la NASH. Anche i diacilgliceroli (DAG), oltre a rappresentare una tappa intermedia nella sintesi dei TG, svolgono il ruolo di secondi messaggeri.

In questo lavoro abbiamo studiato le modifiche del profilo lipidomico in cellule epatiche HepG2 rese insulino resistenti mediante somministrazione di elevate quantità di glucosio. Abbiamo utilizzato la tecnica della stable isotope assisted (SIA) lipidomics, mediante la somministrazione di acido palmitico (D5) contenente 5 deuteri (2H).

Abbiamo seguito nel tempo l'incorporazione dell'acido palmitico-D5 all'interno di sfingolipidi, sintetizzati a partire dall'acido palmitico, e negli altri lipidi contenenti acido palmitico (digliceridi, TG, fosfatidilcoline ed altri lipidi). Nei giorni precedenti l'esperimento le cellule sono state condizionate con acido palmitico ed addizionate di acido palmitico-D5 per 96 ore.

I lisati cellulari i campioni sono stati addizionati di standard interni, estratti e analizzati tramite LC/MS in un sistema Thermo Q Exactive plus. Alla fine della procedura, circa 200 composti sembrano avere integrato palmitato-D5 nelle 96 ore dell'esperimento (rapporto M+5/M+ in crescita nelle 96 ore). Dopo filtraggio degli isotopi naturali e degli artefatti metodologici, circa 80 composti sono stati considerati per l'analisi.

I composti sono stati suddivisi inizialmente mediante l'area sotto la curva di arricchimento di palmitato marcato e sono stati analizzati in dettaglio quelli che mostravano un comportamento differenziale tra le cellule IR e quelle controllo. I dati degli sfingolipidi sono stati infine analizzati in un modello compartimentale che ha permesso di chiarire le cinetiche di incorporazione del palmitato negli sfingolipidi in condizione di IR. I dati presentati potrebbero migliorare la conoscenza dei meccanismi che determinano lo sviluppo di NAFLD in condizione di IR.

FATTORI GENETICI E RISCHIO DI MIOPATIA DA STATINE: STUDIO CASO CONTROLLO

E. Ancarani, S. D'Addato, V. Mantovani, M. Rosticci, R. Rinaldi, C. Borghi
Università degli Studi di Bologna, Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna; U.O. Neurologia Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna; U.O. Genetica Medica Policlinico S. Orsola Malpighi, Bologna
 E-mail: elenaforever87@hotmail.it

Le dislipidemie sono tra i più importanti fattori di rischio per le malattie cardiovascolari. L'assunzione di Statine ha dimostrato una riduzione significativa degli eventi e della mortalità. Uno degli effetti avversi più frequenti in corso di terapia è il rialzo della creatinina Kinasi (incidenza: 83/100.000/anno) dovuto, secondo dati recenti, ad una specifica influenza genetica. Varianti alleliche comuni del gene *SLCO1B1* - codifica per il polipeptide organico OATP1B1, regolante della captazione epatica del farmaco - sono associate ad un aumento del rischio di danno da statine. Scopo del nostro studio è la conferma del danno muscolare in presenza dell'allele C (considerato fattore di rischio dalla letteratura) del polimorfismo rs4149056 nel gene *SLCO1B1* in soggetti con rialzi di CPK. Abbiamo effettuato un studio caso controllo: 60 casi, presentavano valori di CPK superiori 2-3 volte il limite massimo in corso di terapia, senza cause secondarie di aumento; 127 controlli non manifestavano alcun rialzo. I valori lipidici non erano differenti.

Attraverso il metodo tetra-ARMS-PCR, test realizzato ad hoc, è stato possibile tipizzare il polimorfismo rs4149056 dal DNA di ogni paziente per identificare quelli con la variante C. Il test è risultato poco costoso e facilmente applicabile.

All'analisi descrittiva del CPK (nelle due popolazioni prima e dopo terapia), è emerso un rialzo del 264% nei casi e 1% nei controlli.

Nella probabilità che i casi presentassero l'allele C abbiamo ottenuto un Odds Ratio significativo (1,275 e 1,361) per la differenza delle frequenze alleliche e per la positività allelica, a differenza del Chi2 e il Pearson (C.I.= [0,641-2,535] e [0,663-2,938]). E tuttavia emerso un trend che avvalorava la nostra ipotesi.

Considerato l'effetto collaterale abbiamo esaminato i tre tipi di genotipo: CC, TT, CT, all'Armitage Trand Test, ottenendo un Odds Ratio significativo (1.361). Dato l'allele C fattore implicato nel rialzo di CPK, il nostro studio conferma questa tendenza.

CHANGE IN miRs 145, 221 AND 222 EXPRESSION IN HYPERTENSIVE SUBJECTS TREATED WITH ENALAPRIL, LOSARTAN OR OLMESARTAN

C.O. Aragona, G. Mandraffino, F. Mamone, A. Cinquegrani, V. Cairo, M. Cinquegrani, M.A. Sardo, A. Saitta
Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina
 E-mail: gmandraffinomd@libero.it

MicroRNAs (miRs), small non-coding RNAs that play key roles in the regulation of gene expression acting at the post-transcriptional level, have been indicated as key regulators of several biologic processes, including cardiovascular disease and protection.

Recently, it was proposed that miRs 221, 222 and 145 may have a critical role in vascular smooth muscle cell proliferation and phenotype changes, and in arterial remodelling. miRs 221 and 222 (miRs221/222) modulate cell differentiation and proliferation, inhibit cell migration and homing, modulate different genes regu-

lating angiogenesis and inflammation, and increase ROS production promoting atherogenesis. The biological function of miR145 appears to be related to cell proliferation and phenotype. It was shown that a low miR145 expression promotes smooth muscle cell switch from contractile to proliferative phenotype, accelerating the progression of atherosclerosis.

Consistently, it can be proposed that miRs221/222 and miR145 may be involved in the vascular changes occurring due to high blood pressure; when miR145 and miRs221/222 are balanced, it results low cell oxidative stress, migration and proliferation, and slow atherogenesis. Conversely, when miRs221/222 are overexpressed and miR145 is reduced, there is a trend toward cell migration, proliferation, cell oxidative stress and atherogenesis.

The aim of the present study was to evaluate whether a treatment with the anti-hypertensive drugs enalapril, losartan or olmesartan may have effects on the monocyte expression of miRs 145, 221 and 222 in hypertensive subjects without organ involvement. We included 64 hypertensives with no additional risk factor for CVD and 42 matched controls; we evaluated blood pressure values, lipid profile, fasting glucose, C-reactive protein (CRP), Fibrinogen, arterial stiffness (AS) indices, including pulse wave velocity (PWV) and augmentation index (AIx) and carotid intima-media thickness (cIMT) at baseline (T0) and after 24-weeks treatment (T1). Patients included in the study were already pre-screened to exclude secondary hypertension. Subjects with plasma levels of total cholesterol (TC) ≥ 230 mg/dl or low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ≥ 160 mg/dl, triglycerides (TG) ≥ 200 mg/dl, body mass index (BMI) ≥ 30 , alcohol consumption, a personal or familial history of CVD, diabetes mellitus, or thyroid, liver or kidney diseases were excluded.

After inclusion, patients were randomly assigned to receive once a day enalapril 20 mg (E), losartan 100 mg (L) or olmesartan 20 mg (O). Comparisons were carried out by paired measures Wilcoxon test (T1 vs T0), Kruskal-Wallis (multiple comparisons), and Mann-Whitney (comparisons between pairs of treatment arms). A two tailed p of 0.05 was considered for significance.

At T1, we found a significant improvement of both systolic and diastolic blood pressure (SBP: -19.03%, $p < 0.001$; DBP: -14.41%, $p < 0.001$), lipid profile (TC: -2.7%, $p < 0.001$; TG: +1.7%, $p = ns$; HDL-C: +4.4%, $p < 0.001$; LDL-C: -6.4%, $p < 0.001$), fasting glucose (-2.5%, $p < 0.001$), BMI (-3.1%, $p < 0.001$), Fibrinogen (-6.2%, $p < 0.001$), CRP (-9.2%, $p < 0.005$), AS indices (AIx: -19.1%, $p < 0.001$; PWV: -14.4%, $p < 0.001$), and monocyte miR expression (miR221: -29.8%, $p < 0.001$; miR222: -39.7%, $p < 0.001$; miR145: +41.1%, $p < 0.001$)

We then have analyzed separately each arm of treatment, and compared the effects of each treatment on the different variables. Olmesartan appeared the most effective in reducing CRP levels (-9.48%), and miRs221/222 (-32.9% and -42.4%, respectively); losartan reduced PWV (-37.6%) and improved HDL-C levels (+7.9%) and miR145 (+51.5%) more than olmesartan and enalapril; enalapril appeared more effective on fibrinogen reduction (-9%); no differences were found with regard to BMI, fasting glucose, TC, LDL-C, SBP, DBP, AIx, and cIMT.

In conclusion, enalapril, losartan and olmesartan are all effective in improving mechanical and humoral factors associated to arterial stiffening and atherogenesis; these drugs were shown able to restore the deregulation between miRs221/222 and miR145 found in untreated hypertensive subjects, thus being able to contribute to the slowing of the progression of vascular damage already shown in the clinical studies.

EFFECT OF EUROSIL85 IN A RAT MODEL OF NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: SERUM BIOCHEMISTRIES

L. Arnaboldi¹, R. Sala¹, V. Vignati¹, S. Trabucco¹, A. Granata¹, S. Persiani², M. Colovic², L. Cavicchioli², A. Corsini¹
¹Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; ²Rottapharm Biotech, Monza
 E-mail: lorenzo.arnaboldi@unimi.it

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) ranges from reversible steatosis to steatohepatitis-fibrosis and its main risk factors are central obesity, insulin resistance, fasting hyperglycemia and hypertriglyceridemia. Since according to the "two-hits" hypothesis, the first hit causes hepatocyte fat accumulation and the second inflammation-fibrosis, lipids, oxidative stress and inflammation are strongly involved in NAFLD development.

New pharmacological approaches are welcome, since at present no convincing treatments emerged for NAFLD management. Silymarin is a complex of flavonolignans extracted from *Silybum marianum*, with antiinflammatory, antifibrotic, immunomodulatory, antioxidant, antiapoptotic, anticancer, antiviral and hepatoprotective properties. The lack of significant adverse effects and the improved bioavailability of the new pharmaceutical form of silymarin (Eurosil85) prompted us to investigate its effects on the development of NAFLD in Wistar male rats. Animals were divided in 4 groups and fed:

1. liver steatogenic, high fat, methionine-choline deficient-diet (MCD);
- 2-3. MCD diet plus Eurosil85 40- or 200 mg/kg/day;
4. methionine-choline sufficient (MCS; control) diet for 1 (each group n=6) or 3 months (each n=8).

Lipids, oxidative stress, enzymes, markers of inflammation and fibrosis are measured in serum and liver.

Preliminary data show that MCS is the only diet causing progressive weight gain. Serum total cholesterol increased in MCS- (178%) vs MCD rats (100%) and only high-dose Eurosil85 significantly reduced this parameter (-30% at both 1 and 3 months). On the other hand, while a 5- and 9-fold increase in TG was induced by MCS diet, Eurosil85 did not affect TG concentrations vs MCD diet. Finally, Eurosil85 ameliorated serum antioxidant power vs MCD rats (between 23,3 and 45%; at different doses and timing). Altogether, these results demonstrate that Eurosil85 does not worsen lipid serum parameters and possesses important antioxidant effects, without altering markers of hepatic function (ALT). Results on liver parameters will be of paramount importance to assess Eurosil85's effectiveness in NAFLD.

ARTERIAL STIFFNESS ED IPOVITAMINOSI D

G. Attisani¹, A. Castagna², C. Ruberto³, P. Gareri², M. Fresta⁴
¹AUSL della Romagna, Rimini; ²Centro Regionale di Neurogenetica ASP di Catanzaro; ³SOC Geriatria, A.O. Pugliese, Ciaccio; ⁴Università degli Studi "Magna Grecia di Catanzaro"
 E-mail: mds@attisani.it

Introduzione. La Pulse Pressure, misura indiretta della Stiffness Arteriosa, è semplicemente la differenza tra pressione arteriosa sistolica e diastolica, dipende dalla gittata cardiaca, dalla rigidità delle grandi arterie e dall'onda riflessa. Recenti studi suggeriscono che la vitamina D, ormone il cui recettore è presente in numerose cellule e tessuti, sia, in caso di ipovitaminosi, associato ad un au-

mento di malattie cardiovascolari. Abbiamo indagato la relazione tra 25-OH vitamina D sierica (25(OH) D) e pulse pressure (PP) in una popolazione di pazienti anziani.

Metodi. Abbiamo arruolato 122 pazienti consecutivi (F 77%, età 78,8+5,21 anni) afferenti ai nostri ambulatori.

Risultati. Il 100% della popolazione era in ipovitaminosi D; 96 pazienti (78,7%) avevano livelli sierici di 25(OH)D inferiori a 20 ng/ml; 26 pazienti (21,3%) tra 20 e 30 ng/ml. Nel nostro studio la PP è stata inversamente correlata con la 25 (OH)D ($r=-0,553$, $P=0,000$). Dopo correzione per età, sesso, pressione sistolica, pressione arteriosa media, malattie cardiovascolari e terapia antiipertensiva, rimaneva una correlazione inversa, statisticamente significativa tra PP e 25 (OH) D ($\beta=-0,524$; $p=0,000$).

Conclusioni. I nostri dati evidenziano una correlazione inversa tra PP e 25 (OH) D, suggerendo l'ipotesi che la 25 (OH) D, possa essere coinvolta nel rimodellamento vascolare. Il nostro risultato va confermato con studi prospettici, ma evidenzia un possibile ruolo dell'Ormone D sul rimodellamento vascolare.

Bibliografia

Relation of Serum 25-Hydroxyvitamin D to Pulse Pressure in Alzheimer's Disease. A. Castagna, G. Attisani, P. Gareri et al. Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association Volume 10, Issue 4, (Suppl.), 2014; P568-P570.

LO SPESSORE DI TESSUTO ADIPOSO EPICARDICO È ASSOCIATO A MARCATORI DI ATEROSCLEROSI SUBCLINICA E AL GRADO DI STEATOSI NELLA POPOLAZIONE GENERALE

A. Baragetti^{1,2}, P. Pisano³, K. Garlaschelli¹, L. Grigore¹, F. Pellegatta¹, G.D. Norata², A.L. Fracanzani³, S. Fargion³, A.L. Catapano^{2,3}

¹Center for the Study of Atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello Balsamo, Milan; ²Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Università degli Studi di Milano; ³IRCCS, Multimedica Hospital, Sesto San Giovanni, Milano
 E-mail: baragetti.centroatero@gmail.com

Introduzione. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) rappresenta la manifestazione epatica della Sindrome Metabolica (MetS). Lo Spessore di Tessuto adiposo Epicardico (EFT) è un nuovo indice di adiposità viscerale, associato con la MetS e con il rischio cardiovascolare. Non è chiaro se contemporaneamente:

- a) EFT si associ con il danno cardiovascolare subclinico e se;
- b) EFT aumenti con il danno epatico nella popolazione generale.

Materiali e Metodi. Sono stati considerati 1.018 soggetti (un sottogruppo della popolazione partecipante allo Studio PLIC), raccogliendo informazioni sul quadro clinico, cardio-metabolico e trattamenti farmacologici. EFT, calcificazioni aortiche (AC), spessore medio-intimale carotideo (c-IMT) e parametri ecocardiografici sono stati determinati tramite ultrasuoni. I gradi di danno epatico sono stati definiti attraverso un sistema di scoring. Sono state raccolte biopsie epatiche di ulteriori 54 pazienti.

Risultati. EFT, indipendente dall'età, era simile tra donne e uomini (4.73+/-0.14 mm vs 4.25+/-0.16 mm rispettivamente, $p=0.067$); tuttavia era maggiore in donne in menopausa (4.76+/-0.16 mm vs 4.07+/-0.16 in uomini paragonati per età, $p=0.013$) e aumentava con il numero di determinanti di MetS (p per trend <0.001). EFT correlava con la presenza di dislipidemia ed era associato con la funzionalità ventricolare ($\beta=-0.101$, $p=0.015$) e AC (OR=1.067 [1.014-1.123] 95% C.I., $p=0.013$). EFT dimostrava di essere un predittore superiore alla adiposità addominale e a tutti i determinanti

per MetS (confronto delle aree sotto la curva ROC (AUC): 0.828 [0.791-0.865] 95% C.I. vs 0.837 [0.803-0.872] 95% C.I. aggiungendo EFT, $p < 0.05$) e correlava maggiormente con i gradi di steatosi valutati con ecografia (p per trend < 0.001). Questi dati si confermavano con gli esami bioptici ($p = 0.028$). L'associazione tra EFT e marcatori di danno vascolare subclinico (c-IMT) si attenuava in funzione del grado di danno epatico.

Conclusioni. EFT è associato con il danno vascolare subclinico e correla con la severità del danno epatico. I nostri dati indicano che EFT rappresenta un tool addizionale per la stratificazione del rischio cardiovascolare e del danno epatico.

LO STATO NUTRIZIONALE VALUTATO CON IL MINI NUTRITIONAL ASSESMENT (MNA) SI ASSOCIA AI FATTORI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE NELLA POPOLAZIONE GENERALE

A. Baragetti^{1,2}, L. Redaelli¹, C. Tidone¹, K. Garlaschelli¹, L. Grigore¹, F. Pellegatta¹, A.L. Catapano^{2,3}
¹Centro per lo Studio della Aterosclerosi, SISA, H.Bassini, Cinisello Balsamo, Milano; ²Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomediche, Università degli Studi di Milano, Milano; ³IRCCS Multimedica, Sesto San Giovanni, Milano
 E-mail: baragetti.centroatero@gmail.com

Introduzione. Una corretta alimentazione rappresenta uno dei presupposti per la prevenzione di obesità, diabete e malattie cardiovascolari. Sono stati proposti numerosi metodi per la valutazione dello stato nutrizionale ma la loro utilità in studi di popolazione rimane poco chiara.

Il Mini Nutritional Assessment (MNA) è un questionario utilizzato per la valutazione dello stato nutrizionale, ad oggi impiegato prevalentemente in popolazioni geriatriche.

L'obiettivo dello studio è di correlare lo stato nutrizionale nella popolazione generale (Studio PLIC), valutato mediante l'impiego di MNA, con i fattori di rischio cardiovascolare e determinanti della Sindrome Metabolica (SM).

Metodi. La valutazione del MNA è stata eseguita su 744 soggetti dello Studio PLIC (247 M, 447 F, età 66,1±10,4). I punteggi ottenuti dalla compilazione del questionario sono stati correlati con parametri antropometrici, quali BMI, rapporto vita/fianchi (W/H), rapporto grasso androide/ginoide (A/G) (mediante assorbimetria a doppia energia a raggi X (Lunar DEXA)), profilo lipidico ed emocromo. Sono stati determinati tramite ultrasonografia la massa ventricolare sinistra (MVS) e lo spessore medio intimale carotideo (c-IMT).

Risultati. Il questionario fornisce una prima valutazione di screening associata con BMI ($\rho = 0.206$, $p < 0.001$), W/H ($\rho = 0.260$, $p < 0.001$) e A/G ($\rho = 0.231$, $p < 0.001$). Si sono inoltre evidenziate correlazioni con il rapporto Colesterolo totale/ HDL-C ($\rho = 0.135$, $p < 0.001$), LDL-C ($\rho = 0.083$, $p = 0.031$), emoglobina ($\rho = 0.105$, $p = 0.006$). La seconda parte del MNA assegna un punteggio globale che diminuisce all'aumentare dei determinanti di SM (13.92±1.20, 13.74±1.36, 13.61±1.36, 13.30±1.27, 12.88±1.37 per 0, 1, 2, 3, 4 rispettivamente, $p = 0.020$). La somma delle due valutazioni correla con c-IMT ($\rho = 0.090$, $p = 0.018$) e MVS ($\rho = 0.104$, $p = 0.013$).

Conclusioni. Il MNA fornisce un punteggio associato con adiposità addominale, profilo lipidico e con marcatori di danno cardiaco e vascolare. I nostri dati sono a favore dell'utilità del MNA per la valutazione dello stato nutrizionale nella popolazione generale.

GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1 REDUCES PLATELET ACTIVATION: EFFECTS ON PI3K AND MAPK PATHWAYS AND OXIDATIVE STRESS IN THE PRESENCE OF ARACHIDONIC ACID

C. Barale, L. Mattiello, F. Cavalot, A. Guerrasio, I. Russo
 Internal Medicine and Metabolic Disease Unit,
 San Luigi Gonzaga Hospital, Department of Clinical
 and Biological Sciences of the Turin University, Orbassano, Turin
 E-mail: cristina.barale@unito.it

Background and aims. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1), an incretin hormone secreted by intestine after meal, exerts important metabolic effects justifying the GLP-1-based therapy in diabetes and acts also on cardiovascular system: its influence on platelets, however, is unknown. Aim of this study is to investigate the GLP-1 influence on the arachidonic acid-induced activation of the signaling pathways PI3-Kinase (PI3K) and MAP-Kinase (MAPK) and of oxidative stress in platelets.

Materials and Methods. In washed platelets from 24 healthy subjects (M/F 13/11; age 25.6±5.9 years, BMI 22.5±2.4 kg/m²) we measured the influence of a 15 min pre-incubation with the native form GLP-1(7-36) (100 nmol/l) on the effects of Na-arachidonate (NaA) (0.5 mmol/l) on: 1. phosphorylation of Akt and Erk-1/2, molecules of the PI3K and MAPK pathways, respectively (WB); 2. ROS production (DCF-DA assay). Experiments were repeated in the presence the Erk-1/2 inhibitor U0126 (40 micromol/l) and the GLP-1 receptor (GLP-1R) antagonist exendin (9-39) (100 nmol/l).

Results. GLP-1 reduced platelet signalling induced by NaA. In particular: 1. the fold increase on basal values with NaA alone and Na+GLP-1 (7-36) was 11.2±2.1, 3.1±0.8 respectively ($p < 0.0001$ vs NaA alone) for pAKT, and 14.6±2.5, 3.9±1.0 respectively ($p < 0.0001$ vs NaA alone) for pERK-2; 2. the fold increase on basal values of ROS with NaA alone and NaA+GLP-1 (7-36) was 8.2±1.1, 5.6±2.0, respectively ($p = 0.001$ vs NaA alone); 3. the Erk-1/2 inhibitor U0126 reduced the NaA-induced activation of ROS ($p < 0.0005$ vs NaA alone). In the presence of GLP-1R antagonist exendin (9-39) the effects of GLP-1 were not modified.

Conclusions. In human platelets, GLP-1, independently of GLP-1R, reduces the NaA-induced activation of PI3K and MAPK pathways and of oxidative stress. Because MAPK activation is involved in the NaA-induced increase of oxidative stress, the inhibiting effects of GLP-1 on MAPK activation can account for its ability to attenuate the NaA-induced increase of oxidative stress.

STUDY OF LYSOSOMIAL ACID LIPASE ACTIVITY AND ITS DETERMINANTS IN ADULT PATIENTS WITH NON ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: PRELIMINARY RESULTS

F. Baratta¹, S. Di Santo¹, D. Pastori¹, L. Polimeni¹, L. Perri¹, D. Salzano¹, M. Del Ben¹, F. Angelico²
¹Department of Internal Medicine and Medical Specialties, Sapienza University of Rome; ²Department of Public Health and Infectious Diseases, Sapienza University, Rome
 E-mail: baratta.f@gmail.com

Introduction and aims. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), the most common hepatic disease, includes a wide spectrum of liver diseases ranging from simple steatosis to non-alcoholic

steatohepatitis, which may progress to fibrosis and even cirrhosis. Lysosomal Acid Lipase (LAL) is an enzyme whose deficiency causes the intra-lysosomal accumulation of cholesterol esters and triglycerides in several tissues. LAL is encoded by the "lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase (LIPA)" gene. The enzyme deficiency, an autosomal recessive disease, can manifest itself in two different phenotypes, in relationship with residual enzyme activity. Wolman syndrome, phenotype of early onset, manifests itself during the first six months of life and is rapidly fatal for the patient (the survival beyond one year of age is very rare). Cholesterol Ester Storage Disease (CESD) is a late onset phenotype that occurs with NAFLD, elevated aminotransferase levels, hepatomegaly and dyslipidemia characterized by elevated LDL-C and triglycerides and low HDL-C. However, so far, most data refer to pediatric subjects and there are no data in adult subjects and particularly on those with NAFLD. Aim of this ongoing study is to investigate LAL activity in a large series of adult NAFLD patients.

Materials and Methods. NAFLD was diagnosed by ultrasonographic Hamaguchi's criteria (1), in 350 subjects with no history of alcohol abuse, negative tests for HCV and HBV and for autoimmune liver disease. For the detection of LAL activity, blood was spotted on to filter paper. Samples were stored double-bagged with dessicant at -20°C. The measurement of LAL activity was performed using the inhibitor lalistat (2).

Results. Preliminary data obtained in the first 121 screened subjects show a very high prevalence of patients with LAL activity reduction (n=67, 55%) as compared to suggested reference normal values for the normal population. In particular, we found a high prevalence of NAFLD subjects with a LAL activity reduction higher than 40% (n=22, 18%), who may be considered, according to literature data (2), suggestive for LIPA gene heterozygosity. The study will be extended to all 350 subjects with NAFLD. LAL activity will be correlated with several clinical and biochemical characteristics. Subjects presenting reduced LAL activity will be genotyped.

References

1. Hamaguchi M, Kojima T, Itoh Y et al. The severity of ultrasonographic findings in nonalcoholic fatty liver disease reflects the metabolic syndrome and visceral fat accumulation. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2708-15.
2. Hamilton J, Jones I, Srivastava R, Gallo P. A new method for the measurement of lysosomal acid lipase in dried blood spots using the inhibitor Lalistat 2. *Clin Chim Acta*. 2012; 13(15-16)1207-10.

APPLICABILITÀ DELLE LINEE GUIDA DI PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE NEL MONDO REALE. RISULTATI DI UNO STUDIO CASO-CONTROLLO PROSPETTICO MULTIETNICO

M. Berteotti, M. Magnoni, L.R. Limite, G. Peretto, G.D. Norata, D. Cianflone
Università Vita-Salute San Raffaele, Milano
E-mail: martina.berteotti@gmail.com

Background. Le linee guida di prevenzione cardiovascolare ACC/AHA del 2013, hanno introdotto un nuovo sistema di predizione del rischio (Pooled Cohort Equations, PCE)2 e ridotto la soglia di prescrizione delle statine. Il conseguente potenziale ampliamento del numero di soggetti destinati al trattamento è oggetto di controversie.

Scopo. Valutare l'applicazione delle linee guida dell'ACC/AHA e dell'Adult Treatment Panel III (ATP-III)3 come modelli ex-post del trattamento preventivo nella popolazione di uno studio caso-controllo, prospettico e multi-etnico.

Metodi. La popolazione dello studio è costituita da 1.478 soggetti, arruolati nello studio FAMI4 in Italia, Scozia e Cina, di cui 739 casi con STEMI come prima manifestazione di malattia coronarica e 739 controlli appaiati per sesso, età e gruppo etnico. Attraverso l'integrazione delle informazioni relative ai fattori di rischio e le analisi centrali del profilo lipidico è stato calcolato il punteggio di rischio secondo i modelli dall'ATP-III e PCE, stimando la proporzione di casi e controlli per i quali la terapia con statina sarebbe stata preventivamente indicata dalle linee guida e calcolando i livelli di capacità di discriminazione dei modelli.

Risultati. L'applicazione del modello ACC/AHA determina un aumento della sensibilità all'indicazione del trattamento preventivo [ACC/AHA 0.94 (95% CI, 0.91-0.95) vs ATP-III 0.65 (95% CI, 0.61-0.68), p<0.0001] a fronte di una riduzione della specificità [ACC/AHA 0.19 (95% CI, 0.15-0.22) vs ATP-III 0.55 (95% CI, 0.51-0.59), p<0.0001] con accuratezza simile [ACC/AHA 0.56 (95% CI, 0.53-0.59) vs ATP-III 0.59 (95% CI, 0.57-0.63), p=ns]. L'accuratezza delle linee guida ACC/AHA è risultata superiore nella popolazione europea [Europei 0.58 (95% CI, 0.55-0.62) vs Cinesi 0.53 (95% CI, 0.48-0.57), p=0.003] e ulteriormente migliorata nei soggetti europei più giovani (uomini<55 anni; donne <65 anni) anche nei confronti dell'ATP-III [ACC/AHA 0.71 (95% CI, 0.66-0.76) vs ATP-III 0.62 (95% CI, 0.57-0.68), p=0.002].

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

Bibliografia

1. Stone N.J. et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013.
2. Goff D.C. et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk A Report of the American College of Cardiology / American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013.
3. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002; 106: 3143- 421.
4. Cristell N. et al. High-Sensitivity C-Reactive Protein Is Within Normal Levels at the Very Onset of First ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction in 41 % of Cases. 2011; 58.

UTILITÀ DEL RAPPORTO APOLIPOPROTEINA-B/APOLIPOPROTEINA A-1 NELLA PREDIZIONE DI INFARTO MIOCARDICO ACUTO INDIPENDENTEMENTE DAL PUNTEGGIO DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE NELLA POPOLAZIONE CINESE

M. Berteotti, M. Magnoni, L.R. Limite, G. Peretto, G.D. Norata, D. Cianflone
Università Vita-Salute San Raffaele, Milano
E-mail: martina.berteotti@gmail.com

Background. Precedenti studi hanno dimostrato che il rapporto Apolipoproteina B/Apolipoproteina A-1 (ApoB/ApoA1) è un predittore di rischio per infarto miocardico (STEMI) indipendente dal profilo lipidico tradizionale e dai modelli di stima del rischio (1, 2). Le linee guida di prevenzione cardiovascolare ACC/AHA del 2013, hanno introdotto un nuovo sistema di predizione del rischio (Pooled Cohort Equations, PCE) (3).

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

Metodi. La popolazione dello studio è costituita da 1478 soggetti, arruolati nello studio FAMI5 in Italia, Scozia e Cina, di cui 739 casi con STEMI come prima manifestazione di malattia coronarica e 739 controlli appaiati per sesso, età e gruppo etnico. Di tutti i soggetti sono stati misurati centralmente colesterolo totale (TC), LDL, HDL, Trigliceridi, ApoB e ApoA1 ed è stato calcolato il punteggio di rischio secondo PCE.

Risultati. Nella popolazione cinese i valori medi dei marcatori lipidici tradizionali erano significativamente inferiori rispetto agli europei (TC 208.6±47.4 vs 230.9±50.2, $p<0.0001$; LDL 137.0±43.7 vs 157.9±54.2, $p<0.0001$; HDL 41.4±9.7 vs 45.8±12.8, $p<0.0001$; Cinesi vs Europei, rispettivamente). Il rischio medio delle popolazioni europea e cinese con STEMI calcolato con PCE è risultato simile (Europei 19%±12.4 vs Cinesi 19.6%±14.1; $p=ns$) con un'accuratezza di predizione del rischio inferiore, ai limiti della significatività, nella popolazione cinese [0.57 (95% CI 0.53-0.61) e 0.63 (95% CI 0.59-0.66), $p=0.05$]. L'incremento del rapporto ApoB/ApoA1 è risultato significativamente associato a un aumento progressivo del rischio di STEMI sia nella popolazione europea (OR II vs I terzile: 1.49; 95% CI 1.03-2.15; OR III vs I terzile: 2.68; 95% CI 1.86-3.88) che in quella cinese (OR II vs I terzile: 1.98; 95% CI 1.32-2.99; OR III vs I terzile: 3.84; 95% CI 2.47-6.03).

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

Bibliografia

1. Walldius G. et al. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2026-33.
2. McQueen M.J. et al. Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins as risk markers of myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): a case-control study. *Lancet* 2008; 372: 224-33.
3. Stone N.J. et al. ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013.
4. Goff D.C. et al. ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013.
5. Cristell N. et al. High-Sensitivity C-Reactive Protein Is Within Normal Levels at the Very Onset of First ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction in 41% of Cases. 2013; 2011; 58.

APOA-I GUASTALLA: A NOVEL TRUNCATION OF APOLIPOPROTEIN A-I IN AN ITALIAN FAMILY WITH HYPOALPHALIPOPROTEINEMIA

K. Beshiri¹, R. Fresa¹, N. Artom¹, L. Calabresi², E. Favari³, S. Bertolini¹, L. Pisciotta¹

¹Department of Internal Medicine, University of Genoa;

²Center E. Grossi Paoletti, Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan;

³Department of Pharmacy, University of Parma

E-mail: kristi_beshiri@hotmail.it

The proband was a 13 year-old overweight boy with severe hypoalphalipoproteinemia (HPA) associated with hypertriglyceridemia (HTG). Complete lipid profile was performed the first time at 12 years of age, during hospitalisation for recurrent abdominal pain: Total Cholesterol (TC) 4.99, HDL-C 0.23, Triglycerides (TG) 2.32,

non HDL-C 4.76 mmol/L. The proband was born at 39° week with caesarean section (Apgar 10/10, weight 3.550 kg). At 7 years of age he developed overweight (BMI 23 kg/m², >95 centile); at 12 years his BMI was 28.4 kg/m² (>95 centile) with an HOMA index of 5.2 (V.N.<2.5) and plasma insulin 27.8 microU/mL. At the age of 13, the patient was referred to our Lipid Clinic for severe HTG (7.19 mmol/L) with very low HDL-C (0.41 mmol/L). After six months of treatment with n-3 FAs (850 mg/day) and hypocaloric diet, TG lowered to 2.81 mmol/L but HDL-C remained low (0.31 mmol/L). The proband's father, 52 year-old, BMI 28.0 kg/m², presented a mixed hyperlipidemia: TC 8.27, HDL-C 0.83, TG 4.94, nonHDL-C 7.45 mmol/L, ApoA-I 131 and ApoB 178 mg/dl, max IMT 0.13 mm at echographic evaluation of the carotid arteries. He had family history of type-2 diabetes mellitus. The proband's mother, 52 year-old, BMI 25.8 kg/m², presented beta-thalassemic trait and isolated HPA:TC 4.08, HDL-C 0.80, TG 1.35, nonHDL-C 3.28 mmol/L, ApoA-I 83 and ApoB 87 mg/dl; ultrasound examination revealed an accelerated blood flow at the right internal carotid artery. The proband's maternal grand-father, 86 year-old, BMI 27.0 kg/m², past heavy smoker, since the age of 65 suffered from peripheral arterial disease at lower limbs, sub-renal aortic aneurism and hypertensive heart disease; his lipid profile revealed HPA: TC 4.37, HDL-C 0.62, TG 1.13, non HDL-C 3.75 mmol/L, ApoA-I 64 and ApoB 91 mg/dl. Carotid ultrasound examination documented fibrous plaques with 30-40% stenosis.

Despite the presence of insulin resistance, partially explaining the low HDL-C level, in view of the severity and of the vertical transmission of HPA trait, we performed the sequencing of the three major candidate genes, APOA1, ABCA1 and LCAT. The proband was found to be heterozygous for a novel APOA1 mutation c.546_547delGC, predicted to cause a truncated protein: p.(L183Afs*20) in the pre-proprotein and p.(L159Afs*20) in the mature protein. The mutation eliminates the C-terminal domain (aa 190-243, helix 8-10), which essential for lipid binding, HDL maturation and ABCA1-mediated cholesterol efflux, eliminates the normal aa 159-189 of N-terminal domain and alters the conformation of helix 6 and 7. The active site for interaction with LCAT and activation (aa 110-160) is only marginally affected. In fact, CER resulted only slightly below the normal range (30-60 mmol/ml/h) in the proband (24.1) and his grand-father (29.1), and normal in his mother (35.7). SDS-PAGE with anti-apoA-I polyclonal antibody showed the presence of the truncated protein in plasma. The analysis of plasma HDL subfractions showed that in carriers of the mutation HDL2 were undetectable, there was strong reduction of pre β -HDL, a reduction of LpA-I more than that of LpA-I:A-II, a decrease of large HDL and an increase of small HDL. The ABCA1-mediated cholesterol efflux from J774 macrophages over-expressing this transported was strongly reduced in the mutation carriers. In view of the HTG found in the proband we also sequenced LPL, GPIHBP1, APOA5, APOC2, and LMF1 genes but no pathogenic mutations were identified. The investigation of some SNPs, affecting TG levels (APOE alleles, APOC3 -482C>T, GCKR P446L rs1260326 C>T) gave the following results: proband (e2e3; C/T, 446PL), mother (e2e3; C/C, 446PP), maternal grandfather (e3e3; C/C, 446PL). In the proband a combination of e2, -483T and 446L alleles, in presence of overweight and insulin resistance, may contribute to HTG.

DYSLIPIDEMIA IN HUMANS AND MICE PROMOTES DIFFERENTIATION OF NAÏVE CD4⁺ T CELLS TOWARD EFFECTOR SUBSET

F. Bonacina¹, F. Sala¹, F. Pellegatta², L. Grigore², A. Baragetti^{1,2}, A.L. Catapano^{1,3}, G.D. Norata^{1,2,4}

¹Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan; ²Centro SISA per lo studio dell'aterosclerosi, Ospedale Bassini, Cinisello Balsamo, Milano;

³IRCSS Multimedica, Milan; ⁴The Blizzard Institute, Centre for Diabetes, Barts and The London School of Medicine & Dentistry, Queen Mary University (London, UK)

E-mail: fabrizia.bonacina@unimi.it

Recent studies show that immunity plays a major role in initiation and progression of atherosclerosis with a prevalence of effector T cells (T_{EM}) versus central (T_{CM}) memory T cells. Whether dyslipidemia plays a role in priming effector vs central memory response is debated.

Aim of this work was to investigate in animal models and in humans how dyslipidemia affects naïve (T_N) to effector/memory CD4⁺T cell differentiation.

Flow-cytometric analysis revealed that ApoE KO and LDL-R KO mice present increased T_{EM} (CD4⁺CD44⁺CD62L⁻) and reduced T_N (CD4⁺CD44⁻CD62L⁺) levels in the circulation compared with C57Bl/6J mice.

T_{EM} levels also correlated with the extension of atherosclerotic plaques in their aortic sinus. We further tested how dyslipidemia impacts T cells functionality: we first observed an increased proliferation after antigenic stimulation in lymphocytes from LDL-R KO and ApoE KO mice compared to C57Bl/6J; later we performed a skin graft allotransplantation model, where proper effector T cell response is critical. LDL-R KO and ApoE KO lymph nodes presented increased T_{EM} percentages which also displayed increased migratory activity toward specific chemokines as CXCL10 (CXCR3 agonist), further confirming the impact of dyslipidemia on T effector response in immune-inflamed conditions.

In humans, we studied the correlation between circulating CD4⁺T cells by 8/color/polychromatic flow-cytometry (CD3, CD4, CD45RO, CD45RA, CCR7, CCR5, CXCR3, HLA-DR) in 183 subject from general population (PLIC study) and observed that plasma cholesterol levels were significantly correlated to T_{EM} independently of other metabolic and cardiovascular risk factors. T_{EM} and T_{EM} -subsets were also positively correlated with IMT-CCA and increased in CSA and AMI patients ($p < 0,01$).

We further confirmed the association between T_{EM} and cholesterol levels in 157 carriers of ApoE isoforms: ApoE4 carriers presented increased levels of T_{EM} compared to ApoE2 and ApoE3 carriers (10,28±4,9% and 11,05±4,4% vs 13,69±4,0%, $p < 0,05$ and $p < 0,01$). Next we investigated T cell subsets in the blood of 76 heterozygous-FH patients and 92 age/sex matched control determining a significant increase of TEM (21,64±9,11% vs 18,16±6,82%, $p < 0,01$) in FH patients vs controls. Isolation of T_{EM} and T_{CM} sorted from FH patients and controls with cell-sorting revealed an increased expression of IL-17 and ROR γ t but not INF γ , Tbet, IL-4 or GATA-3 in T_{EM} from FH compared to controls, pointing to specific polarization toward T_H17 of immune response in FH patients.

Together our data from mice models of dyslipidemia and patients affected by CVD suggest that impaired cholesterol metabolism polarizes adaptive immunity toward a T effector memory response.

IPOCOLESTEROLEMIA E CARDIOPATIA ISCHEMICA

A. Bosio, G. Monaco, C. Pascale
S.C. Medicina Interna, Ospedale Cottolengo, Torino
E-mail: abosio2002@yahoo.it

Introduzione. Lipocoloesterolemia, primaria e secondaria, è evenienza relativamente rara, considerata associata a ridotta aterosclerosi. Descriviamo un caso di ipocoloesterolemia con coronaropatia relativamente precoce.

Caso clinico. Maschio settantatreenne giunto all'osservazione per basso HDL-c. Familiarità per dislipidemia non valutabile (lipidi non noti nei relativi di 1° grado), negativa per coronaropatia; fumo 40 sigarette/die fino a 57 anni, dieta libera, non alcolici, vita attiva, alvo regolare. Riferisce diverticolosi colica, gammopatia IgG λ , IMA a 57 anni; a memoria acetosterolo e HDL-c sempre bassi.

Terapia: atenololo, acido acetilsalicilico.

Obiettività normale con fegato palpabile all'arco costale.

Esami: funzione tiroidea, renale, epatica, glicemia, emocromo normali, minima componente IgG λ , colesterolo 79 mg/dL, HDL-c 16 mg/dL, trigliceridi 164 mg/dL, LDL-c 30 calcolato, ApoB 44 mg/dL, ApoA1 89 mg/dL. Ecografia addome: lieve epatomegalia con steatosi. Anamnesi, obiettività, esami rendono probabile la diagnosi clinica di ipobetalipoproteinemia familiare eterozigote.

Discussione. Nella valutazione dell'ipocoloesterolemia occorre distinguere forme secondarie (dieta vegetariana stretta, malnutrizione, malassorbimento intestinale, epatopatie gravi, ipertiroidismo, malattie infettive, malattie critiche, stress acuto, neoplasie, anemia, farmaci) e primarie (difetti genetici di assorbimento, biosintesi, metabolismo del colesterolo: alterata attività di PCSK9 e MTTP e sintesi di ApoB). Per diagnosticare l'ipobetalipoproteinemia familiare (prevalenza 1:500-1:1000 nella forma eterozigote) occorre escludere forme secondarie e riscontrare valori di colesterolo, LDL-c, ApoB <5° percentile (circa 150, 70, 50 mg/dL, rispettivamente). La presenza di ipobetalipoproteinemia è ritenuta associata a ridotta aterosclerosi, ma evidenze esistono solo per mutazioni loss-of-function di PCSK9. L'IMA relativamente precoce del probando conferma come la coronaropatia sia multifattoriale ed occorra valutare sempre il rischio cardiovascolare: al momento dell'evento ischemico il rischio cardiovascolare globale a 10 anni era aumentato (algoritmo ASCVD 21.7%, algoritmo SCORE 9%, 3% per evento fatale), trattandosi di maschio fumatore.

Conclusioni. La presenza di ipocoloesterolemia non deve esimere dalla valutazione del rischio cardiovascolare globale e dalla correzione di eventuali fattori di rischio concomitanti.

EVALUATION OF CORONARY ATHEROSCLEROSIS BURDEN IN ASYMPTOMATIC FH PATIENTS FOLLOWING LIPID LOWERING THERAPY

A. Bosso¹, G. Pigna¹, F. Zaccagna², I. Carbone², C. Catalano², M. Arca¹
Department of ¹Internal Medicine and Allied Science;
²Radiology, Sapienza University of Rome, Policlinico Umberto I, Rome
E-mail: lsnbss@tiscali.it

Background. The evaluation of burden of coronary atherosclerosis in asymptomatic patients with familial hypercholesterolemia (FH) represents a promising line of research for the implementation of a more aggressive lipid lowering therapy.

Methods. In this cross-sectional, observational study 20 patients (47.6±13.3 yrs) with heterozygous FH under treatment with the maximum tolerated dose of statins (with or without ezetimibe) by 8.4±10 years were enrolled; 95% of them experienced LDL-C reduction >50%, but only 25% showed LDL-C<100 mg/dl. Thirtyseven subjects (59±8 yrs) with 1-2 cardiovascular risk factors, no history of CHD and no lipid-lowering therapy were selected as a reference group. Both groups were subjected to coronary CT scan and the overall prevalence (CAD), the severity (obstructive or non-obstructive defined as > or <50% stenosis), the hazard in relation to the location (ATH-score) and the composition (predominantly calcified, soft or mixed) of coronary plaques were evaluated. In FH the coronary atherosclerosis burden was related to the exposure to high cholesterol over time (Total Cholesterol-Years Score, TCYS). **Results.** The age- and sex-adjusted prevalence of CAD was significantly higher in FH than in controls (72% vs. 40%; p=0.026). CAD was 4-fold higher in FH women than control women (75% vs. 18.75%, p=0.019). The average number of plaques per patient was 2-fold higher in FH compared to controls (2.82±2.64 vs. 1.37±2.07; p=0.021). Among FH, 41% of plaques were soft while 10.5% among controls (p=0.029). ATH-score was higher in FH than controls (4.72±4.51 vs 2.20±3.64, p=0.015), given the predominantly proximal location of plaques. The TCYS was higher in FH with CAD compared to those without CAD, even though the difference only approached the statistical significance.

Conclusions. In FH-patients the development of atherosclerosis is accelerated despite intensive lipid-lowering treatment. To obtain a further reduction of atherosclerosis burden an earlier onset as well as a more aggressive therapy is highly advisable.

POTERE PREDITTIVO DELLA CAPACITÀ VASODILATORIA RENALE SULL'OUTCOME RENALE IN PAZIENTI CON DIABETE MELLITO TIPO 2 E IPERTENSIONE ARTERIOSA: UNO STUDIO PILOTA

R.M. Bruno, A. Salvati, M. Barzacchi, K. Raimo, S. Taddei, L. Ghiadoni, A. Solini
Istituto di Fisiologia Clinica, CNR, Pisa; Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa
E-mail: rosam.bruno@gmail.com

Scopo. Valutare in maniera prospettica il significato prognostico in termini di outcome renale di alcuni markers di danno vascolare, come la capacità vasodilatoria renale (Dynamic Resistive Index, DRIN), la rigidità arteriosa e la funzione endoteliale, in pazienti con diabete mellito tipo 2 (T2DM) o ipertensione essenziale (EH). **Metodi.** Sono stati reclutati 70 pazienti (27 T2DM, 43 EH) di nuova diagnosi, non trattati e senza danno renale. I seguenti parametri sono stati valutati alla visita 0: indici di resistività intraparenchimale renale (RI), DRIN (variazione percentuale di RI indotta da nitroglicerina s.l. 25 µg - GTN), vasodilatazione endotelio-dipendente (flow-mediated-dilation - FMD) e - indipendente (risposta a GTN) dell'arteria brachiale, pulse wave velocity carotido-femorale (PWV), e augmentation index (AIx). Alla visita di follow-up (V1, dopo 4.2±0.6 anni) sono stati considerati i seguenti endpoint: urinary albumine-creatinine ratio (UACR) >30 mg/g; riduzione >5 ml/min 1.73 m² del filtrato glomerulare stimato (eGFR).

Risultati. Al follow-up, 13 pazienti hanno sviluppato microalbuminuria (MA) e 25 pazienti (5 T2DM) una riduzione di eGFR. I pazienti con MA al follow-up erano più frequentemente diabetici (9 vs 4 pazienti, 33.3% vs 9.3%, p=0.005), più anziani (62.2±8.1 vs

53.4±10.4 anni, p=0.03), e presentavano a V0 una UACR più elevata [15 (10-23) vs 2 (0-7) mg/g, p=0.03]. Anche DRIN (-2.8±6.7 vs -10.6±6.4%, P=0.01) e PWV (9.9±1.3 vs 7.9±1.5 m/s, p=0.004) erano più elevate a V0. In particolare DRIN (-1.7±7.8 vs -8.4±4.1%, p=0.03) era associato allo sviluppo di MA nei pazienti con T2DM, e PWV (10.5±1.8 vs 7.8±0.84 m/s, p=0.0004) in quelli con EH. La riduzione di eGFR era più frequente nei pazienti con EH (20 vs 5, p=0.04), e con eGFR più alto a V0 (95±15 vs 85±13 ml/min 1.73, p=0.03). Gli individui con riduzione di eGFR non presentavano differenze in termini di parametri vascolari rispetto ai rimanenti pazienti; tuttavia, nel gruppo EH, DRIN (-5.8±3.6 vs -12.1±7.1%, p=0.005) era associato alla riduzione di eGFR.

Conclusioni. I risultati di questo studio pilota dimostrano che, tra i parametri di danno vascolare, la rigidità arteriosa e la capacità vasodilatoria renale sono in grado di predire lo sviluppo di microalbuminuria, ma non la riduzione di eGFR, in una coorte di pazienti ipertesi e diabetici di nuova diagnosi. Questi dati suggeriscono che meccanismi vascolari siano coinvolti precocemente nello sviluppo di danno renale. Inoltre fattori di rischio cardiovascolare come l'ipertensione arteriosa e il diabete mellito di tipo 2 sembrano attivare meccanismi diversi di danno vascolare e renale.

CHOLESTEROL ACCUMULATION AND INFLAMMATION IN SKIN AND SKIN-DRAINING LYMPH NODES IN APOE-KO MICE LACKING MURINE APOA-I

M. Busnelli¹, F. Arnaboldi², S. Manzini¹, G.S. Ganzetti¹, C. Parolini¹, F. Dellera¹, L. Cornaghi², E. Scanziani³, C.R. Sirtori¹, E. Donetti², G. Chiesa¹

¹Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Università degli Studi di Milano; ²Department of Biomedical Sciences for Health, Università degli Studi di Milano;

³Department of Veterinary Science and Public Health, Università degli Studi di Milano

E-mail: marco.busnelli@gmail.com

Background. Skin is one the largest organs in the body and serves as a major barrier to infection, water loss, and abrasion. Maintenance of the integrity of the skin requires the synthesis of large amounts of lipids. For this reason, skin is a very active site of cholesterol synthesis and contains a substantial fraction of apoA-I. Lymph nodes are positioned at strategic sites surveying the diverse tissues of the body. Cells, antigens, and lipids drained from the tissues reach the lymph nodes with the afferent lymph. Previous experimental findings demonstrate that diet-induced hypercholesterolemia, in atherosclerosis-prone mice lacking apoA-I, leads to a massive accumulation of cholesterol in skin and skin-draining lymph nodes.

Aim. To determine how different apoA-I levels could affect skin and skin-draining lymph nodes morphology and composition of athero-prone mice in normocholesterolemic conditions.

Methods. C57Bl/6 (WT), apoE-KO (EKO), apoA-I-deficient/apoE-KO (dKO) or dKO overexpressing human apoA-I (hA-I) mice were fed a chow diet for 30 weeks. At sacrifice, plasma cholesterol concentration and distribution among lipoproteins were evaluated. Skin biopsies were harvested and processed for light microscopy and transmission electron microscopy. Axillary/inguinal skin-draining lymph nodes, mesenteric gut-draining lymph nodes and spleen were histologically characterized.

Results. Plasma total cholesterol concentration in dKO mice was comparable with that of WT mice and 3-fold lower than the concentration observed in EKO and hA-I mice. Cholesterol in WT mice

was almost exclusively confined to the HDL fraction whereas in EKO mice an elevated cholesterol accumulation in VLDL/LDL and low HDL levels were observed. In dKO mice, HDL particles were absent and cholesterol accumulation in the VLDL/LDL fractions was lower than that found in EKO mice. hA-I mice were characterized by a less prominent presence of VLDL/LDL, but a larger HDL cholesterol peak than that found in EKO mice.

Skin morphology of EKO and hA-I mice was comparable with that of WT mice. Conversely, dKO mouse skin was characterized by increased dermal thickness, large accumulation of cholesterol and massive accumulation of foam cells and lymphocytes. Additionally, electron microscopy highlighted the presence of cholesterol crystals both in the extracellular milieu and within foamy macrophages only in dKO mouse skin.

Compared to all the other experimental groups, dKO mice had enlarged axillary and inguinal skin-draining lymph nodes, characterized by the accumulation of foamy macrophages, increased cholesterol and lipid deposition, together with the presence of cholesterol crystals surrounded by granulomatous reactions, and dilated sinuses.

To evaluate whether the impairment observed in axillary and inguinal lymph nodes was due to a systemic inflammation, the gut-draining mesenteric lymph nodes and spleen were evaluated. In this case no differences in both size and histology were observed among the mouse lines.

Conclusions. Our study demonstrates that HDL depletion in apoEKO mice fed a low-fat/low-cholesterol diet leads to cholesterol levels comparable with those of WT mice. This finding notwithstanding, an aberrant accumulation of cholesterol with a concomitant infiltration of foamy macrophages and lymphocytes in the skin and in axillary and inguinal lymph nodes was observed. We can conclude that apoA-I deficiency itself, in the absence of hyperlipidemia, causes cholesterol overload and associated inflammation in skin and skin-draining lymph nodes.

LYSOSOMAL ACID LIPASE DEFICIENCY IN CHILDREN: CLINICAL AND BIOCHEMICAL PRESENTATION

P. Cagliero, F. Zimetti, E. Favari, O. Guardamagna
Department of Health Science and Pediatrics, University of Turin, Turin, Department of Pharmacy, University of Parma
E-mail: paolacagliero@hotmail.it

Background. Lysosomal acid lipase deficiency (LALD), already known as Wolman disease (WD) and Cholesteryl ester storage disease (CESD), are rare disorders caused by mutations of LIPA gene which encodes for lysosomal acid lipase (LAL). The unclear clinical phenotype and symptoms occurring since infancy (WD) or childhood (CESD) may explain misdiagnosis. CESD patients display more commonly liver disorder, increased LDLc, decreased HDLc and premature atherosclerosis.

Aim of the present study is to describe the clinical presentation and cholesterol efflux (cholesterol efflux capacity, CEC) from serum of LALD affected children.

Methods. The study involved 6 patients (2 infants 3-4 months old, 3 children aged 3.5-5 yrs and a 15 yrs old boy) referring to our Clinic with the suspicion of enteral disorders (both infants), combined dyslipidemia, hypertransaminasemia, anemia in children respectively, and lymphoma in the adolescent to define their diagnosis. Patients underwent routine (including lipid profile and liver function tests) and specific laboratory set analysis, then medulla and liver biopsy, abdominal Rx scan and ultrasound, carotid IMT

B-mode ultrasound. LAL activity was checked by DBS tests and LIPA gene sequencing was performed. The efficiency of serum HDL to promote aqueous diffusion (AD) cell cholesterol efflux (cholesterol efflux capacity, CEC) from serum of CESD subjects was compared to control subjects in pediatric age.

Results. Tests performed to reach conclusive diagnosis excluded previous clinical suspects then confirmed LALD in all patients. Two infants resulted affected by WD and both deceased around 12 month of age. The other 4 patients showed positive DBS tests and exon 8 c.894 G>A and c.883 C>T mutations were detected by LIPA gene sequencing.

The lipid profile demonstrates a level increase of total cholesterol (208-401 mg/dl), triglycerides (102-160 mg/dl) and LDLc (140-326 mg/dl), HDLc level reduction (28-36 mg/dl). Abdominal ultrasound showed mild hepatomegaly and liver steatosis in all 4 CESD subjects. The carotid intima-media thickness (cIMT) performed in the 2/4 older patients resulted normal. Two patients were submitted to the treatment with Ezetimibe 10 mg/die and sorted an LDLc decrease up to 20% and ALT levels stabilization 3 and 5 years later. In CESD subjects AD-mediated CEC was significantly lower compared to control subjects ($7.22\% \pm 1.51$ vs $8.88\% \pm 0.32$; $p=0.04$); SR-BI-, ABCG1- and ABCA1-mediated CEC were markedly reduced in CESD compared to control subjects (-59%, -40%, -31% respectively; $p<0.05$)

Conclusions. LALD need to be considered, since childhood, as a differential diagnosis when dyslipidemia and/or transaminase increase are confirmed or liver steatosis occurs; but it should also be underlined that unexplained hematologic disorders or recurrent infective disease need to be deepen as potentially LAL related. CESD pediatric patients displayed an impaired HDL serum CEC through SR-BI, ABCG1, ABCA1 pathways that could explain the accelerated atherosclerosis as observed in adulthood.

Improving the awareness of LALD with efficient diagnostic tools should facilitate the correct diagnosis aimed to address patients to follow-up and therapy.

CAROTID ARTERY INTIMA-MEDIA THICKNESS IN CHILDREN WITH PRIMARY DYSLIPIDEMIA

P. Cagliero¹, B. Frigerio², E. Barabesi¹, D. Baldassarre^{2,3}, O. Guardamagna¹
¹Dipartimento di Scienze della Sanità pubblica e Pediatriche, Università degli Studi di Torino; ²Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Milano; ³Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano
E-mail: paolacagliero@hotmail.it

Introduction. In subjects with primary dyslipidemia, arterial functional and morphological changes are detectable even in the first decade of age, thus suggesting that subclinical forms of the atherosclerotic process begin since the childhood. Carotid artery intimal-media thickness (cIMT), as measured by B-mode ultrasound, is a widely accepted surrogate marker of carotid and even coronary atherosclerosis, which can be assessed without problems even in children. This pilot study sought to compare the cIMT values of three small groups of dyslipidemic children: the first affected by Familial Hypercholesterolemia (FH; n=13), the second by Familial Combined Hyperlipidemia (FCH; n=14) and the third by Undefined Autosomal Dominant Hypercholesterolemia (ADH; n=20), so defined for the lack of any clear characteristic for FH or FCH.

Methods. cIMT was measured in the near and far wall of left and

right common carotids (CC), bifurcations (Bif) and first proximal centimeter of internal carotid arteries (ICA). Three scan angles (anterior, lateral and posterior) were considered. The ultrasonic variables selected for the statistical analyses were the mean (IMT-mean) and the maximum (IMTmax) value of cIMT detected in the whole carotid tree. Statistical analysis were performed by SPSS 21.0 software.

Results. In the whole group (n=47; age 10.7±3.3 ys) the mean±SD values of IMTmean and IMTmax were 0.65±0.06 mm and 0.79±0.07 mm, respectively. IMTmean was significantly higher in FH children than in FCH children (0.67±0.064 mm Vs. 0.63±0.033 mm; respectively. P=0.003). The IMTmax of children with FH (0.82±0.079 mm) was significantly greater than that observed in both FCH (0.78±0.062 mm; P=0.006) and Undefined ADH (0.78±0.072 mm; P=0.017). No differences were observed in terms of either IMTmean or IMTmax when FCH were compared with Undefined ADH (both P>0.05).

Conclusions. These results confirm observations previously reported showing that Familial Hypercholesterolemia (FH) predisposes patients to premature atherosclerosis, with the process which starts in early childhood.

EXPRESSION OF MIRS 221, 222 AND 145 IN PERIPHERAL MONOCYTE CELLS OF ESSENTIAL HYPERTENSIVE PATIENTS

V. Cairo, G. Mandraffino, F. Mamone, C.O. Aragona, A. Cinquegrani, M. Cinquegrani, M.A. Sardo, A. Saitta
Department of Clinical and Experimental Medicine, University of Messina
 E-mail: gmandraffinomid@libero.it

MicroRNAs (miRs) are highly conserved, short noncoding RNA molecules that negatively regulate messenger RNA stability and/or translational efficiency. Since miRs can control the expression of many genes, their role appears central to the survival and functions of many cells. Several miRs have been associated with cardiovascular disease and protection.

miRs 221 and 222 (miR221/222) have been already identified in several different cells types including endothelial cells, circulating progenitor cells, and peripheral monocytes. In these cell types miR221/222 participate in the differentiation and proliferation, inhibiting cell migration and homing, also by inhibiting the synthesis of the receptor for the Stem Cell Factor c-Kit. Moreover, miR221/222 modulate different genes regulating the angiogenesis and inflammation. We have already observed that miR221/222 were up-regulated in CVD patients increasing ROS production and reducing angiogenesis.

miR145 was described in smooth muscle cells (SMCs), and more recently also in peripheral monocyte cells, and its biological function appears to be related to cell proliferation and phenotype. It was shown that when miR145 is under-expressed, SMCs switch from contractile to proliferative phenotype, accelerating the progression of atherosclerosis.

Consistently, it can be proposed that miRs221/222 and miR145 act in an opposite manner: low miR145 expression with high miRs221/222 expression promoting a trend toward cell migration, proliferation, cell oxidative stress and atherogenesis; conversely, a balanced miR145 and miRs221/222 expression result in lower cell oxidative stress, cell migration and proliferation, and deceleration of atherogenesis.

We evaluated the expression of miRs 145, 221 and 222 in peripheral blood monocytes (Real Time-PCR) in 64 consecutively enrolled

newly diagnosed, untreated hypertensive patients (aged between 21 and 52 years old) with no additional risk factors; 49 healthy subjects were included as controls. Plasma lipids, fibrinogen and C-reactive protein (CRP) levels, AS indices, including pulse wave velocity (PWV) and augmentation index (AIx) and carotid media thickness (cIMT) were measured.

We found that on the average hypertensives presented with approximately 2-fold miR221/222 expression, whereas miR145 was approximately 0.75-fold with respect to healthy controls. Furthermore, miR expression correlates with several markers of vascular involvement and risk factors. Total cholesterol (221: r=0.358, p<0.005; 222: r=0.242, p<0.05; 145: r=0.253, p<0.05), High density lipoprotein-cholesterol (221: r=0.618, p<0.001; 222: r=0.693, p<0.001; 145: r=0.645, p<0.001), Low density lipoprotein-cholesterol (221: r=0.459, p<0.001; 222: r=0.349, p<0.005; 145: r=0.353, p<0.005), Fibrinogen (221: r=0.589, p<0.001; 222: r=0.774, p<0.001; 145: r=0.661, p<0.01), CRP (221: r=0.429, p<0.001; 222: r=0.566, p<0.001; 145: r=0.462, p<0.001), Systolic blood pressure (221: r=0.627, p<0.001; 222: r=0.543, p<0.001; 145: r=0.571, p<0.001), Diastolic blood pressure (221: r=0.534, p<0.001; 222: r=0.543, p<0.001; 145: r=0.613, p<0.001), AIx (221: r=0.651, p<0.001; 222: r=0.701, p<0.001; 145: r=0.620, p<0.001), PWV (221: r=0.693, p<0.001; 222: r=0.726, p<0.001; 145: r=0.641, p<0.001), cIMT (221: r=0.397, p<0.001; 222: r=0.443, p<0.001; 145: r=0.456, p<0.001).

Multiple regression analysis indicated that miR145, miR221 and miR222 expression are significantly influenced by Fibrinogen, SBP and DBP; moreover, miR222 is also associated with CRP plasma levels (p<0.001), and AS indices (AIx: p<0.001, PWV: p<0.005).

Although we found an inverse correlation between miR145 and miRs221/222, miR145 showed a poor absolute predictive power with respect to vascular indices.

In conclusion we can confirm the role of miR221/222 in modulating vascular response to high blood pressure-induced damaging, and also suggest miR145 as potential marker of counter-regulatory system.

IMPATTO DELL'INDICE DI FITNESS SULLA CIRCONFERENZA VITA IN UN GRUPPO DI SOGGETTI ADULTI E ANZIANI

E. Capatti, M.L. Morieri, D. Francesconi, E. Dalla Nora, M.A. Miselli, C. Soavi, G. Brombo, S. Poma, G. Zuliani, A. Passaro; PANGeA Group
Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Ferrara
 E-mail: cplnr@unife.it

L'indice di fitness ottenuto con il UKK Walk Test è basato sulla stima della capacità aerobica massimale ($VO_{2\max}$), effettuata con il test del cammino su 2 km. Le variabili implicate nel suo calcolo tengono conto del tempo impiegato, della frequenza cardiaca al termine dello sforzo e vengono aggiustate per sesso, età e BMI.

Scopo dello studio. Valutare la correlazione tra indice di fitness e composizione corporea in soggetti adulti e anziani.

Materiali e Metodi. 156 pazienti di età media 67±5 anni (range 60-81), M/F 71/85, partecipanti al progetto PANGeA (popolazione di Ferrara), sono stati sottoposti al test del cammino dei 2 km, calcolando l'indice di fitness. Tutti i soggetti sono stati inoltre sottoposti a valutazione antropometrica e a BIA per la stima della composizione corporea.

Risultati. Nella popolazione di Ferrara partecipante allo studio PANGeA, l'indice di fitness è risultato inversamente correlato alla circonferenza vita (uomini, coefficiente di Pearson r=-0,62,

$p < 0,001$; donne $r = -0,401$, $p = 0,001$). La regressione lineare mostra che l'indice di fitness è predittore, indipendentemente dal sesso e dall'età, della circonferenza vita, spiegandone il 32% della variabilità. (R^2 0,322, β -coefficiente -0,477, $p < 0,001$).

Conclusioni. Valutare solo la presenza/assenza di attività fisica per stimare il rischio cardiovascolare (CV) introduce un bias. Diversi sono gli effetti a lungo termine dell'attività fisica svolta con crescenti livelli di VO_{2max} sul rischio CV. L'obesità viscerale rappresenta un fattore di rischio aggiuntivo rispetto alla sola obesità, per la presenza di insulino-resistenza, iperlipemia e sindrome metabolica. I nostri dati mostrano una correlazione inversa tra indice di fitness e circonferenza vita. L'incremento di un punto dell'indice di fitness determina una riduzione della circonferenza vita di 0,57 cm, indipendentemente da sesso e età. Questo potrebbe indicare che i soggetti più performanti hanno un minor accumulo di grasso a livello viscerale e quindi un minor rischio di sviluppare eventi CV.

NUOVI MARCATORI DI STEATOEPATITE NON ALCOLICA CORRELATI CON IL COMPENSO METABOLICO

M. Cardellini, F. Davato, I. Cardolini, R. Menghini, V. Casagrande, A. Marino, A. Mauriello, O. Porzio, P. Sbraccia, P. Gentileschi, M. Federici

Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università di Roma Tor Vergata, Policlinico Tor Vergata
E-mail: cardellini@med.uniroma2.it

Le basi del danno epatocellulare e della progressiva fibrosi nei pazienti affetti da Obesità, alterazioni glicometaboliche quali insulino resistenza e Diabete di Tipo 2, e Steatosi epatica non alcolica (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) sono poco conosciute. In questo lavoro abbiamo cercato di identificare fattori epatici che siano differenzialmente espressi nelle varie fasi istologiche della NAFLD.

A tale scopo abbiamo arruolato 45 pazienti obesi non diabetici, che sono stati sottoposti ad intervento di chirurgia bariatrica (sleeve gastrectomy o bypass gastrico). Prima dell'intervento i pazienti sono stati caratterizzati mediante curva da carico orale di glucosio, clamp euglicemico iperinsulinemico, assetto lipidico, profilo infiammatorio, bioimpedenziometria. La steatosi epatica è stata preliminarmente valutata mediante ecografia epatica. Inoltre mediante Ecocolordoppler è stato misurato lo spessore miointimale a livello della carotide comune ed interna. Durante l'intervento è stata eseguita una biopsia epatica, suddivisa in due aliquote: una per la valutazione istologica del grado di steatosi e fibrosi (mediante NAS score) e l'altra congelata in azoto liquidi e conservata a -80°C per la successiva estrazione di RNA. L'RNA è stato estratto per analizzare l'espressione differenziale dei geni mediante Affymetrix human GeneChips U 133 plus 2.0. Il T test ad 1-coda è stato effettuato e usato per individuare espressioni geniche differenziali. I pazienti sono stati suddivisi in 4 gruppi in base al grado di tolleranza glucidica e al NAFLD/NASH score:

1. obesi con normale tolleranza glucidica/steatosi semplice (NGT/SS, $n=16$);
2. obesi con normale tolleranza glucidica/steatoepatite non alcolica (NGT/NASH, $n=7$);
3. obesi con alterazioni del metabolismo glucidico/steatosi semplice (IGM/SS, $n=7$);
4. obesi con e with alterazioni del metabolismo glucidico/steatoepatite non alcolica (IGM/NASH, $n=15$).

L'analisi di espressione genica comparativa e l'analisi di abbondanza peptidica sono state eseguite in due sottogruppi di pazienti

IGM/NASH ($n=3$) and NGT/SS ($n=3$). I geni differenzialmente espressi più rilevanti sono stati verificati in tutta la coorte mediante rtPCR. L'analisi di espressione genica ha rivelato che i clusters maggiormente differenti erano quelli riguardanti la biosintesi degli acidi grassi, il core del nucleosoma e la risposta agli stimoli ormonali. Fra i geni più sovra regolati negli IGM/NASH abbiamo trovato: fatty acid binding protein 4, protein kinase AMP-activated alpha 2 catalytic subunit, neuropeptide Y receptor Y6 (pseudogene), CD36 molecule, serpin peptidase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1) member 1. I geni più interessanti fra quelli sovra-espressi negli NGT/SS erano: complement component 1s subcomponent, interleukin 6 signal transducer (gp130), itchy E3 ubiquitin protein ligase homolog, salt-inducibile kinase 1, piruvate dehydrogenase kinase isozyme 4.

Per verificare il ruolo primario di ITCH nella NASH abbiamo sottoposto topi ITCH KO e WT ($n=5$ per gruppo) a dieta steatogenica (con deficit di colina e metionina). I risultati confermano che il deficit di ITCH aumenta lo sviluppo di Steatoepatite, mentre esperimenti con trapianto di midollo osseo suggeriscono che l'effetto non è mediato da linee ematiche.

In nostri dati suggeriscono che la patogenesi dell'infiammazione e della fibrosi epatica nei pazienti obesi insulino resistenti con gradi istologici progressivi di NAFLD sia associata a pathway multipli e in particolare a una deregolazione del metabolismo lipidico.

LPA ED ADMA: NUOVI BIOMARCATORI DI EVENTI E MORTALITÀ CARDIOVASCOLARE

M. Cardellini, M. Ballanti, F. Davato, I. Cardolini, M. Morelli, V. Casagrande, R. Menghini, A. Ippoliti, R. Boger, M. Federici
Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università di Roma Tor Vergata, Policlinico Tor Vergata
E-mail: cardellini@med.uniroma2.it

Le patologie cardiovascolari sono causa di circa il 50% della mortalità nel mondo occidentale e del 30% della mortalità globale secondo le stime della WHO. La localizzazione multipla di patologia aterosclerotica predispone ad un incrementato rischio di eventi cardiovascolari maggiori: va valutato quindi il potenziale evolutivo complessivo della malattia, che indirizzi l'aggressività diagnostica e terapeutica e allerti circa l'esigenza di indagare possibili altre sedi di danno. Al fine di individuare nuovi potenziali biomarcatori e innovativi fattori di rischio abbiamo indagato in una coorte di pazienti affetti da malattia aterosclerotica mono e polidistrettuale (il Tor Vergata Atherosclerosis Atherosclerosis Study) nuovi metaboliti mediante analisi di "targeted metabolomic profiling".

Il Torvergata Atherosclerosis Study è uno studio prospettico che si propone di indagare fattori di rischio, biomarcatori, caratteristiche istologiche e meccanismi fisiopatologici che sottendono alla malattia aterosclerotica. Da gennaio 2007 a Giugno 2014 sono stati arruolati 441 pazienti (324 uomini e 117 donne) che rispondessero ai seguenti criteri di inclusione: donne o uomini di età compresa fra i 40 e gli 85 anni con indicazione ad intervento di rivascolarizzazione arteriosa chirurgica o endovascolare a livello di vasi epiaortici, aorta o vasi di gamba. Dopo l'arruolamento è stato effettuato un follow-up clinico, a cadenza annuale, tramite intervista al paziente o ai familiari in caso di decesso. Il follow-up è stato completato su un totale di 297 pazienti, suddivisi in 219 uomini e 78 donne. Il tempo di follow-up medio è stato di $50,5 \text{ mesi} \pm 27,09$. L'outcome composito era composto da: morte per tutte le cause, mortalità cardiovascolare, eventi cardiovascolari, restenosi, ed insorgenza di patologia tumorale. Nei 297 pazienti sottoposti a follow-up si sono registrati: 46 casi di morte per tutte le cause (15,4% del campione

analizzato), di cui 22 casi di morte cardiovascolare (19M/3F; 7,4%) e 24 casi di morte non cardiovascolare (22M/2F; 8,0%). Eventi cardiovascolari non fatali si sono verificati in 29 soggetti (18M/11F), pari al 9,7% dei soggetti sottoposti a follow-up. Gli eventi non fatali e di origine non cardiovascolare, includevano 8 casi di patologia tumorale (6M/2F) e la mortalità per "altre" cause ha coinvolto un totale di 24 soggetti (22M/2F; 7,4%). Abbiamo quindi analizzato le eventuali differenze esistenti nei soggetti maschili deceduti per cause (MCV, n=19), cause non CVD (n=22), eventi CV (ECV, n=18) e 20 soggetti "controllo" che non avevano riportato nessun evento al follow-up (CT). I 4 gruppi non differivano in termini di BMI, assetto lipidico, glucidico, indici infiammatori, fumo, terapia farmacologica: abbiamo riscontrato solo un significativo incremento dei valori di livelli plasmatici di peptide C nei soggetti MCV (ANOVA $p=0,004$). L'analisi di Metabolomica è stata effettuata su due gruppi CT e MCV. Di 9000 metaboliti indagati, ne sono stati tracciati 773 (pari all'8,5%), e 90 (1%) differivano significativamente tra i due gruppi. In particolare nel gruppo dei MCV 70 metaboliti sono risultati incrementati in modo significativo (0,8%) e 20 (0,2%) sono risultati invece ridotti significativamente rispetto ai CT. In particolare il metabolita Asymmetric DymethylArginine (ADMA) è risultato incrementato in modo significativo nel gruppo con MCV (MCV vs CT, $1,14 p=0,003$) così come l'1-oleoilglicerofosfoglicerolo, molecola glicerofosfolipidica che appartiene ai componenti di LPA (MCV vs CT, $1,89 p=0,002$). I livelli sierici di componenti di LPA e ADMA, in base ai nostri dati, sembrano essere possibili nuovi predittori di eventi e mortalità cardiovascolare.

CIGARETTE SMOKE AND MONOCYTES: A DANGEROUS RELATIONSHIP FOR THE ENDOTHELIUM?

S. Castiglioni, S.S. Barbieri, N. Ferri, A. Villa, A. Corsini, S. Bellosta
 Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,
 Università degli Studi di Milano
 E-mail: stefano.bellosta@unimi.it

Cigarette smoke induces vascular endothelial cell (EC) dysfunctions, a key event in the development of atherosclerosis. Circulating monocytes (HM) participate in the atherogenic process by adhering to a damaged endothelium and migrating into the intima where they differentiate to macrophages and contribute to plaque growth. We recently demonstrated that cigarette smoke condensate (CSC) induces HM to release chemotactic factors, with consequent recruitment and transmigration of inflammatory cells through EC. In order to further evaluate how CSC might affect HM/EC interaction, we analyzed the effect of CSC (30 ug/ml) alone and/or of conditioned medium (CM) from HM previously incubated with (CM/CSC) or without CSC. The incubation with CSC, CM or CM/CSC did not affect EC vitality, as shown by the MTT assay. In contrast, CSC cooperated with TNF α in inducing the expression of matrix metalloproteinase-1 and -9 in EC, but it did not affect the expression of adhesion molecules VCAM-1 and ICAM-1. CSC, CM and CM/CSC reduced HM rolling on TNF α -activated EC assessed by time-lapse video microscopy. Then, we used the iCELLigence System to acquire quantitative information about the biological status of EC, including cell number, adhesion, viability, and morphology. Only the addition of CM/CSC to confluent EC monolayer dramatically modified the pattern of the electric flow, suggesting modifications in EC morphology. Indeed, an altered actin cytoskeleton organization was observed by immunofluorescence studies performed with FITC-conjugated phalloidin. In

particular, CM/CSC caused the shrinking of the EC cytoplasm by about 50% ($p<0,01$ vs CSC or CM). In contrast, EC morphology was not affected by exposure to CM or CSC.

In conclusion, cigarette smoke condensate, at nontoxic concentration, induces HM to secrete some soluble factors able to affect EC morphology, with a consequent negative impact on EC permeability thus facilitating HM transmigration through the EC monolayer.

SERUM URIC ACID AND MARKERS OF LDL-OXIDATION IN NON-SMOKERS HEALTHY SUBJECTS: DATA FROM THE BRISIGHELLA HEART STUDY

A. Cicero, M. Rosticci, M. Cagnati, R. Urso, M. Morbini, E. Grandi, S. D'Addato, C. Borghi
 Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche,
 Università di Bologna
 E-mail: afgcicero@cardionet.it

Introduction. Serum uric acid (SUA), an inexpensive and standardized marker of systemic oxidative stress, has been recently associated to the risk to develop atherosclerosis-related cardiovascular events.

Objective. The main aim of the study was to evaluate the eventual relationship between SUA, oxidized LDLs and LDL susceptibility to oxidation in a sample of non-smoker healthy subjects.

Patients and Methods. We selected from the general database of the Brisighella Heart Study a sample of 354 non-smokers and non-pharmacologically treated adult subjects, in primary prevention for cardiovascular disease, with normal renal function and without known allergic nor rheumatological disease, visited during the 2008 population survey. A full set of clinical and ematochemistry parameters has been evaluated together with oxidative susceptibility of LDL and oxidized LDL dosage level.

Results. In a multivariate analysis, the oxLDL level was directly related to apoB ($B=0,077$, 95% CI 0.015-0.139, $p=0,016$), TG ($B=0,050$, 95% CI 0.032-0.069, $p<0,001$), LDL-C ($B=0,102$, 95% CI 0.052-0.153, $p<0,001$) and SUA ($B=1,106$, 95% CI 0.405-1.807, $p=0,002$). The dienes level was directly related to LDL-C ($B=0,685$, 95% CI 0.347-1.023, $p<0,001$), SUA ($B=2,201$, 95% CI 1.117-5.285, $p<0,001$) and apoB ($B=0,717$, 95% CI 0.404 - 1.031, $p<0,001$) level.

The LDL lag phase was inversely related to apoB ($p=0,001$) and FPG ($p=0,022$). The propagation phase was directly related to age ($p=0,013$) and inversely to TG ($p=0,015$).

Conclusion. In a sample of healthy subjects SUA is significantly associated to ox-LDL and dienes level, but not of LDL lag phase and propagation phase.

TESTING THE SHORT-TERM EFFICACY OF A LIPID-LOWERING NUTRACEUTICAL IN THE SETTING OF CLINICAL PRACTICE: A MULTI-CENTER STUDY

A.F.G. Cicero, G. Derosa, L. Pisciotta, C. Barbagallo
 for the PUFACOL Study Group
 SISA-Lipid clinics net
 E-mail: arrigo.cicero@unibo.it

Aim. The aim of our study is to evaluate the short-term efficacy a combined nutraceutical containing a mix of cholesterol-lowering substances (Dif1stat®) associated to EPA/DHA and natural antiox-

idants in normoweight and over weight patients affected by moderate dyslipidemias in the setting of clinical practice.

Methods. For this preliminary report, we consecutively enrolled 100 subjects (54 normoweight, 46 overweight) with similar level of TC, LDL-C, TG and HDL-C at the baseline ($p > 0,05$ for all). After a period of prudent diet, we treated them with the tested combined nutraceutical for 2 months, evaluating the full lipid pattern, FPG, GOT, GPT, and CPK at the baseline and at the end of the observation period.

Results. The treatment was overall well tolerated without withdrawn nor significant changes in laboratory safety parameters during the observation period. Compared to the baseline, the normoweight group experienced a mean decrease in TC of $32,6 \pm 1,8$ mg/dL, in LDL-C of $29,2 \pm 1,8$ mg/dL, in non-HDL-C of $33,1 \pm 1,6$ mg/dL, and in TG of $19,6 \pm 3,6$ mg/dL (all $p < 0,001$). Overweight patients experienced a mean decrease TC of $33,5 \pm 2,5$ mg/dL, in LDL-C of $31,7 \pm 2,3$ mg/dL, in non-HDL-C of $33,7 \pm 2,5$ mg/dL (all $p < 0,001$), and in TG of $9,7 \pm 3,5$ mg/dL ($p = 0,007$). There was no significant difference in efficacy between groups, beyond a significantly higher TG-lowering effect on normoweight than in overweight subjects.

Conclusion. The tested combined lipid-lowering seems to have nearly equal efficacy in normoweight and overweight subjects. These data wait a confirmation from a more large sample of patients and on a longer follow-up, actually on-going.

EFFETTI A BREVE TERMINE DI UN NUTRACEUTICO COMBINATO SULLA SENSIBILITÀ ALL'INSULINA, SUL PROFILO LIPIDICO E SUGLI INDICI DI STEATOSI EPATICA: UNO STUDIO RANDOMIZZATO IN DOPPIO CIECO CON DISEGNO CROSSOVER

A.F.G. Cicero, M. Rosticci, A. Parini, M. Morbini, R. Urso, E. Grandi, C. Borghi
Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche,
Università di Bologna
E-mail: afgcicero@cardionet.it

Introduzione. I soggetti sovrappeso sono esposti a un aumento del rischio cardiometabolico (1). Questa condizione è potenzialmente reversibile attraverso il miglioramento delle abitudini alimentari e comportamentali (2). Ciononostante, un nutraceutico ben assemblato potrebbe essere uno strumento utile per migliorare i parametri metabolici associati al sovrappeso e all'insulino-resistenza. Lo scopo dello studio era valutare l'effetto di un nutraceutico su soggetti sovrappeso con iperlipidemia mista.

Materiali e Metodi. Si tratta di uno studio randomizzato, in doppio cieco con disegno crossover, così composto: 4 settimane di stabilizzazione dell'alimentazione mediante suggerimenti dietetico-comportamentali, 8 settimane di primo trattamento (nutraceutico o placebo), 2 settimane di wash-out, inversione del gruppo di trattamento e 8 settimane di secondo trattamento. Sono stati arruolati 40 soggetti con alterata glicemia a digiuno e segni distintivi di sindrome metabolica, che sono stati trattati con un nutraceutico a base di Berberina, Tocotrienoli e Acido Clorogenico (Trixy, Nathura s.r.l.). I principali criteri di inclusione erano:

- LDL-C > 130 e < 190 mg/dl
- BMI > 25 e < 30 kg/m²
- TG > 150 e < 400 mg/dl
- Glicemia a digiuno < 125 mg/dl.

Risultati. In entrambi i gruppi si è osservato un significativo miglioramento dei parametri antropometrici e biochimici rispetto al baseline. TC, LDL-C, TG, non-HDL-C, insulina a digiuno, HOMA-IR, GOT ($p < 0,001$) e Lipid Accumulation Product (LAP) ($p = 0,021$) si sono ridotti maggiormente nel gruppo che ha assunto il nutraceutico rispetto al gruppo placebo. In particolare, la riduzione di LDL-C, TG e non-HDL-C nel gruppo attivo è stata rispettivamente di $32,08$ mg/dl, $43,47$ mg/dl e $40,77$ mg/dl. In conclusione, questa combinazione, associata a suggerimenti dietetico-comportamentali, sembra sicura ed efficace nel breve termine su diversi parametri epatici e metabolici, in soggetti sovrappeso con insulino-resistenza.

Bibliografia

1. Bauer UE, Briss PA, Goodman RA, Bowman BA. Lancet. 2014; 384(9937): 45-52.
2. Ebbert JO, Elrashidi MY, Jensen MD. Curr Atheroscler Rep. 2014; 16(10): 445.

MARKED ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN BEHCET SYNDROME PATIENTS, DESPITE A SIMILAR PROFILE OF EARLY MORPHOLOGICAL VASCULAR DAMAGE IN COMPARISON TO CONTROL SUBJECTS

G. Cioni, R. Marcucci, M. Pazzi, G. Emmi, E. Silvestri, M.M. D'Elisio, L. Emmi, D. Prisco, G.F. Gensini, R. Abbate, M. Boddi

Department of Experimental and Clinical Medicine,
University of Florence, Careggi Hospital, Florence
E-mail: gabriele.cioni@unifi.it

Background. Growing evidence was collected that autoimmune diseases are associated to an enhanced atherosclerotic progression, and to a high incidence of cardiovascular events. Aim of our work was to investigate vascular wall function of peripheral arteries in Behcet disease patients. Obtained results were then compared to those collected in patients with acute coronary syndromes (less 1-year previous event) and in healthy control subjects (no cardiovascular events or autoimmune disease).

Material and Methods. 183 patients (controls: 76, ACS: 74, Behcet: 33), enrolled at Careggi Hospital, underwent to physical examination, fasting blood sampling and vascular function assessment of peripheral arteries: in particular, peripheral arterial tonometry (PAT) by EndoPAT (Itamar, Caesarea, Israel), intima media thickness and pulse wave velocity at common carotid (c-IMT, c-PWV) and femoral arteries (f-IMT, f-PWV) by ultrasound technology (Esaote MyLab70), were assessed. The pattern of traditional cardiovascular risk factors (CRFs) was evaluated according to current guidelines (ADA, ATPIII, ESC, ESH, EAS guidelines).

Results. Study population resulted to be homogenous for age (Behcet: 45.5 ± 7.7 ; ACS: 50.3 ± 6.1 ; controls: 49.7 ± 14.6 , $p = 0.3$), and for sex. ACS patients presented the worst cardiovascular profile, in comparison to others, because of a higher number of CRFs: ACS patients 3 ± 1.2 , Behcet patients 1.4 ± 1.2 , controls 1.4 ± 1.3 . Therapies were performed according guidelines for secondary prevention. ACS patients showed a marked atherosclerotic damage, because of higher c- and f-IMT values in comparison to others (ACS patients: c-IMT = 1.9 ± 0.6 mm, f-IMT = 1.7 ± 0.8 mm; Behcet: c-IMT = 1.2 ± 0.8 mm, f-IMT = 1.2 ± 0.7 ; controls: c-IMT = 1.1 ± 0.7 mm, f-IMT = 1.2 ± 0.5); Behcet and controls data did not significantly differ, but both resulted to be significantly lower than data found in controls ($p = 0.01$ and $p = 0.01$, respectively). Vascular compliance was similar in Behcet patients (c-PWV = 8.1 ± 2.6 m/s, f-PWV = 8.2 ± 1.3 m/s) and controls (c-PWV = 7.29 ± 1.4 m/s, f-PWV = 8.1 ± 2.1 m/s);

$p < 0.2$); ACS showed the worst compliance ($c\text{-PWv} = 10.1 \pm 2.4$ m/s, $f\text{-PWv} = 11.3 \pm 1.6$ m/s; $p = 0.001$). Bechet patients showed a significantly lower endothelial function, expressed as natural logarithm of reactive hyperaemia index (LnRHI), (0.44 ± 0.8), compared to controls (0.79 ± 1.7 ; $p < 0.0001$) and these values minimally differed between Bechet and ACS groups (0.42 ± 0.2 , $p = 0.3$). LnRHI and PWv values were significantly correlated with number of CRFs. At univariate and multivariate analyses, presence of SLE and a previous vascular event were significantly associated to endothelial dysfunction ($p = 0.02$ and 0.03 , respectively) and compliance impairment ($p = 0.02$ and 0.03 , respectively).

Conclusions. Our data suggested that Bechet patients did not show a marked atherosclerotic peripheral vascular involvement, similarly to controls and differently to patients at very high CV as ACS. Despite the low cardiovascular risk profile, and the absence of a previous CV event, Bechet group showed a pattern of endothelial dysfunction as that found in patients at very high CV risk profile. These findings could contribute to improve the early detection of the systemic vascular damage in Bechet patients and we hope they could contribute to the optimization of primary CV prevention in this high risk subgroup of patients.

CORONARY ARTERY DISEASE IN A YOUNG PATIENT WITH COMPOUND HETEROZYGOTES FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA AND LDL RECEPTOR MUTATIONS

M.G. Coppola¹, M. Nunziata¹, M. Gentile¹, V. Di Donna¹, A. Strazzullo¹, M.F. Coppola¹, F. Jossa¹, G. Marotta¹, M.N. D'Agostino^{2,3}, A. D'Angelo^{2,3}, G. Fortunato^{2,3}, P. Rubba¹

¹Dipartimento Medicina Clinica e Chirurgia, Università Federico II, Napoli;

²CEINGE S.C.a.r.l. Biotecnologie Avanzate, Napoli;

³Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli

E-mail: gabry.cop@libero.it

Case report. A 29 years old man with a history of familial hypercholesterolemia (FH), no smoking, with mild effort angina and dyspnea was admitted to the hospital. Electrocardiogram showed ST-segment depression in inferior leads. The patient was admitted to Cardiac Intensive Care Unit and underwent a coronary arteriography with implantation of a stent on right coronary artery. Trans-thoracic echocardiography showed left ventricular inferior wall hypokinesia, ejection fraction of 50%, aortic valve sclerosis, mitral annular calcification and mild mitral insufficiency. Echo color Doppler of carotid vessels: 30% stenosis of right internal carotid artery. Blood examination: Total-Cholesterol 350 mg/dl, HDL-Cholesterol 42 mg/dl, Triglycerides 105 mg/dl, LDL-Cholesterol 287 mg/dl in therapy with rosuvastatin 20 mg. A genetic analysis was carried out for the detection of LDL-receptor (LDLR) mutation, and two mutations were identified (C.367T>C p.Ser123 tro, and C.1478-1479 del CT, $p < \text{ser } 493 < \text{cys fs}^*52$). The functional assay was performed on LDL-receptor, indicating a residual activity of 32%. The patient started therapy with rosuvastatin 40 mg and plasma exchange therapy.

Discussion. Compound Heterozygotes FH are characterized by a marked elevation of LDL-CH, xanthomas, arcus cornealis, and premature coronary disease and are clinically undistinguishable from homozygous FH. If untreated, death from myocardial infarction or sudden cardiac death is expected to occur by the end of the third decade of life. Clinical expression of FH heterozygotes is highly variable. Studies conducted in the rare patients with homozygous

FH have shown that different types of mutations result in residual functional LDL-R activity that varies from 2% to 30%. An early genotypic identification and functional assays could be useful to identify high risk mutation, to stratify the cardiovascular risk and to introduce early appropriate therapeutic regime for each patient.

LO SCREENING DELL'IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE NELL'AMBULATORIO DEL MEDICO DI MEDICINA GENERALE

M. Coronelli, M. Framarin, G. Plicato, M.G. Brunero, M. Arnese, F. Di Matteo

Università di Pavia, Asl 312 Pavia, Asl Aosta

E-mail: maurizio.coronelli@fastwebnet.it

Introduzione. A causa dell'esposizione, fin dalla nascita, ad elevati livelli di LDL, l'ipercolesterolemia familiare (FH) è una delle cause genetiche di malattia coronarica precoce (CHD). Se non trattati, i soggetti con FH eterozigote con livelli di colesterolo di 8-15 mmol/l sviluppano CHD prima dei 55 anni gli uomini e prima dei 60 anni le donne. Un adeguato trattamento, invece, porta ad una sopravvivenza libera da CHD simile a quella della popolazione generale. La diagnosi precoce è, quindi, fondamentale, soprattutto se si pensa che in Italia, così come nella stragrande maggioranza dei paesi del mondo, solo l'1% di questi casi è diagnosticato.

Scopo. Il nostro studio si propone di individuare i portatori di FH tra i pazienti ipercolesterolemici afferenti alle medicine di gruppo di Bereguardo, Marcignago, Trovo, Trivolzio e Battuda (PV) e Cogne, Villeneuve, Arvier e Introd (AO) al fine di mettere in atto il più adeguato schema terapeutico dell'ipercolesterolemia e di prevenzione della CHD per il paziente stesso, nonché di diagnosticare e trattare precocemente i familiari affetti. La predisposizione genetica, infatti, può risultare determinante nello sviluppo dell'ipercolesterolemia anche in assenza dei classici fattori di rischio ed in presenza di uno stile di vita corretto.

Materiali e Metodi. Vengono inseriti nello studio tutti i pazienti ipercolesterolemici presenti nei data based delle 2 medicine di gruppo. Attraverso il DUTCH test si valuta lo score sulla base della storia familiare e della storia clinica del paziente, della presenza o meno dei segni clinici indicativi di ipercolesterolemia familiare, nonché dei livelli di LDL-C all'esame biochimico. Analizzati tutti questi dati i pazienti con diagnosi possibile o probabile di FH verranno sottoposti ad analisi genetica per la ricerca di eventuale mutazione genica causativa di FH. Al fine di valutare meglio il rischio cardiovascolare di questi pazienti provvediamo, anche, al dosaggio di Lipoproteina(a), apolipoproteina A1 e apolipoproteina B.

Risultati. Quello che ci aspettiamo di ottenere sono dati di positività all'analisi genetica che collimino con la prevalenza teorica di FH in modo da poter meglio e il più rapidamente possibile trattare i nostri pazienti.

Conclusioni. L'ipercolesterolemia familiare è ancora fortemente sottodiagnosticata nel nostro Paese. In questo quadro il medico di medicina generale ha un ruolo fondamentale potendo, meglio di altri, sospettare condizioni di familiarità per l'FH e potendo porre in atto campagne di screening per la diagnosi precoce di questa malattia e prevenire, così, le complicanze cardiovascolari.

Lo studio ci permetterà, anche, di valutare meglio l'esistenza o meno di fattori diversi, nell'ambito della dislipidemia, tra abitanti della pianura padana e valligiani della Valle d'Aosta.

ATEROSCLEROSI E RISCHIO CARDIOVASCOLARE: VALUTAZIONE DEI PAZIENTI NELL'AMBULATORIO DEL MEDICO DI MEDICINA GENERALE

M. Coronelli, M. Framarin, I. Coronelli
Università di Pavia-Asl 312 Pavia, Asl Aosta
E-mail: maurizio.coronelli@fastwebnet.it

Introduzione. La medicina è un campo in continuo divenire. Oggi il medico ha competenze sempre più specialistiche; si occupa di specifiche patologie, restringendo il campo delle sue conoscenze; perde di vista il paziente nella sua interezza psicofisica e lo considera come un organo malato circondato da altri organi di cui spesso si disinteressa. L'unica figura medica che riesce a sfuggire a questo triste destino è il medico di medicina generale.

Ogni giorno si trova ad affrontare e risolvere svariate problematiche che spaziano in tutti i campi della medicina. Il dover dare risposta e conforto a ogni assistito lo pone di fronte ad un annoso problema: tentare di risolvere il quesito proposto o appoggiare il suo paziente ad uno specialista? Nel primo caso vi è il rischio di non curare al meglio il paziente, nel secondo vi è il rischio di ricoprire solo una carica burocratica con la sola funzione di smistare i pazienti.

Per il medico di medicina generale conoscere tutta la medicina è impossibile; quello che è suo dover fare è orientarsi al meglio ogni volta che un quesito clinico gli venga proposto. Come medici di medicina generale ci dobbiamo sforzare a mantenere le nostre caratteristiche che hanno fatto di noi quasi un simbolo e a riprenderci la nostra dignità; dobbiamo continuare ad essere abili nel raccogliere le anamnesi e a fare gli esami obiettivi, a capire il paziente nel contesto della sua famiglia e della comunità, riuscire a fondere questi aspetti nel momento della diagnosi e delle decisioni terapeutiche.

Scopo. Aterosclerosi-dislipidemia e rischio cardiovascolare sono, oggi, due importantissimi capitoli con cui il medico di medicina generale si deve confrontare. Nella nostra realtà territoriale, la Medicina di Gruppo comprendente i comuni di Bereguardo, Trivolzio, Trovo, Marcignago e Battuda (PV) con in carico circa cinquemila pazienti, ci siamo posti il problema di come affrontare al meglio queste due grandi patologie che a loro volta hanno importantissimi risvolti sia dal punto di vista socio-sanitario che dal punto di vista anche economico.

Materiali e Metodi. Abbiamo creato un ambulatorio dedicato, al di fuori del nostro normale orario di ambulatorio, che due volte la settimana si fa carico della gestione di questi pazienti. Collaborano con noi, in questo ambulatorio dedicato, una psicologa (importantissima per il counselling e per l'aspetto cognitivo-comportamentale, soprattutto per quanto riguarda la scrupolosa osservanza della dieta e dell'esercizio fisico, due aspetti molto importanti per questi pazienti) e una dietologa (per i consigli alimentari e per le diete che questi pazienti devono seguire). In tutti i pazienti utilizziamo il Framingham score risk e le carte del rischio europee della EAS. Sottoponiamo i pazienti all'Ankle-Brachial Index e ad esami ematochimici comprendenti la PCR ad alta sensibilità, il dosaggio del T-Colesterolo, HDL-Colesterolo, LDL-Colesterolo, Trigliceris, Apolipoproteina A e Apolipoproteina B, Lipoproteina(a), Glicemia, Creatinina e dosaggio del GFR, Fibrinogeno, Omocisteina. Particolare attenzione rivolgiamo ai pazienti con diabete mellito, ipertensione arteriosa, sovrappeso ed obesità al fine di evitare l'insorgere della sindrome metabolica.

I pazienti che abusano di alcool e che hanno stress emotivo vengono valutati e seguiti dalla psicologa.

Elettrocardiogramma, Ecocolordoppler cardiaco e Ecocolordop-

pler dei trochi sovra-aortici con misurazione dello spessore dell'intima-media carotidea, vengono svolti al momento della prima visita. L'apporto dei colleghi specialisti viene richiesto in casi di particolare complessità. Tutte le visite, gli esami ematochimici, gli esami strumentali e i consulti con gli specialisti, vengono svolti nei nostri ambulatori in modo da evitare i disagi di prenotazione ecc. ai nostri pazienti.

Risultati. Questo Disease Management della patologia aterosclerotica e dell'aumentato rischio cardiovascolare, è iniziato, nella nostra medicina di gruppo, nei primi mesi del corrente anno. È ancora troppo presto per poter trarre delle conclusioni ma quello che possiamo, sin da ora, affermare, è la totale adesione da parte dei nostri pazienti a questo progetto. e la possibilità, da parte di noi medici, di seguire meglio i nostri assistiti. Questo ci dà la possibilità, anche, di poter individuare e trattare precocemente problemi che altrimenti potrebbero essere riconosciuti tardivamente ed essere sottovalutati.

Conclusioni. Riteniamo che il medico di medicina generale debba riappropriarsi del proprio ruolo di essere medico. La sua figura, importantissima, per la prevenzione, la cura e il controllo della cronicità dei suoi pazienti, con questo modo di operare, viene nuovamente messa in risalto e ci permette meglio di integrare l'uso dell'evidenza con il bilanciamento del giudizio clinico e della preferenza del paziente. Seguire questo percorso può essere la via per meglio curare evitando o riducendo i rischi di incorrere in problematiche ben più gravi ma, soprattutto, evitiamo di trovarci di fronte ad un paziente usato come pallina da ping-pong tra i vari specialisti.

PERCORSO DIAGNOSTICO TERAPEUTICO ASSISTENZIALE PER LA GESTIONE DEL BAMBINO CON ALTERAZIONI DEL METABOLISMO LIPIDICO

S. D'Addato, S. Palmisano, M. Taglioni, M. Guarino,
A.F.G. Cicero, C. Borghi

Unibo

E-mail: silvia.palmisano2@studio.unibo.it

Le dislipidemie familiari sono malattie su base genetica a carattere autosomico caratterizzate da elevati livelli di alcune frazioni lipidiche del sangue e da una grave e precoce insorgenza di malattia coronarica. Colpiscono i bambini dalla nascita e si stima abbiano una frequenza da 1/200 a 3-5/1000.

Per questi pazienti, risulta di fondamentale importanza il raggiungimento di una diagnosi precoce, in modo da poter istituire trattamenti preventivi efficaci e sorvegliare nel tempo le complicanze e le problematiche cardiovascolari che dovessero insorgere.

Per questo motivo, al Policlinico Sant'Orsola-Malpighi di Bologna è stato messo a punto un percorso diagnostico terapeutico assistenziale (PDTA) dedicato ai bambini con dislipidemie familiari, che ha l'obiettivo di individuare precocemente i soggetti affetti e garantire l'avvio di un iter adatto alla gestione e al monitoraggio a lungo termine della patologia.

Sono inclusi nel percorso tutti i bambini con età compresa tra i 2 ed i 18 anni nei quali vi sia un sospetto di iperlipemia familiare. Il sospetto diagnostico, ed il relativo indirizzamento all'interno del percorso, viene posto da parte di qualsiasi specialista del Policlinico, con particolare riferimento a Pediatri, Cardiologi, Endocrinologi, Dermatologi, Oculisti, Radiologi.

Dopo una prima fase sperimentale interna al Sant'Orsola, l'intento è quello di coinvolgere anche figure professionali esterne come i pediatri di libera scelta e gli altri specialisti del territorio.

Lo specialista potrà inviare il piccolo paziente all'attenzione del

Centro Dislipidemie, dove avverrà una prima fase diagnostica, che si avvarrà di indagini clinico-laboratoristiche, strumentali ed, eventualmente, genetiche.

I soggetti con diagnosi confermata, verranno quindi inseriti in una successiva fase terapeutica, che comprenderà il counselling alle famiglie e l'impostazione degli interventi - farmacologici e non - più adatti per ogni soggetto.

L'ultima fase sarà quella di follow-up, in cui verrà programmata la periodica rivalutazione clinico-laboratoristica e strumentale dei pazienti, garantendo così un'adeguata gestione della patologia a lungo termine.

FATTORI DI RISCHIO CARDIOVASCOLARE E PROFILO LIPIDICO IN 321 SOGGETTI <65 ANNI CON SINDROME CORONARICA ACUTA

G. De Iaco¹, V. Guiducci¹, A. Manari¹, M. Foracchia², L. Vecchia³, T. Fasano³

¹Unità di Cardiologia Interventistica;

²Servizio di Tecnologie Informatiche e Telematiche,

Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e di Endocrinologia;

³ASMN IRCCS Reggio Emilia

E-mail: tommaso.fasano@asmn.re.it

Introduzione. La valutazione dei fattori di rischio cardiovascolare rappresenta il metodo comunemente utilizzato per identificare individui a rischio di malattia cardiovascolare (CVD) e per impostare una prevenzione secondaria.

Una storia familiare positiva per malattia coronarica acuta rappresenta un fattore di rischio indipendente e non modificabile; può essere però usata per identificare soggetti da sottoporre a misure di prevenzione cardiovascolare. Lo screening dei fattori di rischio nei parenti di primo grado dei pazienti con coronaropatia prematura è una strategia consigliata per la prevenzione della malattia coronarica.

Materiali e Metodi. 321 soggetti con sindrome coronarica acuta in età inferiore ai 65 anni sono stati sottoposti a coronarografia nel corso del 2013. Il repository informatico provinciale è stato interrogato per la ricerca dei valori lipidici (colesterolo totale, LDL, HDL, trigliceridi) dei soggetti. Sono state estratte le determinazioni effettuate nel corso dello stesso anno e assegnati ai soggetti i valori lipidici temporalmente più prossimi alla data della procedura interventistica.

Risultati. I 321 soggetti considerati sono composti da 249 uomini (77.6%) e 72 donne (22.4%) con età media pari a 55.2 anni. Considerando i comuni fattori di rischio, la popolazione presenta un 64% di fumatori/ex-fumatori, 54% dei soggetti con dislipidemia, 46% di ipertesi, 16% di diabetici. L'anamnesi familiare risulta positiva per CVD nel 33.3% dei casi. I soggetti con Trigliceridi ≥ 200 mg/dl sono pari al 17%, LDL-C ≥ 160 mg/dl pari al 19% e HDL < 40 mg/dl pari al 38%.

Discussione. Tra i pazienti considerati il fattore di rischio più frequente è rappresentato dal fumo di sigaretta seguito da dislipidemia, ipertensione e diabete. La dislipidemia singola più frequente è rappresentata da basse HDL (< 40 mg/dl) presenti nel 38% dei soggetti. Applicando il Dutch Score per la diagnosi di ipercolesterolemia familiare (FH), 41 soggetti risultano possibili/probabili FH e sono da considerare casi indice per la ricerca dell'ipercolesterolemia nella famiglia.

AEROBIC TRAINING WITH LIMBS INTERMITTENT ISCHEMIA IMPROVES MYOCARDIAL FUNCTION AND WALL STRETCH IN PATIENTS WITH CLAUDICATION

S. De Marchi, A. Rigoni, M. Prior, F. Rulfo, E. Arosio
U.O.C. di Riabilitazione Vascolare, Department of Medicine,
University of Verona
E-mail: sergio.demarchi@univr.it

Background. Peripheral arterial disease (PAD) is a chronic disease determining functional impairment and increased risk of cardiovascular events. Physical training improves cardiac performance and reduces NTproBNP concentration, marker of risk of cardiovascular events, in cardiac patients.

Aim: we aimed to examine the effects training conducted till ischemic pain at the leg of PAD patients on myocardial function and peripheral flux.

Methods. We enrolled 22 patients affected by peripheral arterial disease without cardiac disease. All patients undergone a physical training of 15 days, with treadmill test at the begin and at the end of training.

Results. At the end of training patients increased walking distance (450 ± 180 m vs 250 ± 108 m; $p < 0.05$). We documented at rest, at the end of physical training, an increase in flow volume of common femoral artery of the symptomatic leg ($2,55 \pm 2,13$ L/min vs $1,86 \pm 1,30$ L/min; $p < 0.05$); NTproBNP concentration at rest was lower at the end of training (210 ± 130 pg/mL vs 188 ± 108 pg/mL; $p < 0.005$), an increase of NTproBNP concentration after maximal exercise on treadmill before treatment, with a reduced increase at the end of training period (24 ± 21 vs 12 ± 10 pg/mL; $p < 0.0005$); a reduction of end-diastolic diameter of left ventricle at rest (48 ± 4 mm vs 50 ± 5 mm; $p < 0.05$). The ejection fraction did not changed, while heart rate reduced after training (66 ± 9 bpm vs 71 ± 12 bpm; $p < 0.05$).

Conclusions. this study documented an improvement of hemodynamic and cardiac performance in response of physical training in peripheral arterial disease patients not affected by cardiac disease. Further trials will be necessary to evaluate the use of NTproBNP as a marker of good response to physical training in these patients.

SUPERVISED INTENSIVE TRAINING IMPROVES OXIDATIVE DEFENSIVE PATHWAYS AND REDUCES INFLAMMATION IN PERIPHERAL ARTERY DISEASE

S. De Marchi, U. Garbin¹, A. Rigoni, E. Solani¹, C. Stranieri¹, A. Pasini¹, A. Tinelli¹, M. Prior, E. Arosio
Department of Medicine, Section of Riabilitazione Vascolare,
¹Section of Medicina Interna D, University of Verona
E-mail: sergio.demarchi@univr.it

Background. Recent evidences suggest that exercise training may ameliorate oxidative stress in patients with peripheral arterial disease (PAD) and reduce inflammation. Few data are available on mechanisms involved. Nuclear related factor 2 (Nrf2), regulates the expression of antioxidant enzymes and proteins through the antioxidant response; Nrf2 is also involved in protection against oxidant stress during the processes of ischemia-reperfusion injury. Also monocytes (CD16+) are recognized as an important actor in atherosclerosis.

Aim. To evaluate in PAD the effects of controlled exercise training on oxidative stress, Nrf2 gene expression and monocyte subsets.

Methods. 24 patients, with PAD at Fontaine stage II, underwent a 3-weeks (5 days per week) period of supervised training with treadmill walking conducted until pain onset with subsequent rest and walking again for total 40 minutes of exercise. At beginning (D0) and at the end of the program (D21) were evaluated: pain-free walking time (PFWT), maximal walking time (MWT), monocyte subsets by flow cytometry, malondialdehyde (MDA), as marker of oxidative stress, total RNA (extracted from PBMCs to evaluate Nrf2 expression by RT-PCR).

Results. The 3-week training significantly increased PFWT and MWT ($p=0.001$); plasma levels of MDA decreased ($p=0.002$), levels of mRNA Nrf2 increased after the exercise program ($p=0.004$); finally, the percentage of inflammatory monocytes decreased, and conversely classical monocytes increased.

Conclusions. Our study shows that training in PAD patients improves walking time, furthermore it reduces oxidative stress (decrease of MDA) and increases anti-oxidative defensive system enhancing Nrf2-gene expression. The training elicited multiple episodes of ischemia-reperfusion every day and, since Nrf2 is involved in protecting from ischemia-reperfusion injury we can infer that somehow we "trained" also Nrf2 system. The shift of monocytes subtype from an inflammatory to a classic subtype suggests a deep change in inflammation profile of these patients with training.

PERCORSI DI RICONOSCIMENTO E GESTIONE INFORMATIZZATA DEI FATTORI DI RISCHIO DELL'ATEROSCLEROSI IN UN POLICLINICO UNIVERSITARIO

T. De Pascale², F. Rubba¹, G. Toscano⁴, D. Schiavone¹, N. Grimaldi², F. Iannucci², M. Pacilio³, M. La Pegna³, G. D'Onofrio¹, M. Triassi²

¹Direzione Sanitaria AOU Federico II di Napoli; ²Dip. di Sanità Pubblica, Università degli Studi di Napoli Federico II; ³Dip. Scienze Matematiche Fisiche e Naturali, Università Federico II; ⁴Servizio Informativo Aziendale S.I.A. AOU Federico II di Napoli
E-mail: fabiana.rubba@unina.it

Introduzione. L'informatizzazione dei sistemi di soccorso è gestita in reti regionali Hub e Spoke, ma non risultano allo stato esperienze di gestione informatizzata del livello di rischio nel contesto di un policlinico universitario. L'Università Federico II di Napoli non ha un Pronto Soccorso strutturato, tuttavia l'esigenza di rispondere alle emergenze occorrenti, ha portato alla costruzione di un sistema di emergenza e primo soccorso "On demand" La fattibilità di questa ipotesi è stata verificata attraverso la misura della tipologia e del peso degli incidenti in linea con la creazione di un flusso di valore secondo il Lean System e il modello Toyota ossia, attraverso la costruzione di step decisionali basati su ragionamenti rapidi ed economici, capaci di creare valore aggiunto (knowledge creating companies). Liste decisionali semplici e rapide infatti, sono imprescindibili in contesti quale quello del Primo soccorso.

Materiali e Metodi. Sono stati analizzati gli accessi alla "Astanteria virtuale" rappresentata dall'operativo Pronto Soccorso web (PS WEB) personalizzato per la gestione dei "primi soccorsi" attraverso l'analisi dei dati di survey e valendosi delle integrazioni aziendali di percorso (link alle accettazioni dei reparti per le funzioni di ricovero e ORDER Entry per le funzioni di richiesta di analisi di laboratorio informatizzate) ed è stato costituito un database. Sono stati altresì analizzati i ricoveri che entrano nel "sistema emergenza aziendale

per trasferimento secondario da altri Pronto soccorsi con la finalità di quantificare l'impatto del rischio aterosclerosi in questi accessi.

Risultati e Conclusioni. In un triennio di sorveglianza i risultati hanno messo in luce una media di 10 soccorsi mensili. Le cause più frequenti di soccorso sono state: Sincope (44%), dolore toracico (22%), cadute con lesioni osteo muscolari (25%). Nel bimestre di attivazione del sistema informatizzato il sistema di primo soccorso on demand si è mostrato coerente con la struttura organizzativa e l'eterogeneità di un policlinico universitario; su 17 primi soccorsi 5 sono chiaramente riconducibili a sindromi in cui la sindrome di ingresso (dolore precordiale, sincope, dispnea) e la diagnosi di uscita (lipotimia, angina instabile, insufficienza respiratoria) segnala quale opportuna la valutazione dei fattori di rischio dell'aterosclerosi. Dei trasferimenti secondari alle strutture aziendali, in un bimestre di analisi 20 su 86 trasferimenti sono stati indirizzati a strutture cardiologiche e hanno implicato la valutazione e riconoscimento dei fattori di rischio. L'informatizzazione operativa prevede altresì la possibilità di valutazioni diagnostiche di laboratorio e strumentali che vengono agganciate all'episodio di cura del pz. La gestione integrata di "episodi acuti", grazie alla standardizzazione delle procedure del sistema informatico fornisce una serie di dati particolarmente informativi e il riconoscimento di condizioni di rischio che vengono opportunamente indirizzate agli idonei livelli di cura. Pertanto la stabilizzazione del "caso acuto" acquisisce un valore aggiunto, nel rappresentare una occasione di assessment del rischio e di conseguenza, della terapia e dello stile di vita, con impatto sulla prognosi futura.

IMPACT OF DIFFERENT DIETARY TREATMENTS ON THE MOLECULAR LIPID PROFILE OF AORTIC PLAQUES IN APOLIPOPROTEIN E-NULL MICE: AN EXAMPLE OF LIPIDOMICS POTENTIAL FOR TRANSLATIONAL MEDICINE

F. Dellerà¹, M. Busnelli¹, S. Manzini¹, G.S. Ganzetti¹, M. Jänis², K. Tarasov², R. Hurme², K. Ekroos², R. Laaksonen², C. Parolini¹, G. Chiesa¹

¹Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Università degli Studi di Milano; ²Zora Biosciences Oy, Espoo, Finland

E-mail: dellera.federica@gmail.com

Background. Recent advances in mass spectrometry have enabled the simultaneous high-throughput identification and quantification of hundreds of molecular lipid species in a number of lipid classes that make up the organism's lipidome. Lipidomic approaches are particularly relevant for application in diseases such as atherosclerosis. In the onset of this pathological status, a still open question is if, and to which extent, dietary or drug treatments can affect the plaque lipidome. Aim of the present study was to evaluate the lipidomics of apolipoprotein E-null (apoE^{-/-}) mouse plaques after 12 weeks of dietary treatments differing for lipid and cholesterol content. Furthermore, the lipidomics results were compared to those obtained in human plaques.

Methods. 36 apoE^{-/-} mice were fed Chow (11% fat, no cholesterol), Western (21% fat, 0.2% cholesterol), or Paigen diet (16% fat, 1.25% cholesterol, 0.5% Sodium cholate) for 12 weeks. At sacrifice, atherosclerotic plaques developed at aortic arch, thoracic aorta and abdominal aorta were quantified by en-face analysis. The same aortic segments underwent lipid extraction for lipidomics analyses. In parallel, the molecular lipid profile of 9 human atheroscle-

rotic plaques from patients who underwent aortofemoral bypass was evaluated. Specifically, the lipid extracts were analyzed on a hybrid triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometer.

Results. As expected, the extent of atherosclerotic plaques was significantly higher in the aortas of Paigen and Western fed mice compared to that of Chow-fed mice (aortic arch: Paigen $56.3 \pm 13.8\%$, Western $29.8 \pm 9.8\%$, Chow $8.2 \pm 4.7\%$; $p < 0.05$).

Twenty-one lipid classes were analyzed by lipidomics, for a total of more than 380 analytes. The results obtained for two lipid classes, cholesteryl esters (CE) and ceramides (Cer) are discussed below. Dietary cholesterol was proportional to CE concentrations within the plaques, but plaque size was not always proportional to the cholesterol dietary intake. CE percent composition within the plaques was generally reflecting the fatty acid dietary intake.

Cer concentrations moderately increased with plaque size increase (i.e. going from Chow to Western, to Paigen diet). However, interestingly, Cer percent composition was very similar among the three groups. Finally, comparison between mouse and human plaque lipidomics data showed that CE accumulation in human plaques was similar to that found in Paigen-fed plaques, whereas the CE percent composition appeared to be closer to that of Chow-fed mice. Cer distribution in human atherosclerotic lesions, with the exception of Cer (18:1/24:0), was very similar to that of mouse plaques.

Conclusions. Dietary fatty acid and cholesterol content strongly affect CE accumulation and composition within mouse plaques. On the contrary, plaque Cer are not strongly affected by different fatty acid dietary intakes, suggesting that a strict regulation of Cer biosynthesis overcomes differences among diets. Considering CE/Cer concentrations and percent distributions within plaques, the apoE^{-/-} plaques more resembling human atherosclerotic lesions appear to be those from Chow-fed animals. The present study suggests that the apoE^{-/-} mouse on chow diet can be considered a powerful experimental model for studies focusing on plaque lipidomics.

NOVEL BIOISOSTERS OF FLAVONOIDS, BEARING A PYRIDO[1,2-A]PYRIMIDIN-4-ONE HETEROCYCLIC CORE, REDUCE PLATELET ACTIVATION AND AGGREGATION

S. Del Turco¹, S. Sartini³, G. Cigni¹, C. Sentieri¹, S. Sbrana¹, D. Battaglia², A. Papa², F. Da Settimo³, C. La Motta³, G. Basta¹

¹CNR Institute of Clinical Physiology;

²Fondazione Monasterio, CNR-Regione Toscana, Pisa;

³Department of Pharmacy, University of Pisa

E-mail: lapina@ifc.cnr.it

Objective. We investigated whether novel bioisosters of flavonoids (suitably substituted of 2-phenyl-4H-pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-ones, 1-4, and 2,3-diphenyl-4H-pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-ones, 5-7) modulated platelet activation and aggregation.

Methods. Platelet aggregation was explored through a spectrophotometric assay on platelet-rich plasma (PRP) treated with the thromboxane A₂ (TXA₂) mimetic U46619, collagen and thrombin in presence/absence of various bioisosters of flavonoids (12.5-25-50-100 μM). By the ADVIA[®] 2120 Hematology System was measured the platelet density (mean platelet component, MPC), as marker surrogate of platelet activation. The induced P-selectin expression, which reflects platelet degranulation/activation, was quantified by flow cytometry on PRP.

Results. All tested compounds inhibited platelet aggregation induced by U46619 and collagen, showing a greater degree of efficacy

than two known flavonoids quercetin and apigenin, but were ineffective against thrombin-induced aggregation. The compound 6 inhibited both MPC and P-selectin expression induced by U46619, in a concentration-dependent manner.

Conclusion. Our tested compounds, especially the compound 6, modulated significantly both platelet activation and aggregation. Although developed as synthetic analogues of flavonoids, our derivatives turned out to be more effective than the reference quercetin and apigenin when tested at a concentration fully consistent with their use in vivo. This property may be attributed to their ability to bind to the receptor of platelet TXA₂.

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

G. Derosa^{1,2}, L. Bianchi¹, D. Roman¹, A. D'Angelo¹, P. Maffioli¹

¹Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica,

Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS

Policlinico S. Matteo, Pavia; ²Centro di Studio e Ricerche

di Fisiopatologia e Clinica Endocrino-Metabolica,

Università di Pavia

E-mail: giuseppe.derosa@unipv.it

Scopo. Valutare l'efficacia di Berberis aristata/Silybum marianum come agente ipocolesterolemizzante in pazienti dislipidemici intolleranti alle statine ad alti dosaggi.

Materiali e Metodi. Sono stati arruolati 137 soggetti, i pazienti sono stati considerati eleggibili per l'inclusione se intolleranti alle statine ad alti dosaggi. Durante il periodo di run-in, i pazienti sono stati sottoposti ad un mese di wash-out durante il quale le statine sono state sospese. Dopo un mese, se i parametri di sicurezza erano rientrati nella norma, le statine sono state reintrodotte ad un dosaggio dimezzato rispetto a quello precedentemente assunto. Dopo un mese dalla reintroduzione delle statine, i pazienti che non avevano avuto eventi avversi sono stati randomizzati ad assumere placebo o Berberis aristata/Silybum marianum 588/105 mg/die, 1 compressa a pranzo e 1 compressa a cena, per sei mesi. Sono stati valutati alla randomizzazione, a 3 e a 6 mesi, i parametri antropometrici e metabolici.

Risultati. Non abbiamo registrato alcuna variazione significativa del peso o delle circonferenze in nessuno dei due gruppi. Abbiamo osservato una riduzione della glicemia a digiuno, dell'insulinemia e dei livelli dell'indice HOMA dopo l'introduzione di Berberis aristata/Silybum marianum. Inoltre, glicemia, insulinemia e HOMA-IR ottenuti con Berberis aristata/Silybum marianum sono risultati più bassi rispetto a placebo.

Il colesterolo totale e LDL e i trigliceridi non sono variati dopo 6 mesi dalla riduzione del dosaggio della statina e l'introduzione di Berberis aristata/Silybum marianum, mentre sono aumentati nel gruppo trattato con placebo. Il colesterolo totale, LDL e i trigliceridi sono risultati significativamente più alti con placebo rispetto a quelli ottenuti con Berberis aristata/Silybum marianum. Non abbiamo osservato alcun peggioramento dei parametri di sicurezza durante lo studio.

Conclusioni. Il nostro studio mostra l'efficacia e la sicurezza di Berberis aristata/Silybum marianum e un dosaggio ridotto di statine per il trattamento della dislipidemia in pazienti intolleranti alle statine ad alto dosaggio.

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

A. Dhyani¹, G. Tibolla^{1,2}, A. Baragetti³, K. Garlaschelli³, L. Grigore³, G.D. Norata^{1,3}, A.L. Catapano^{1,2}

¹Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan; ²I.R.C.C.S MultiMedica, Milan;

³SISA center for the study of atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello Balsamo, Milan
E-mail: ashishdhyani2010@gmail.com

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

Methods. 1384 subjects enrolled in the PLIC study were genotyped for the IDOL rs9370867 SNP by Q-PCR allelic discrimination. The associations with anthropometric and lipid parameters and the cIMT were analysed.

Results. GG, AG, AA genotypes frequencies were 23.7%, 48.6% and 27.7% respectively. No associations of the IDOL rs9370867 genotypes with lipid profile and cIMT were detected, except for modestly increased HDL and triglycerides levels in the GG group as compared to AA subjects (57.9±15.4 mg/dL vs 55.24±13.8 mg/dL p=0.046 and 107.6±63.6 mg/dL vs 97±51.3 mg/dL p=0.05 for HDL and triglycerides respectively). Analyses including subjects upper the 75th percentile of total cholesterol and triglycerides levels showed similar results but the associations with HDL and triglycerides were lost.

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

VARIABILITÀ FENOTIPICA NELLA IPOBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIARE OMOZIGOTE.

E. Di Leo, L. Magnolo, M.L. Simone, P. Tarugi
Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena
E-mail: enzadileo76@libero.it

Introduzione. L'ipobetalipoproteinemia familiare omozigote (Ho-FHBL) è un raro disordine monogenico caratterizzato da livelli plasmatici estremamente bassi di LDL-C e apolipoproteina B (apoB). La maggior parte dei soggetti con Ho-FHBL presenta mutazioni del gene APOB che portano alla formazione di apoB troncate. Alcuni di essi sono asintomatici o paucisintomatici, mentre altri presentano steatosi, grave malassorbimento intestinale di lipidi, ritardo di crescita e talvolta manifestazioni neurologiche.

Scopo. Diagnosi genetico-molecolare in due bambini (HBL-96 e HBL-201) con ipobetalipoproteinemia severa negativi per mutazioni del gene MTTP.

Metodi e Risultati. Il probando HBL-96 è un bambino di 4 anni, nato da genitori consanguinei, che presentava livelli marcatamente ridotti di CT (27 mg/dl), LDL-C (5 mg/dl), apoB (non misurabile) e vit E (2.8 µmol/L), aumento delle transaminasi, acantocitosi, diarrea cronica e ritardo nella crescita.

Il sequenziamento del gene APOB ha rivelato la presenza in omozigosi di una mutazione nonsense (Gln514X) nell'esone 13, causa della formazione di una proteina apoB troncata di soli 513 aminoacidi (denominata apoB-11.30) che non consente la formazione di chilomicroni nell'intestino. Il probando HBL-201 è un bambino di 12 anni, figlio di consanguinei, giunto all'attenzione clinica per un lieve aumento delle transaminasi. Egli presentava bassi livelli di CT (71 mg/dl), LDL-C (10 mg/dl) e apoB (22 mg/dl) ed una modesta epatosteatosi.

L'analisi del gene APOB ha evidenziato la presenza in omozigosi di un'inserzione nucleotidica nell'esone 26 (c.6714insT) causa di uno scorrimento della cornice di lettura con conseguente formazione di un codone di stop prematuro in posizione 2212 (Asn2212*). Il risultato è un'apoB troncata denominata apoB-48.74 che verosimilmente consente la formazione di chilomicroni nell'intestino come l'apoB-48 normale.

Conclusioni. Nei pazienti con Ho-FHBL portatori di apoB troncata la severità del fenotipo dipende dalle dimensioni dell'apoB troncata e dalla sua capacità di formare chilomicroni.

STUDIO FUNZIONALE IN VITRO DI UNA NUOVA MUTAZIONE DI SPLICING DEL GENE MTTP IN UN CASO DI ABETALIPOPROTEINEMIA

E. Di Leo, L. Magnolo, P. Tarugi
Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena
E-mail: enzadileo76@libero.it

Introduzione. L'abetalipoproteinemia (ABL) è un raro disordine recessivo caratterizzato da livelli molto bassi di colesterolo totale, VLDL, LDL e chilomicroni, e da completa assenza di apolipoproteina B (apoB) nel plasma.

L'ABL si presenta con ritardo di crescita, malassorbimento intestinale di lipidi, steatorrea, accumulo di lipidi nel fegato e negli enterociti, manifestazioni neurologiche. L'ABL è dovuta a mutazioni del gene MTTP che codifica per la proteina microsomiale di trasferimento dei trigliceridi (MTTP) necessaria per l'assemblaggio di VLDL e chilomicroni.

Scopo. Diagnosi genetico-molecolare in un paziente di origini indiane (HBL-195) con sospetta ABL.

Metodi e Risultati. Il probando, un bimbo di 2 anni presentava livelli plasmatici estremamente bassi di CT (50 mg/dl) e LDL-C e apoB non dosabili, associati a malassorbimento intestinale di lipidi, diarrea cronica e grave difetto di accrescimento.

Il sequenziamento del gene MTTP ha evidenziato la presenza in omozigosi di una sostituzione nucleotidica in posizione -11 dell'introne 13 (c.1868-11T>A).

L'analisi predittiva in silico, utilizzando un algoritmo specifico (splice site analysis), indicava che la mutazione obliterava il sito accettore di splicing dell'introne 13. Su questa base abbiamo eseguito uno studio funzionale in vitro usando un minigene-reporter espresso in un sistema cellulare eterologo. Questo studio ha dimostrato che la mutazione determina lo skipping completo dell'esone 14 nell'mRNA maturo.

La giunzione anomala dell'esone 13 con l'esone 15 nell'mRNA mutato comporta uno slittamento della cornice di lettura con la

introduzione di due nuovi aminoacidi che precedono un codone di stop prematuro in posizione 626 (Ser624Glyfs*3). Il prodotto di traduzione di questo mRNA anomalo è una proteina MTTP tronca di 625 aminoacidi non funzionale in quanto priva del dominio di legame con i lipidi (residui 604-894).

Conclusioni. È stata identificata e caratterizzata funzionalmente una nuova mutazione di splicing del gene MTTP come causa di ABL.

VEGETARIAN, VEGAN DIETS AND MULTIPLE HEALTH OUTCOMES: A SYSTEMATIC REVIEW WITH META-ANALYSIS

M.R. Dinu¹, R. Abbate², G.F. Gensini^{2,3}, A. Casini¹, F. Sofi^{1,3}

¹Unit of Clinical Nutrition, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Florence; ²Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; ³Don Carlo Gnocchi Foundation, ONLUS IRCCS, Florence

E-mail: monicadinu89@gmail.com

Background. Previous studies have suggested a possible beneficial effect of vegetarian and vegan diets on health outcomes, but the results have been inconclusive.

Aim. To conduct a systematic review and meta-analysis of all the published studies in order to obtain an estimate of the association between vegetarian and vegan diets and health outcomes, including risk factors for chronic diseases, overall mortality, incidence and/or mortality from cardiovascular disease, incidence and/or mortality from cancer with analysis on different localizations.

Methods. Medline, EMBASE, Scopus and Google Scholar databases were searched from inception to June 2014.

Results. The overall analysis included 81 case-control and 8 prospective cohort studies.

As for case-control studies, risk factors for chronic diseases were compared among three diets (vegans, vegetarians and omnivores). Vegetarians reported significant lower BMI [Mean Difference (MD)=-1.37], serum total cholesterol (MD=-30.40 mg/dL), LDL cholesterol (MD=-21.24 mg/dL), HDL cholesterol (MD=-2.59 mg/dL), serum triglycerides (MD=-14.83 mg/dL), and blood glucose levels (MD=-5.17 mg/dL) with respect to omnivores. Vegans determined lowest BMI (MD=-1.74), serum total cholesterol (MD=-37.44 mg/dL), LDL cholesterol (MD=-29.00 mg/dL), serum triglycerides (MD=-16.99 mg/dL), and blood glucose levels (MD=-8.35 mg/dL) and non-significant lower HDL cholesterol when compared with omnivores.

With regard to prospective studies, the analysis on 7 prospective studies (66.018 participants) showed no significant reduced risk of all-cause mortality (RR=0.94; 95% CI, 0.86-1.04) and incidence and/or mortality from cancer (RR=0.96; 95% CI 0.86-1.08), but a significant reduced risk of ischemic heart disease mortality for vegetarians (RR=0.75; 95% CI, 0.68-0.82) when compared with omnivores. Moreover, by analyzing different localizations of cancer, no significant reduced risk for colorectal, prostate, breast, lung and stomach cancer was reported when vegetarians were compared to omnivores.

Conclusions. All-cause and cancer mortality was not significantly different between vegetarians and omnivores. In vegetarians it has been reported a decrease of mortality from ischemic heart disease (-25%), probably due to the significant reduced levels of risk factors such as total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and glucose levels, as well as BMI reported among case-control studies in favor of vegetarians.

LA LDL-AFERESI NEL TRATTAMENTO DEL PIEDE DIABETICO ISCHEMICO. DATI PRELIMINARI DI UNO STUDIO MULTICENTRICO RANDOMIZZATO

D. Donini¹, V. Stoico¹, L. Salvotelli¹, E. Brocco², M. Messa³, M. Franchini⁴, E. Capuzzo⁴, F. Saggiani⁵, V. Pugni⁶, E. Manicardi⁶, R. Baricchi⁷, R. Anichini⁸, A. Tedeschi⁸, G. D'Alessandri⁹, E. Bonora¹, M.G. Zenti¹

¹DAI Medico Generale, U.O.C. Endocrinologia, A.O.U.I. VR;

²DAI Medico Generale, Nefrologia e Dialisi, A.O.U.I. VR;

³Unità per il trattamento del piede diabetico, Policlinico Abano Terme;

⁴Medicina trasfusionale, A.O.P.O.M.A., MN; ⁵Dipartimento

Medico, A.O.P.O.M.A., MN; ⁶Diabetologia, A.S.M.N. RE;

⁷Medicina Trasfusionale, A.S.M.N. RE; ⁸Diabetologia,

Ospedale PT; ⁹Trasfusionale, Ospedale PT

E-mail: diana.donini@gmail.com

Introduzione. Il piede diabetico (PD), una comune, severa e costosa complicanza del diabete, riconosce come principali fattori patogenetici la vasculopatia periferica e le alterazione del microcircolo. Numerose evidenze hanno documentato che la LDL-afèresi (LA) promuove il miglioramento della funzione del microcircolo, con aumento della perfusione dei tessuti periferici.

Scopo. Verificare in uno studio clinico randomizzato, multicentrico, prospettico, l'effetto del trattamento con LA in aggiunta alla terapia tradizionale sulla guarigione delle ulcere, in pazienti con PD ischemico e vasculopatia periferica non rivascolarizzabile.

Metodi. Sono stati arruolati 11 pazienti (6 a VR, 2 a RE, 2 a PT, 1 a MN). 7 pazienti sono stati randomizzati al trattamento con LA in associazione alla terapia medica tradizionale (TT+LA), 4 al trattamento tradizionale (TT). La LA è stata eseguita con sistema HELP: 10 sessioni in 9 settimane.

Risultati. Degli 11 pazienti arruolati, 9M, 2F, età media 71 aa (range 50-80 aa), 7 presentavano ulcere di classe Texas III e 4 di classe Texas I. 5 pazienti hanno completato lo studio: 2 del braccio TT (1 paziente guarito: Texas 1 → 0; 1 paziente rimasto in classe Texas III); 3 del braccio TT+LA (1 paziente guarito: classe Texas III → 0; 1 paziente rimasto in classe Texas III, 1 paziente sottoposto ad amputazione trans-metatarsale). Nel corso dello studio si sono verificati 3 drop-out (2 nel gruppo TT dopo la V3 e 1 dopo la randomizzazione nel braccio TT+LA). 3 pazienti stanno completando lo studio. Come atteso, la misura dell'ossimetria transcutanea (TcPO2) ha presentato un trend favorevole nei pazienti trattati con LA (TT: TcPO2 V0=31.6; V1=24.8; V2=23.5 mmHg. TT+LA: TcPO2 V0=34.0; V1=38.8; V2=40.4 mmHg).

Conclusioni. Questi dati preliminari confermano il miglioramento della perfusione del microcircolo nei paziente sottoposti a LA, tuttavia la casistica limitata non ci consente di arrivare ad una conclusione rispetto all'endpoint primario (guarigione delle ulcere).

MEDITERRANEAN DIET SCORE E COMPOSIZIONE CORPOREA

D. Francesconi, E. Capatti, R. Situlin, M.L. Morieri, E. Dalla Nora, M.A. Miselli, C. Soavi, G. Brombo, S. Poma, G. Zuliani, A. Passaro; PANGeA Group
Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Ferrara
E-mail: frndnl1@unife.it

Numerose evidenze correlano la dieta mediterranea (MD) con la salute cardiovascolare. Cardini della MD sono alimenti di origine vegetale quali cereali, frutta, verdura, legumi, frutta secca ed olio

di oliva come principale fonte di grassi aggiunti. Il grado di adesione a questo pattern alimentare e la relazione con lo stato di salute può essere valutato tramite score di frequenza o score quantitativi.

Scopo dello studio. Valutare la correlazione tra “mediterranean diet score” (MDS) ed antropometria e composizione corporea

Materiali e Metodi. A 459 pazienti di età media 67±5 anni (range 54-81) partecipanti al progetto PANGeA, è stato somministrato un questionario semiquantitativo per rilevare la frequenza di assunzione, nell'arco dell'anno, di 90 cibi, successivamente suddivisi in 13 macro-categorie. Nel calcolo del MDS totale e per singola macro-categoria abbiamo fatto riferimento alle frequenze di consumo indicate nella piramide alimentare mediterranea. Tutti i soggetti sono stati inoltre sottoposti a valutazione antropometrica e a BIA per la stima della composizione corporea.

Risultati. In un modello di regressione lineare stepwise la circonferenza vita è indipendentemente e negativamente correlata allo score dell'olio d'oliva (beta coefficiente -0,153; p=0,001) e della frutta secca oleosa (beta coefficiente -0,099; p=0,032) e positivamente con lo score dei dolci (beta coefficiente 0,124; p=0,007) e cereali (beta coefficiente 0,118; p=0,011) (R² 0,05; p<0,001). La massa grassa è inversamente ed indipendentemente correlata allo score del vino (R² 0,019, β-coefficiente -0,145, p=0,002).

Conclusioni. Il MDS totale non è indipendentemente correlato agli indici di composizione corporea. Il rispetto delle frequenze di assunzione consigliate per l'olio d'oliva e la frutta secca sembra essere indipendentemente e negativamente correlato alla circonferenza vita. Le variabili antropometriche esaminate sembrano essere determinate prevalentemente dalla quantità piuttosto che dalla frequenza di consumo di alcuni gruppi di alimenti. Il MDS non è predittivo di una buona composizione corporea.

ROLE OF RS1466535 LOW-DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR-RELATED PROTEIN 1 (LRP1), RS3781590 AND RS4988300 LOW-DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR-RELATED PROTEIN 5 (LRP5) GENE POLYMORPHISMS IN CAROTID ARTERY DISEASE

S. Galora^{1,2}, C. Saracini^{1,2}, G. Pratesi³, R. De Cario^{1,2}, G.F. Gensini^{1,3,4}, R. Pulli^{1,3}, C. Pratesi^{1,3}, R. Abbate^{1,2,3}, B. Giusti^{1,2,3}
¹Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; ²Atherothrombotic Diseases Center, Careggi Hospital; ³Department Heart and Vessel, Careggi Hospital; ⁴Don Carlo Gnocchi Foundation, Florence; ⁵Department of Biomedicine and Prevention, Unit of Vascular Surgery, University of Rome 'Tor Vergata', Rome
 E-mail: silviagalora@gmail.com

Introduction. Our previous studies showed associations among abdominal aortic aneurysm (AAA) and single nucleotide polymorphisms (SNPs) in low-density-lipoprotein receptor-related protein (LRP) family genes (LRP1 and LRP5). We identified 2 LRP5 (rs4988300 and rs3781590) and one LRP1 (rs1466535) polymorphisms as risk factors for AAA. At present, it has not been defined if these associations are specific for AAA or related to atherosclerosis.

Materials and Methods. Therefore, we aimed to evaluate the role of the rs1466535, rs4988300 and rs3781590 polymorphisms in conferring genetic susceptibility for carotid artery stenosis (CAS), another common manifestation of atherosclerosis. Polymorphisms were evaluated in n=814 CAS patients and n=814 controls.

Results. The prevalence of rs1466535 LRP1 T allele carriers was significantly higher in CAS (49.3%) than in controls (43.9%, p=0.032). At multiple logistic regression analysis adjusted for traditional cardiovascular risk factors, T allele carriers status did not remain a significant determinant of CAS. No statistically significant difference was observed in genotype distribution of rs3781590 and rs4988300 LRP5 polymorphisms in CAS patients and controls; no associations were observed at multiple regression analyses.

rs1466535 LRP1, rs4988300 and rs3781590 LRP5 polymorphisms are not significant and independent CAS risk factors. Our finding of no association of the three polymorphisms with CAS suggest the involvement of these genetic variants with peculiar localizations of atherosclerosis such as AAA.

AFTER ORAL FAT LOAD NAFLD SUBJECTS AND HEALTHY CONTROLS SHOW DIFFERENT SERUM FREE FATTY ACID TRENDS

R. Gambino, E. Bugianesi, C. Rosso, L. Mezzabotta, S. Pinach, N. Alemanno, F. Saba, M. Cassader
 Department of Medical Sciences, University of Turin
 E-mail: roberto.gambino@unito.it

Background. Free Fatty Acid (FFA) metabolism can widely impact on metabolic conditions, such as obesity, insulin resistance, type 2 diabetes, non-alcoholic steatohepatitis. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) encompasses a spectrum of conditions characterized histologically by hepatic steatosis in individuals without significant alcohol consumption and negative viral, congenital and autoimmune liver disease markers. Hepatic lipid accumulation results from an imbalance between lipid availability and lipid disposal. In this context the composition of serum FFA has been poorly studied so far, especially in the postprandial state. The aim of our work was to ascertain whether different composition of circulating FFA could make subjects susceptible for developing steatosis.

Methods. Twenty-one patients (mean age±SD, 40±9 yr., BMI 27.5±3.9 kg/m²) were selected according to specified criteria: persistently (at least 12 months) elevated aminotransferases (AST and ALT) in the absence of significant alcohol consumption (defined as <20 g/day in men and <10 g/day in women); ultrasonographic presence of bright liver without any other liver or biliary tract disease. The control group consisted of 9 healthy subjects (mean age±SD, 27±2 yr., BMI 21.2±1.6 kg/m²) with normal liver enzymes and abdomen ultrasound scan. NAFLD patients and controls underwent an oral fat load. The determination of fatty acid composition of FFA was performed by HPLC.

Results. Oleic acid serum level is statistically higher in NAFLD patients than in control subjects at times 60, 150, and 210 minutes. Linoleic acid had significant differences at times 60, 150, 180, 210, and 240 minutes between NAFLD and control subjects. Eicosatrienoic acid in NAFLD patients had higher levels than in control subjects with significant differences from 150 minutes to the end of the fat oral test. Docosahexaenoic and linolenic acids are significantly increased in NAFLD patients at 150 and 180 minutes.

Conclusions. In the postprandial phase HOMA index positively correlated with the ω3/ω6 ratio at time 210 minutes and 240 minutes in NAFLD patients and QUICKI index was inversely correlated with the ω3/ω6 ratio at 210 minutes. Amount and type of dietary fatty acids influence postprandial response. An imbalance in the ω3/ω6 fatty acids ratio could modulate postprandial responses with more pronounced effects in insulin-resistant subjects, such as NAFLD patients.

IDENTIFICATION OF TWO NOVEL MUTATIONS OF THE LDL RECEPTOR GENE IN TWO ITALIAN FAMILIES WITH FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA

K. Garlaschelli¹, F. Pellegatta¹, A. Baragetti^{1,2}, L. Grigore¹, A. Pirillo^{1,3}, A.L. Catapano^{2,3}

¹Center for the Study of Atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello Balsamo, Milan; ²Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, Università degli Studi di Milano, Milan; ³IRCCS MultiMedica, Sesto San Giovanni, Milan
E-mail: garlaschelli.centroatero@gmail.com

Familial hypercholesterolemia (FH) is a genetic disease mainly due to autosomal dominant mutations in several genes involved in the control of low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels, including the low density lipoprotein receptor (LDLR), apolipoprotein B (apoB), proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9). An autosomal recessive form of FH, due to loss-of-function mutation in the LDLR adaptor protein 1 (LDLRAP1) gene, has also been described. A high number of genetic variants for the LDLR gene that co-segregate with hypercholesterolemia have been reported.

Subjects with high levels of LDL-C and a history of personal or familial premature CAD were evaluated according to the MEDPED score, to define the presence of genetic defects in one of the known candidate genes. We have identified two families with mutations not yet described. The first proband is a 31-year-old man with high levels of total and LDL-C (364 and 291 mg/dL, respectively) and a history of familial hypercholesterolemia and premature CAD. The genetic analysis identified the mutation c.1207-1209delTTC (p.Phe403del) in the exon 9 of LDLR. The two proband's children were carriers of the same variant, and were both hypercholesterolemic. The second proband is a 55-year-old man with high levels of total and LDL-C (460 and 397 mg/dL, respectively) and a premature myocardial infarction at age 42. The genetic analysis identified a splice site mutation (c.1061-1G>T) in intron 7 of LDLR, a variant with a very high splicing prediction. His son, which exhibited high levels of total and LDL-C (321 and 258 mg/dL, respectively), carries the same genetic variant.

In summary, we have identified two novel mutations of LDLR that co-segregate with familial hypercholesterolemia, suggesting a pathogenic role for these genetic variants.

ANGPTL3 E ATEROSCLEROSI SUBCLINICA IN SOGGETTI DIABETICI E IN PAZIENTI CON INSUFFICIENZA RENALE CRONICA LIEVE-MODERATA

K. Gazzola¹, G.B. Vigna¹, S. Boarini¹, C. Bosi¹, J. Sanz¹, F. Bernini², E. Favari², F. Zimetti², S. Calandra³, A.F.G. Cicero⁴, L. Franzini⁵, I. Zavaroni⁵ and the ADSL (DiAL-ER) Group

¹Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Ferrara;

²Dipartimento di Farmacia, Università di Parma;

³Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Modena e Reggio Emilia; ⁴Dipartimento di Medicina Clinica e Biologia applicata, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Bologna;

⁵Dipartimento di Medicina Interna, Università di Parma
E-mail: gzzkta@unife.it

Introduzione. Angiopietin-like protein 3 (ANGPTL3) è una glicoproteina secreta dal fegato che modula il metabolismo lipidico

inibendo la lipasi lipoproteica ed endoteliale. La sua concentrazione plasmatica è stata valutata nell'ambito del progetto DiAL-ER (Diagnostica Avanzata in Lipidologia - Emilia Romagna), studio multicentrico che ha coinvolto pazienti dislipidemici, con lo scopo di porla in correlazione con parametri lipidologici, anche non convenzionali, e con indici di aterosclerosi subclinica (spessore medio-intimale della carotide comune, ccIMT).

Pazienti e Metodi. In un sottogruppo di soggetti DiAL-ER (50 pazienti con diabete non complicato, 50 controlli sani) sono stati misurati i livelli plasmatici di ANGPTL3 con metodo ELISA (AdipoGen AG, Liestal, Svizzera). Tali livelli sono stati confrontati e correlati con le comuni variabili lipidologiche, le sottofrizioni di HDL e LDL (®Lipoprint), l'ossidabilità delle LDL (lag-phase), il potenziale di trasporto inverso del colesterolo (CEC) e un indice di aterosclerosi subclinica (Spessore Medio Intimale Carotideo, ccIMT).

Risultati. Nei soggetti nefropatici (385±23 ng/ml) e nei controlli sani (402±18 ng/ml) i livelli di ANGPTL3 sono apparsi circa doppi rispetto ai diabetici (207±13 ng/ml, p<0.001). Non sono state trovate correlazioni significative tra ANGPTL3 e le variabili lipidoproteiche (C-HDL, trigliceridemia, C-LDL, parametri ossidativi delle LDL, diametro delle lipoproteine e indici di trasporto inverso del colesterolo). Tuttavia è emersa una correlazione diretta e significativa tra concentrazione di ANGPTL3 e gli indici di aterosclerosi subclinica nei controlli sani (ccIMT-mean R=0.453, p<0.01; ccIMT-max R=0.390, p<0.05) e nei soggetti diabetici (ccIMT-max R=0.402, p<0.01) ma non in quelli nefropatici.

Conclusioni. Al contrario di quanto già descritto per i pazienti dializzati o con insufficienza renale terminale, non abbiamo osservato ridotti livelli di ANGPTL3 nei soggetti con IRC lieve o moderata. Non è stata inoltre riscontrata correlazione tra concentrazione plasmatica di ANGPTL3 e i parametri analizzati in questo studio (altri Autori avevano descritto una relazione diretta con il C-HDL). L'associazione tra aumentati livelli di ANGPTL3 e gli indici di aterosclerosi subclinica è un aspetto confermativo di precedenti studi nei soggetti sani, ma non ancora descritto nella popolazione diabetica, ove potrebbe identificare un sottogruppo a più elevato rischio cardiovascolare.

RELAZIONE TRA NAFLD FIBROSIS SCORE E DANNO VASCOLARE PRECOCE IN PAZIENTI CON OBESITÀ D'ALTO GRADO

A. Gentili, G. Daviddi, M. Scavizzi, S. De Vuono, M.A. Ricci, F. Di Filippo, A. Alaeddin, M.R. Mannarino, G. Vaudo, G. Lupattelli

Medicina Interna, Angiologia e Malattie da Arteriosclerosi, Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Perugia
E-mail: alessandra.gentili1987@gmail.com

Introduzione. La steatosi epatica non alcolica (NAFLD, Non Alcoholic Fatty Liver Disease) è definita dalla presenza di un ampio spettro di condizioni cliniche, che vanno dalla steatosi semplice alla steatoepatite non alcolica, in soggetti con anamnesi negativa per consumo di alcool. L'obesità è la condizione più frequentemente associata alla NAFLD: circa l'80% dei pazienti con obesità grave sono affetti da NAFLD con prevalenze particolarmente elevate delle sue forme più severe. Studi recenti hanno evidenziato una correlazione positiva tra NAFLD ed aterosclerosi subclinica in pazienti affetti da diabete di tipo 2, individuando l'insulino-resistenza (IR) come base patogenetica comune.

L'obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare, in pazienti affetti da obesità d'alto grado, l'eventuale associazione tra i principi

pali markers di danno vascolare precoce (aumento dello spessore medio-intimale carotideo [IMT], riduzione della vasoattività flusso mediata [VFM]) e NAFLD Fibrosis Score (indicatore basato su parametri quali BMI, diabete, piastrine, AST, ALT, albumina e comunemente impiegato per stimare la probabilità di sviluppare forme avanzate di NAFLD) in relazione all'entità di IR.

Materiali e Metodi. Lo studio ha incluso 193 pazienti obesi, 65 maschi e 128 femmine, con BMI (Indice di Massa Corporea) medio di $44,5 \pm 7,41$ kg/m². Per ciascun paziente sono stati valutati: IMT e VFM (ultrasonografia), VFA (Area Grasso Viscerale) tramite tecniche ecografiche, parametri antropometrici ed ematochimici, indice di insulino-resistenza (HOMA-IR) e NAFLD Fibrosis Score.

Risultati. I pazienti con valori di NAFLD Fibrosis Score ed HOMA-IR superiori alla mediana presentano valori significativamente più elevati di IMT e minori di VFM rispetto ai pazienti con valori di NAFLD Fibrosis Score ed HOMA-IR inferiori alla mediana ($p < 0,01$). All'analisi univariata il NAFLD Fibrosis Score presenta una correlazione positiva con IMT ($r: +0,446$; $p < 0,01$), VFA ($r: +0,431$; $p < 0,01$), BMI ($r: +0,473$; $p < 0,01$) e HOMA-IR ($r: +0,290$; $p < 0,01$) e negativa con VFM ($r: -0,269$; $p < 0,01$).

All'analisi multivariata, NAFLD Fibrosis Score, pressione arteriosa sistolica e LDL-C, ma non HOMA-IR, sono risultati predittori indipendenti di aumentato IMT.

Conclusioni. Steatosi epatica ed insulino-resistenza svolgono un ruolo congiunto nell'insorgenza di aterosclerosi subclinica in pazienti con obesità d'alto grado; tuttavia, la condizione di NAFLD, specialmente nelle sue forme più avanzate, sembra svolgere un ruolo preminente. Infatti, sebbene sia NAFLD Fibrosis Score che HOMA-IR presentino una stretta correlazione con i markers di danno vascolare, solo il NAFLD Fibrosis Score è risultato predittore indipendente di IMT. Pertanto, nell'inquadramento clinico del paziente gravemente obeso, il calcolo del NAFLD Fibrosis Score potrebbe risultare uno strumento semplice ed utile non solo nella stima del danno epatico ma anche nella valutazione del rischio cardiovascolare.

IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE: PREVALENZA, GENETICA E RISCHIO CARDIOVASCOLARE IN UNA POPOLAZIONE AMBULATORIALE

O. Ghirardello, C. Ceriotti, C. Rabacchi¹, A. De Giorgi, S. Boarini, M. Bove, K. Gazzola, S. Negri, C. Paparcone, G.B. Vigna
 Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Ferrara;
¹Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Università di Modena e Reggio Emilia
 E-mail: omar.ghirardello@gmail.com

Obiettivi. L'associazione tra dislipidemie familiari e aterosclerosi è stata oggetto di varie ricerche cliniche, evidenziando in genere un'aumentata prevalenza di manifestazioni cardio-vascolari. Non risulta tuttavia semplice definire se le attuali misure preventive comportamentali e farmacologiche, ampiamente diffuse nella popolazione, abbiano modificato il rischio di questi soggetti.

Scopo del presente studio è stato quello di descrivere le caratteristiche epidemiologiche e cliniche di una popolazione ambulatoriale definita, con diagnosi di ipercolesterolemia familiare monogenica (FH: possibile/probabile o certa), individuando il difetto genetico sottostante e valutando l'entità dell'aterosclerosi presente, sia anamnestica che subclinica (tramite eco-doppler carotideo).

Pazienti e Metodi. Sono stati considerati i pazienti che nell'ambito di 48 mesi si sono presentati presso un unico Centro per lo Studio delle malattie Metaboliche (Ferrara, Emilia Romagna), ed

hanno ricevuto diagnosi di FH (sia nuovi casi che follow-up) utilizzando uno score diagnostico validato (Dutch Lipid Score, DLS). È stato inoltre analizzato il sottogruppo di soggetti in cui era stata posta diagnosi genetica di malattia (con metodiche standard o LIPOCHIP®) e, ulteriormente, i casi incidenti nello stesso periodo che non fossero ancora in trattamento con ipolipemizzanti, ed avessero eseguito un'indagine ecocolor Doppler TSA entro 6 mesi antecedenti o 6 mesi successivi alla valutazione clinica.

Risultati. Sono stati individuati 287 pazienti con diagnosi possibile di ADH (DLS > 5).

La diagnosi genetica di malattia è stata eseguita in 72 pazienti ed in 60 di essi (83%) è stata confermata la presenza di Ipercolesterolemia Autosomica Dominante (ADH) evidenziando una elevata prevalenza di ADH1 (difetto del recettore apo B/E, 96%), nessun caso di ADH2 (apoB difettiva) e 2 soggetti con mutazioni del gene PCSK9 (ADH3).

In due soggetti con ADH1 le mutazioni non erano state precedentemente descritte in letteratura. Il campione complessivo ha mostrato bilanciamento tra i due generi (sesso femminile: 51.6%) ed età media 49.2 anni; familiarità per ipercolesterolemia era evidenziabile nel 84.7% dei casi.

I valori massimi medi di colesterolemia totale e di cLDL riportati dai pazienti (in assenza di terapia ipolipemizzante) erano rispettivamente 364 mg/dl e 270 mg/dl. Solo il 12% dei soggetti riferiva un'anamnesi personale o chiari sintomi di cardiopatia ischemica, mentre il 27.5% mostrava lesioni carotidee all'eco-doppler o aveva avuto manifestazioni cliniche compatibili con aterosclerosi carotidea, con una prevalenza di lesioni crescente in decenni di età successive e rispetto ad un gruppo di controllo di soggetti non-FH. Gli individui con FH mai trattati con ipolipemizzanti hanno mostrato uno spessore medio intimale carotideo (cIMT) significativamente superiore rispetto ad un gruppo di 16 controlli di età corrispondente ($0,61 \pm 0,07$ vs $0,89 \pm 0,31$; $p < 0,001$), ed una correlazione significativa tra quest'ultimo parametro e i livelli di cLDL. Tra i soggetti sottoposti ad analisi genetica (DLS = $7,6 \pm 3,0$), le più frequenti mutazioni osservate sono state FH Padova-1 (15%) FH Napoli-9 (10%), FH Modena (8.3%) e FH Vercelli (8.3%), tutte riguardanti il gene del recettore apo B/E.

Conclusioni. Questo studio preliminare ha esaminato un significativo numero di soggetti con FH residenti nella provincia di Ferrara. Pur con i limiti imposti da un'indagine retrospettiva, ha documentato una discreta prevalenza di aterosclerosi subclinica, a fronte di un numero contenuto di soggetti con manifestazioni cliniche corrispondenti. L'età media relativamente elevata dei soggetti con FH e non ancora trattati con ipolipemizzanti (39.5 anni) mostra come ancora troppi casi di questa condizione rimangano a lungo misconosciuti.

SCREENING OF APOE AND OF GENES ASSOCIATED TO FAMILIAL HYPERTRIGLICERYDEMA IN PATIENTS WITH GLYCOGEN STORAGE DISEASES TYPES 1A AND 1B

C. Giacobbe^{1,2}, D. Melis³, M.D. Di Taranto⁴, M.N. D'Agostino^{1,2}, M. Fiorenza⁵, G. Parenti³, G. Minopoli³, G. Andria³, G. Fortunato^{1,2}
¹CEINGE S.C.a r.l. Biotecnologie Avanzate, Napoli;
²Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli;
³Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli;
⁴IRCCS Fondazione SDN, Napoli;
⁵Dipartimento Assistenziale Integrato di Medicina di Laboratorio, A.O.U. Federico II, Napoli
 E-mail: giacobbe@ceinge.unina.it

Introduction. Glycogen storage diseases (GSD) are rare autosomal recessive disorders caused by a deficiency of hepatic glucose-6-phosphatase (type 1a) or glucose-6-phosphate translocase genes (type 1b). Both diseases are characterized by severe hypoglycemia and increased production of lactic acid, uric acid and triglycerides.

We aimed to clear the role of the ApoE polymorphisms in relation to the triglyceride levels in patients suffering from GSD-1a and 1b; in addition two patients with severe hypertriglyceridemia (TG>10. mmol/L) are screened for the following genes: Lipoprotein lipase (LPL), Apolipoprotein A-V (APOA5), Apolipoprotein C-II (APOC2), Glycosyl-phosphatidyl-inositol-anchored HDL-binding protein (GPIHBP1), Lipase maturation factor-1 (LMF1). The screening of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 (GPD1) gene is in progress.

Materials and Methods. We enrolled 22 pediatric patients with a clinical and genetic diagnosis of GSD-1a and 7 with GSD-1b. The exon 4 of the ApoE gene, LPL, APOA5, APOC2, GPIHBP1, LMF1 and GPD1 were amplified by PCR and directly sequenced.

Results. The frequencies of the ApoE genotypes in GSD-1a are: E2/E2 (4.5%), E2/E3 (4.5%), E3/E3 (77.3%) and E3/E4 (13.6%); in GSD-1b are: E2/E3 (14.3%), E3/E3 (57.1%) and E3/E4 (28.6%). In patients with GSD-1a the triglyceride levels differ between the E2 carriers (mean±SD=1097±546 mg/dL), E4 carriers (mean±SD=636±357 mg/dL) and wild-type E3/E3 patients (mean±SD=304±225 mg/dL) with p=0.002 at ANOVA. In patients with GSD-1b triglyceride levels differ between the 3 groups of ApoE genotypes (p=0.024 at ANOVA).

In one patient with severe hypertriglyceridemia we identified two known variants (c.953A>G- p.Asn318Ser, c.1421C>G- p.Ser474*) in LPL gene; in the second patient we identified a new variant in the LPL gene.

Conclusions. Although in patients with GSD hypertriglyceridemia is secondary to the metabolic disorder, we observed that the genotypes of ApoE and some variants in genes involved in severe hypertriglyceridemia could modulate the triglyceride levels and could help to predict the severe cases of hypertriglyceridemia.

ROLE OF NADPH OXIDASE P22PHOX GENE POLYMORPHISMS AS DETERMINANTS OF MAJOR ADVERSE CARDIOVASCULAR EVENTS IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME UNDERGOING CORONARY ANGIOPLASTY

B. Giusti^{1,2,3}, C. Saracini^{1,2}, S. Galora^{1,2}, R. Marcucci^{1,2,3}, A.M. Gori^{1,2,3,4}, R. Valentini³, G. Parodi³, G.F. Gensini^{1,3,4}, D. Antoniucci³, F. Violi⁵, R. Abbate^{1,2,3}
¹Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; ²Atherothrombotic Diseases Center, Careggi Hospital; ³Department Heart and Vessel, Careggi Hospital; ⁴Don Carlo Gnocchi Foundation, Florence; ⁵Department of Internal Medicine and Medical Specialties, Sapienza University of Rome
 E-mail: betti.giusti@unifi.it

Introduction. Reactive oxygen species (ROS) play a primary role in atherosclerosis. The major source of ROS in artery wall is related to NADPH oxidase activity, where they promote oxidative stress and plaque progression/instability. A higher expression of p22phox protein, a subunit of NADPH oxidase coded by CYBA gene, was observed in human atherosclerotic coronary arteries.

Materials and Methods. We evaluated the role of rs4673, rs7195830, rs9932581 CYBA polymorphisms on the occurrence of major adverse cardiovascular events (MACE) at 2-year follow-up, in a cohort of n=1361 patients with acute coronary syndrome (ACS) undergoing coronary angioplasty.

Results. The status of A allele carriers (AA+AG) of the rs9932581 polymorphism in the CYBA promoter was associated with MACE protection (59.3% MACE vs. 69.1% noMACE, p=0.03). At the multivariate logistic regression analysis, adjusted for known determinants of MACE, the status of rs9932581 A allele carrier resulted a significant and independent protective factor for MACE (OR=0.634, 95% CI 0.422-0.95, p=0.028). The genotype distribution of rs4673 polymorphism did not show a statistically significant difference between patients with and without MACE, even if the prevalence of T allele carriers (CT+TT) was lower MACE patients. No significant association with MACE occurrence was observed for rs7195830 polymorphism. Our data suggested that polymorphism rs9932581 in CYBA gene plays a crucial role in susceptibility to MACE in high risk vascular patients.

GENETIC RISK FACTORS FOR OXIDATIVE STRESS-ASSOCIATED COMPLICATIONS IN PRETERM INFANTS

B. Giusti¹, C. Poggi², A. Sereni¹, I. Romagnuolo¹, A. Kura¹, E. Gozzini², E. Pasquini³, R. Abbate¹, C. Dani⁴
¹Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence, Atherothrombotic Diseases Centre, A.O.U. Careggi, Florence; ²Division of Neonatology, A.O.U. Careggi, Florence; ³Metabolic and Muscular Unit, Clinic of Pediatric Neurology, Meyer Children's Hospital, Florence; ⁴Department of Neurosciences, Psychology, Drug Research and Child Health, A.O.U. Careggi, Florence
 E-mail: betti.giusti@unifi.it

Introduction. There is increasing evidence that some gene polymorphisms are implicated in the development of severe complications of preterm birth, including respiratory distress syndrome

(RDS), bronchopulmonary dysplasia (BPD), intraventricular hemorrhage (IVH), and retinopathy of prematurity (ROP).

Material and Methods. In this study, we aimed to identify whether specific polymorphisms in VEGFA, eNOS, renin-angiotensin system (AGT, AGTR1, ACE), and heme oxygenase-1 (HMOX1) were associated with the development of RDS, BPD, IVH, and ROP in 342 preterm infants. We carried out a retrospective study to evaluate allele frequency and genotype distribution of VEGFA, eNOS, AGT, AGTR1, ACE, and HMOX1 polymorphisms in a population of preterm neonates with a gestational age ≤ 28 weeks according to the presence or absence of RDS, BPD, IVH, and ROP. Moreover, we evaluated through the haplotype reconstruction analysis whether combinations of the selected polymorphisms are related to RDS, BPD, IVH and ROP.

Results. We found that TC+CC rs2070744 eNOS (41.7 vs 25.4%, $p=0.01$) and GT+TT rs1799983 eNOS (51.8 vs 35.2%, $p=0.01$) polymorphisms are independent risk factor for BPD. Haplotype reconstruction showed that haplotypes in VEGFA and eNOS are significantly associated with different effect on RDS, BPD, IVH, and ROP in our population. In conclusion, we found that TC+CC rs2070744 eNOS and GT+TT rs1799983 eNOS polymorphisms are per se independent predictors of an increased risk of developing BPD. Haplotypes of VEGFA and eNOS may be independent protecting or risk markers for prematurity complications.

HDL INHIBIT TISSUE FACTOR EXPRESSION IN ENDOTHELIAL CELLS AND MONOCYTES

M. Gomaschi, A. Ossoli, A.T. Remaley, G. Franceschini, L. Calabresi

Centro Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, and Lipoprotein Metabolism Section, NHLBI, NIH, Bethesda, MD, USA
E-mail: monica.gomaschi@unimi.it

Background and aim. High density lipoproteins (HDL) exert anti-thrombotic activities by preventing platelet adhesion and activation, by stimulating the anticoagulant protein C pathway and by promoting fibrinolysis. Aim of the study was to assess the effect of plasma-derived and synthetic HDL on endothelial expression of tissue factor (TF), the primary initiator of coagulation in physiological and pathological conditions.

Methods and Results. HDL inhibited TF expression in TNF α -stimulated human umbilical vein endothelial cells at physiological concentrations and in a dose-dependent way. Spherical HDL particles were responsible for the inhibitory effect, since the removal of discoidal prebeta-HDL did not alter HDL-mediated TF inhibition.

Synthetic HDL retain the ability to inhibit TF expression in a dose-dependent way; lipid-free apoA-I was not effective. HDL-mediated TF inhibition was due to a modulation of cell cholesterol content through the interaction with SR-BI, but not ABCG1; downstream, HDL inhibited the activation of p38 MAPK and the repression of PI3K/Akt pathway responsible for the TNF α -mediated TF expression. HDL were also able to inhibit TF expression in a monocytic cell line.

In vivo, human apoA-I transgenic mice displayed a reduced aortic expression of TF than wild-type animals.

Conclusions. The anti-thrombotic activity of HDL can also be mediated by the inhibition of TF expression in endothelial and monocytic cells; sHDL retain the inhibitory activity of plasma-derived HDL, strengthening the rationale for sHDL infusion in acute vascular thrombosis.

GLUCOCORTICOIDS EXHERT A DIRECT PRO-ATHEROGENIC ACTIVITY PROMOTING CHOLESTEROL UPTAKE AND REDUCING CHOLESTEROL EFFLUX IN MACROPHAGES

D. Greco¹, F. Zimetti¹, M.P. Adorni¹, E. Favari¹, R. Gatti², F. Bernini¹, N. Ronda¹

¹*Department of Pharmacy, University of Parma;*

²*Department of Biomedical Biotechnology and Translational Sciences, University of Parma*

E-mail: daniela.greco@unipr.it

Glucocorticoid treatment, an independent cardiovascular risk factor in autoimmune patients, is considered pro-atherogenic because of hypertension and metabolic syndrome induction. We have investigated the direct effect of hydrocortisone (HC) on cholesterol accumulation in human macrophages.

We measured macrophage total cholesterol cell content and cell cholesterol efflux after treatment with a cholesterol donor and a cholesterol acceptor respectively, with and without 16 hours pre-incubation with HC 100 mg/ml.

We also directly visualized HC effect on the internalization of fluorescently labeled LDL in living macrophages through confocal microscopy.

The involvement of HC-induced LDLr modulation in cholesterol accumulation was investigated measuring total cholesterol content in fibroblasts from healthy donors and patients lacking functional LDLr.

HC effect on the expression of LDL receptor (LDLr), cholesterol transporters and LXR was studied by western blotting. Finally we evaluated the effect of HC on cholesterol esterification in macrophages.

HC significantly enhanced cell cholesterol accumulation (mg cholesterol/mg protein, mean \pm SE, 7.27 \pm 0.21 versus 6.12 \pm 0.09, $p<0.05$). The effect on cholesterol uptake was much lower in cells lacking LDLr.

HC markedly increased the velocity and degree of LDL internalization in macrophages stimulating LDLr expression. HC reduced total cell cholesterol efflux in standard conditions (mean \pm SE, 1.6% \pm 0.2 versus 3.9% \pm 0.3, $p<0.01$) and upon stimulation with LXR-RXR ligands (1.9% \pm 0.05 versus 4.9% \pm 0.07, $p<0.0001$), as well as specific ABCA1, ABCG1, SR-BI-mediated efflux. HC inhibited the expression of the three cholesterol transporters and of LXR. HC enhanced cholesterol esterification.

HC promotion of cholesterol accumulation in macrophages through various molecular pathways is a novel glucocorticoid pro-atherogenic mechanism that can help explaining the cardiovascular risk independently associated to steroid treatment. Our observation could pave the way to new strategies to counteract steroid-induced cardiovascular damage.

NEXT GENERATION SEQUENCING: A NEW METHODOLOGICAL APPROACH FOR THE MOLECULAR DIAGNOSIS OF GENETIC DYSLIPIDEMIAS

V. Ingrassia, A.B. Cefalù, V. Valenti, D. Noto, R. Spina, C. Scrimali, M.P. La Spada, G. Misiano, G.I. Altieri, F. Fayer, C.M. Barbagallo, O. Palesano, V. Licata, M. Aversa

Università di Palermo, Dipartimento di Medicina Interna e Specialistica (DIBIMIS), Unità di Biologia Molecolare Diagnostica "A.O.U.P." di Palermo, Centro di Riferimento Regionale per la Prevenzione, la Cura delle Malattie Rare del Metabolismo (CERMMET)

E-mail: ingrassiaavaleria@virgilio.it

The high demand for low-cost sequencing has driven the development of high-throughput sequencing (or next-generation sequencing) technologies that parallelize the sequencing process, producing thousands or millions of sequences concurrently. Ion Torrent PGM System (Life Technologies) developed a system based on using standard sequencing chemistry, but with a novel, semiconductor based detection system. This method of sequencing is based on the detection of hydrogen ions that are released during the polymerization of DNA, as opposed to the optical methods used in other sequencing systems. Ion AmpliSeqDesigner is a free online tool that allows researchers to create and order Ion AmpliSeqDNA Custom Panels comprising human genes of interest. The Ion AmpliSeq workflow is based on a transformative technology that simplifies ultrahigh-multiplex PCR amplification and library construction and requires only 10 ng of input DNA per pool. We designed two different panels to analyze genes involved in primary hypercholesterolemia or hypocholesterolemia in order to perform molecular diagnosis in patients with definite clinical criteria. The laboratory workflow consist of the following steps: library construction, preparation of template, run of sequence, data analysis. We used three different chips (314, 316, 318) with a range of sequence reads from 400-550 thousand to 4-5.5 million. Bioinformatic analysis was conducted by The Ion Reporter System which is a combined hardware and software solution for analyzing human sequencing data. It consists of a locally deployed computer with a suite of informatics tools that streamlines and simplifies analysis, variant annotation, and archiving of semiconductor sequencing data. In this work we describe the workflow and output of this approach in subjects with primary hypercholesterolemia and primary hypocholesterolemia performed in our laboratory.

LIPOPROTEIN SUBFRACTIONS AND SUBCLINICAL ATHEROSCLEROSIS

E. La Fata¹, A. Iannuzzi², G. Covetti², M. Gentile¹, M. Sodano¹, M. Fasbender Iacovitti¹, S. Panico¹, S. Mattiello¹, G. Iannuzzo¹, P. Rubba¹

¹Dip. di Medicina Clinica e Chirurgia, Università di Napoli Federico II; ²Dip. di Medicina, Ospedale Cardarelli, Napoli
E-mail: ersilia.lafata@libero.it

Plasma cholesterol is a well-established cardiovascular risk factor. The reduction of serum cholesterol and Low-Density-Lipoprotein Cholesterol (LDL-C) decreases the risk of cardiovascular disease. Nevertheless, even in subjects who reach their target LDL-C, a risk of morbidity and mortality for cardiovascular disease remains (residual risk). Other lipid factors, in addition to LDL-C, could be responsible for the residual risk.

Lipoprint[®] is a method based on the pre-staining of the lipid fractions in serum with Sudan black and subsequent electrophoresis in gradient polyacrylamide gel and measures the levels of esterified cholesterol in each class of lipoproteins. The carotid intima-media thickness (IMT), as assessed by B-mode ultrasonography, is a validated marker of subclinical atherosclerosis. The purpose of the present study was to assess the relationship between cholesterol content in VLDL, IDL, LDL, and HDL, measured by Lipoprint[®] and carotid IMT and plaques, in 228 post-menopausal Neapolitan women participating to ATENA project. VLDL-C had a positive correlation with carotid IMT ($r=0.26$, $p<0.001$).

This association was retained after adjustment for the main confounding factors ($r=0.45$, $p<0.04$). LDL-C and IDL-C had a statistically significant association with IMT, that was lost after adjustment for major confounding factors. HDL-C did not show any association with carotid IMT. In the second and third tertiles of VLDL-C the risk of common carotid plaques was doubled, compared to the first tertile (respectively OR 2.0, 95% CI 1.01-3.98, $p=0.047$ and OR 2.02 95% CI 1.05-3.90, $p=0.034$). Tertiles of VLDL-C + IDL-C (taken together) showed a significant association with carotid plaques, even after adjustment for age, systolic blood pressure, blood glucose, cigarette smoking, BMI and HDL-C. In conclusion, measurement of cholesterol concentration in different lipoprotein classes by Lipoprint[®] is a potentially useful tool for the quantification of cardiovascular risk.

EFFETTI DI BARNIDIPINA E PERINDOPRIL, IN MONOTERAPIA O IN COMBINAZIONE CON SIMVASTATINA, SULLA STEATOSI EPATICA ED I PARAMETRI METABOLICI IN PAZIENTI IPERTESI

P. Maffioli¹, L. Bianchi¹, D. Romano¹, A. D'Angelo¹, G. Derosa^{1,2}

¹Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo; ²Centro di Studio e Ricerche di Fisiopatologia e Clinica Endocrino-Metabolica, Università di Pavia
E-mail: pamelamaffioli@hotmail.it

Obiettivo. Valutare gli effetti di barnidipina o perindopril in monoterapia o in combinazione con simvastatina su alcuni parametri metabolici e sul grado di steatosi epatica, in pazienti ipertesi con steatosi epatica non alcolica.

Materiali e Metodi. Sono stati arruolati 149 pazienti con ipertensione lieve-moderata (pressione sistolica ≥ 140 e < 180 mmHg e pressione diastolica ≥ 90 e < 105 mmHg), normocolesterolemici (LDL-C < 160 mg/dl), in sovrappeso o obesi (BMI 25,0-34,9 kg/m²) e con steatosi epatica. I pazienti sono stati randomizzati ad assumere barnidipina, 20 mg/die, o perindopril, 5 mg/die, per 6 mesi; successivamente simvastatina, 20 mg/die è stata aggiunta ad entrambi i trattamenti per ulteriori 6 mesi. I pazienti sono stati sottoposti ad un esame ecografico per valutare il grado di steatosi, definita con un punteggio da 0 a 3, il diametro del tessuto adiposo sottocutaneo e del tessuto adiposo viscerale e ad un prelievo di sangue per valutare la glicemia plasmatica a digiuno (FPG), l'insulinemia plasmatica a digiuno (FPI), il colesterolo totale (TC), i trigliceridi (Tg), il colesterolo HDL (HDL-C), il colesterolo LDL (LDL-C) e alcuni parametri infiammatori tra cui l'adiponectina (ADN), il fattore di necrosi tumorale- α (TNF- α), l'interleuchina-6 (IL-6), la proteina C reattiva ad alta sensibilità (Hs-CRP), al basale e dopo 6 e 12 mesi, rispettivamente. È stata, inoltre, misurata la pressione arteriosa ogni mese.

Risultati. 139 pazienti hanno completato lo studio. Sia barnidipina che perindopril hanno portato ad una riduzione significativa della pressione sistolica e diastolica, con una maggiore efficacia di barnidipina nel ridurre la pressione arteriosa rispetto a perindopril ($p < 0,05$ vs perindopril). La glicemia a digiuno e FPI non sono variate durante lo studio. Barnidipina, ma non perindopril, ha ridotto i livelli di TC e Tg dopo 6 mesi di terapia rispetto al basale ($p < 0,05$ per entrambi); il profilo lipidico è migliorato in entrambi i gruppi quando simvastatina è stata aggiunta alla terapia ($p < 0,001$ vs basale nel gruppo con barnidipina, $p < 0,01$ vs basale nel gruppo con perindopril; $p < 0,05$ vs perindopril + simvastatina). Per quanto riguarda i parametri infiammatori, essi non sono stati modificati da perindopril, mentre barnidipina ha ridotto i livelli di TNF- α , IL-6, e Hs-CRP sia in monoterapia sia dopo l'aggiunta di simvastatina ($p < 0,05$ vs basale e vs perindopril). Il grado di steatosi, il diametro del tessuto adiposo sottocutaneo e del tessuto adiposo viscerale sono migliorati solo quando simvastatina è stata aggiunta in entrambi i gruppi ($p < 0,05$ per tutti i parametri), senza una differenza significativa tra barnidipina e perindopril.

Conclusioni. Barnidipina è risultata più efficace di perindopril nel ridurre la pressione arteriosa e i parametri infiammatori in monoterapia. In aggiunta a simvastatina, barnidipina è risultata superiore a perindopril nel migliorare il profilo lipidico. Per quanto riguarda i parametri di steatosi epatica, invece, solo l'aggiunta di simvastatina ha portato ad un loro significativo miglioramento.

IPOLIPIDEMIA FAMILIARE COMBINATA ASSOCIATA A MUTAZIONI DEL GENE ANGPTL8

L. Magnolo, E. Di Leo, M.L. Simone, C. Priore Oliva, P. Tarugi
Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia, Modena
E-mail: lucillamag@libero.it

Introduzione. L'ipobetalipoproteinemia familiare (FHBL) è un disordine co-dominante caratterizzato da bassi livelli di LDL-colesterolo (LDL-C) e apolipoproteina B (apoB). Nel 50% dei casi la FHBL è dovuta a mutazioni del gene APOB. Negli ultimi anni i geni ANGPTL3 ed ANGPTL8 (che codificano proteine appartenenti alla famiglia delle angiopoietin-like proteins) sono emersi come nuovi geni candidati nella FHBL, quando questa è associata a ridotti livelli di HDL-colesterolo (HDL-C). Mutazioni con perdita di funzione in omozigosi/eterozigosi composta di ANGPTL3 sono causa di Ipolipidemia Familiare Combinata, caratterizzata da ridotti livelli di tutte le classi di lipoproteine.

Scopo. Analisi mutazionale in un soggetto con grave ipobeta-ipo-alfalipoproteinemia.

Metodi e Risultati. Il probando presentava una severa ipobetalipoproteinemia (TC 42 mg/dl, LDL-C 18 mg/dl, apoB 12 mg/dl), bassi livelli di HDL-C (22 mg/dl) ed apoA-1 (79 mg/dl) ed aumento delle transaminasi, che suggeriva la diagnosi di FHBL omozigote, Abetalipoproteinemia o Malattia da ritenzione dei chilomicroni. Poiché l'analisi dei principali geni candidati (APOB, MTP, SAR1B) è risultata negativa, sono stati analizzati i geni ANGPTL3 e ANGPTL8. Questa analisi ha portato all'identificazione allo stato eterozigote di due sostituzioni di singoli nucleotidi rispettivamente nell'esone 1 e nell'esone 3 del gene ANGPTL8, che determinano due sostituzioni amminoacidiche non conservative: Arg59Trp e Val170Met. La variante Arg59Trp, già descritta in letteratura, è stata trovata associata (in condizione di omozigosi) ad una moderata riduzione dei livelli plasmatici di LDL-C e HDL-C negli Afro-americani e negli Ispanici. L'analisi in silico ha indicato come

“potenzialmente dannosa” la variante Arg59Trp e “dannosa” la variante Val170Met. Anche il fratello del probando che presentava un profilo lipidico identico a quello del probando, è risultato portatore eterozigote di entrambe le varianti.

Conclusioni. In due fratelli con Ipolipidemia Familiare Combinata sono state identificate due mutazioni missenso di ANGPTL8, il cui effetto patogenetico dovrà essere confermato mediante studi in vitro.

LA RESISTENZA ALLE STATINE VISTA DAL MEDICO DI MEDICINA GENERALE: EFFETTI DELLA TERAPIA ASSOCIATIVA CON EZETIMIBE IN PAZIENTI SOVRAPPESO GIÀ IN TERAPIA CON INIBITORE DELL'HMG-COA-REDUTTASI

V.M. Magro
Federazione Italiana Medici di Medicina Generale (FIMMG)
E-mail: valerio_magro@hotmail.com

Obiettivi. In alcuni pazienti le statine, oltre ad avere scarsi effetti sulla compliance dietologica, sullo stile di vita e sui livelli di HDL, risultano essere particolarmente insoddisfacenti, in quanto, assieme alle errate abitudini, l'inibizione iatrogena della sintesi epatica di colesterolo viene compensata da un aumento del suo assorbimento a livello intestinale. Si è studiato tale fenomeno nel setting della Medicina Generale.

Materiali e Metodi. Abbiamo studiato 30 pazienti (età 55+20 anni), 18 femmine e 12 maschi, con sovrappeso/obesità (BMI 26+4.5): 6 affetti da diabete, 13 da ipertensione; tutti avevano una dislipidemia mista (valori medi: colesterolo totale 229+41 mg/dl, trigliceridi 169+39 mg/dl, HDL 29+17 mg/dl) già trattata con statina: 18 con simvastatina - 8 assumevano 10 mg, 7 20 mg, 3 40 mg -, 6 con atorvastatina (2 con 20 mg e 4 con 40 mg), 4 con fluvastatina 20 mg, 2 con pravastina 20 mg. Tutti con scarsa attività fisica e compliance dietetica, assenti coronaropatie ed insufficienza renale. Il 90% non raggiungeva il target lipidico raccomandato dall'NCEP-ATP III. Si formavano 2 gruppi (15 soggetti, con 3 pazienti diabetici): ad un gruppo veniva aggiunta ezetimibe 10 mg in terapia. A 3-6 mesi veniva rivalutato il profilo lipidico.

Risultati. Nel “gruppo ezetimibe” si osservava aumento delle HDL (valore medio 59 mg/dl, con aumento del 2,5% a 6 mesi) e diminuzione di trigliceridi ed LDL, per cui 5/7 pazienti (compreso i soggetti con diabete) a 6 mesi raggiungevano il target. Non vi erano eventi avversi.

Conclusioni. La doppia terapia ezetimibe e statina, mediante meccanismi differenti ma reciproco potenziamento, risulta efficace nei pazienti obesi, con scarsa compliance dietetica/attività fisica, con resistenza al solo trattamento statinico.

LIRAGLUTIDE IN ALZHEIMER'S DISEASE: A BIBLIOGRAPHICAL RESEARCH

V.M. Magro, C. Curatola, A. Di Renzo
Policlinico Umberto I, Università Sapienza di Roma,
FIMMG Lazio, FIMMG Emilia Romagna
E-mail: valerio_magro@hotmail.com

Introduction. Liraglutide is a long-lasting glucagon-like peptide 1 (GLP-1) analog, that facilitates insulin release under high blood sugar conditions. It seems to have some neuroprotective proper-

ties in animal models, reducing Alzheimer's disease (AD). Methods. We conducted a research in Medline using as keywords "Liraglutide AND Alzheimer disease" with the only extraction of 17 articles in the last ten years.

Results. Insulin acts as a growth factor in the brain; in a double blinded RCT [Dan Med J. 2012 Oct; 59(10): A4519] 40 patients with AD have been treated with liraglutide (20) or placebo (20) for six months: FDG PET shows a decrease of glucose metabolism. Another study by Lancaster University tested the drug on the brain of mice suffering from AD in late stage: an improvement was achieved after the injection of Liraglutide for 2 months, with a reduction of about 30% of toxic plaques in their brain. Hölscher C et al. [Alzheimers Dement. 2014 Feb; 10 (Suppl. 1): S47-54] stated that if this drug shows the same protection of neurons of the murine models with AD, the first treatment able to protect the neural function and the memory will be created, reducing amyloid plaques and the inflammatory response of the human brain. Liraglutide also acts on receptors of neurons. This means an improvement in cellular repair and the preservation of synapses.

Conclusions. Several researches associate AD to type 2 diabetes: patients with AD show desensitization of insulin receptors in the brain. The 90% of the studies in the examined literature concerns animals. Liraglutide crosses the blood-brain barrier and prevents the impairment in memory formation and synaptic plasticity, reduces inflammation, amyloid- β levels, oxidative stress and apoptosis in the brain, so it could be a new therapeutic agent that alters the pathophysiology in these patients by decreasing the formation of amyloid- β plaques, improving the cognitive function.

COMPARISON BETWEEN TRANSIENT ELASTOGRAPHY AND REAL TIME ELASTOGRAPHY IN EVALUATING LIVER FIBROSIS IN SUBJECTS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

G. Mandraffino, F. Mamone, C.O. Aragona, A. Cinquegrani, V. Cairo, M. Cinquegrani, M.A. Sardo, A. Saitta
*Department of Clinical and Experimental Medicine,
 University of Messina
 E-mail: gmandraffinond@libero.it*

In the last decade several non-invasive methods were proposed to investigate the degree of liver damage in patients affected by potentially evolutive chronic liver diseases, both virus-related and in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). To date several different modules are already available; several studies have been already evaluated the predictive power of the transient elastography (TE) by FibroScan. In this our study we present the results of a head to head comparison of TE performed by FibroScan and Real Time Elastography (RTE) performed by Elaxto, a module integrated in Esaote MyLab 70 ultrasound (US) machine.

FibroScan utilizes an US transducer probe that transmits vibrations of mild amplitude and low frequency, inducing elastic shear wave that propagates through the underlying liver tissue. Pulse-echo ultrasound acquisitions are used to follow the shear wave propagation and measure its velocity, which is directly related to tissue stiffness; this is the only method non-integrated into a standard US system. Not so many studies are available on the different US machine-integrated methods.

RTE measures probe-induced deformation (strain) of the structures examined in the B-mode ultrasound image, generating color-coded maps of the strain distribution, which reflect tissue elasticity.

Instrumental evaluation was integrated by biohumoral analyses, including complete lipid profile, metabolic status (fasting glucose, fasting insulin, HOMA index, waist circumference, body mass index), transaminases (AST, ALT), platelet count, serum albumin, and AST/ALT ratio, FIB-4 and NAFLD fibrosis score (NFS) calculation.

We included 37 patients (22 men and 15 females), aged between 18 and 63 years old, affected by familial combined hypercholesterolemia (FCHL) and also presenting criteria for metabolic syndrome (MetS). FCHL was diagnosed according to LDL-C ≥ 160 mg/dl and/or TG ≥ 200 mg/dl and ApoB ≥ 120 mg/dl, and familial history of precocious CVD. MetS was diagnosed according to NCEP-AT-PIII criteria.

FIB-4 was calculated as follows: age(years) * AST levels(U/L) / platelets(cells/mmc) * ALT levels(U/L); NFS was calculated as follows: $-1.675 + 0.037 * \text{age (years)} + 0.094 * \text{BMI (kg/m}^2) + 1.13 * \text{IFG/diabetes (yes = 1, no = 0)} + 0.99 * \text{AST/ALT ratio} - 0.013 * \text{platelet (} \times 10^9/\text{l)} - 0.66 * \text{albumin (g/dl)}$.

We found a significant correlation between liver stiffness assessed by FibroScan and elastography assessed by RTE ($r=0.47$; $p<0.001$). Moreover, both TE and RTE appeared correlated with BMI ($r=0.51$, $p<0.001$; $r=0.38$, $p<0.005$), CRP ($r=0.29$, $p<0.01$; $r=0.45$, $p<0.01$), HOMA ($r=0.46$, $p<0.005$; $r=0.32$, $P<0.01$).

Univariate regression analysis confirmed the association between RTE and TE ($F= 5.346$, $R^2=0.18$, $p<0.05$); however, we found no association of both TE and RTE with AST/ALT ratio, FIB-4 and NFS, also due to the limited sample size.

Although these preliminary data are obtained from a small sample of a larger study of comparison of different non-invasive methods, they are suggestive for further deepen the power of RTE for the assessment the degree of damage in liver inflammation and fibrosis in patients affected by FCHL/MetS. If preliminary data will be reproduced on larger scale, this novel method could be proposed to reduce the need of liver biopsy to assess the degree of hepatic inflammation and fibrosis in this subset of patients.

ULTRASOUND EVALUATION OF ABDOMINAL FAT DEPOSITS IN OBESE AND NON-OBESE SUBJECTS

A. Martellini, A. Berni, M. Becatti, C. Fiorillo, L. Poggessi, M. Boddi
*Dipartimento di medicina sperimentale e clinica,
 Università di Firenze, A.O.U. Careggi, Firenze
 E-mail: berniandrea@inwind.it*

Aim. The measurement of abdominal fat and the evaluation of glucidic and lipidic abnormalities are considered in the global cardiovascular risk assessment. The relationships between abdominal fat tissues and metabolic dysfunction components have not been defined, especially in the earliest stages and in non-obese patients. The aims of this study are to compare the "common clinical" markers of adiposity (BMI and waist circumference) and ultrasonographic indices of adiposity (subcutaneous fat, visceral fat and liver steatosis) and to assess their relationships with metabolic abnormalities, systemic inflammation and oxidative stress in a healthy population of obese and non-obese, neither hypertensives, nor diabetics.

Methods. We enrolled 60 patients (age 43 ± 14 years, 26M/34F). They were compared considering BMI (<30 or ≥ 30 kg/m 2). The analysis focused on the non-obese group.

Increased waist circumference was defined for values ≥ 88 cm in female and ≥ 102 cm in male. The ultrasound measurement of ab-

dominal fat tissues included subcutaneous fat (cutis-linea alba thickness, increased for values >19 mm), visceral fat (linea alba-posterior wall of abdominal aorta, increased for values >68 mm) and the presence of liver steatosis (assessment of fatty liver indicator, FLI; moderate-to-severe steatosis defined for FLI ≥ 3). The presence of insulin resistance was defined for HOMA >2.5 and dyslipidemia on the basis of ESC guidelines. Low-grade inflammation was determined by hsC-reactive protein serum levels (hs-CRP ≥ 2 mg/L). Intracellular production of ROS and lipid peroxidation of blood cells were obtained by flow cytofluorimetric analysis.

Results. Non-obese (n=38) differed from obese (n=22) in term of all the abdominal adiposity indices and of metabolic abnormalities. The non-obese were compared on the basis of BMI values, waist circumference, FLI, visceral fat and subcutaneous fat. BMI and waist circumference were related to all the abdominal fat indices. Visceral fat was associated with low-grade inflammation (R=0.61, P<0.001) and insulin resistance (R=0.55, P=0.003), even after adjustment for BMI and waist circumference. Subcutaneous fat correlated with blood cells oxidative levels (R=0.47 to 0.59, P<0.001), even after adjustment for BMI and waist circumference. Serum HDL levels were inversely related to BMI.

Conclusions. Preliminary data of the present study suggest that ultrasound evaluation of abdominal fat deposits (subcutaneous, visceral and hepatic steatosis) may select non-obese patients, but metabolically obese. In particular, the subcutaneous fat is associated with increased oxidation of all blood cells. Ultrasound evaluation of abdominal adipose tissue may therefore be useful for the definition of the metabolic profile and cardiovascular risk in healthy non-obese patients.

IL CONTRASTO ALLA MALATTIA RENALE CRONICA TRA GLI OBIETTIVI DELLA SANITÀ PUBBLICA PER LA PREVENZIONE CARDIOVASCOLARE

V. Mastrilli¹, L. Spizzichino¹, R. Bolognino¹, P. Pisanti², R. D'Elia¹, G. Scalerà¹

Ministero della Salute (Italia),

¹Direzione Generale della Prevenzione;

²Direzione Generale della Programmazione

E-mail: v.mastrilli@sanita.it

Introduzione. La Malattia Renale Cronica (MRC), definita come “una condizione di alterata funzione renale che persiste per più di 3 mesi”, interessa prevalentemente la popolazione adulta. Attraverso la misura del volume del filtrato glomerulare, la MRC è classificata in 5 stadi di gravità crescente, che terminano con la perdita completa della funzione renale e con la necessità di terapia sostitutiva (dialisi o trapianto). La MRC si associa, inoltre, a un aumento del rischio cardiovascolare (CV) dovuto a fattori di rischio sia “tradizionali” (età avanzata, ipertensione, diabete, obesità e dislipidemia), sia specifici (albuminuria, anemia, iperparatiroidismo secondario, alterazioni metabolismo minerale, calcificazioni vascolari, iperattività sistema simpatico), che condizionano progressione e gravità della malattia.

In Italia la prevalenza di MRC nella fascia d'età 35-79 anni è 8,1% maschi e 7,8% femmine (studio CARHES).

La prevenzione e la diagnosi precoce, con esami semplici, poco costosi e non invasivi, possono ritardare di circa 5 anni l'entrata in dialisi.

Metodi e Obiettivi. La Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria del Ministero della Salute ha istituito a febbraio 2013 un Tavolo di lavoro con tutti gli stakeholder coinvolti nella prevenzione

della MRC (rappresentanti di: società scientifiche, MMG, registri di patologia esistenti, associazioni di pazienti), con vari obiettivi: raccolta di dati epidemiologici anche sulle forme iniziali, eventualmente con registro di patologia; formazione di operatori sanitari e pazienti; attuazione di interventi mirati alla prevenzione, diagnosi precoce e realizzazione di percorsi diagnostico-terapeutici.

Risultati. Stesura del “Documento di indirizzo per la prevenzione della MRC”, approvato in Conferenza Stato-Regioni il 5/08/2014. Il documento tratta la prevenzione primaria, la diagnosi precoce e i percorsi diagnostico-terapeutici di tale patologia e sottolinea l'importanza della costruzione di un registro di patologia.

Conclusioni. Il Documento di indirizzo disegna una strategia nazionale mirata a contrastare una patologia che peggiora subdolamente la qualità di vita delle persone e contribuisce all'aumento del loro rischio cardiovascolare.

CONTROLLO DEL PROFILO LIPIDICO IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A ENDOARTERECTOMIA CAROTIDEA PER STENOSI SEVERA

C. Mazzocchetti, D. Santovito, C. Paganelli, C. De Flaviis, M. Bucci, F. Cipollone

Centro di Eccellenza Europeo e di Riferimento Regionale per lo Studio dell'Aterosclerosi, dell'Ipertensione e delle Dislipidemie e Centro di Ricerca Clinica - CeSI - Università “G. D'Annunzio”, Chieti

E-mail: donato.santovito@gmail.com

Background. I pazienti sottoposti a endoarterectomia per stenosi severa della carotide interna, sia essa sintomatica che asintomatica, sono caratterizzati da un rischio cardiovascolare “molto elevato” e, pertanto, hanno indicazione ad un trattamento ipolipemizzante atto al raggiungimento del target di LDL colesterolo <70 mg/dL. Tuttavia, le evidenze riguardanti l'adozione del trattamento e la sua efficacia nei pazienti sottoposti a rivascolarizzazione carotidea sono ancora ridotte. Obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare l'efficacia del controllo lipidico in una popolazione di pazienti sottoposti ad endoarterectomia carotidea.

Materiali e Metodi. Abbiamo analizzato i dati relativi ai pazienti sottoposti ad endoarterectomia carotidea presso il P.O. di Chieti e inclusi nella bio-bank del nostro centro. Per ognuno dei pazienti sono stati estratti dati relativi al profilo lipidico e al trattamento ipolipemizzante.

Risultati. La nostra analisi è stata condotta su un totale di 886 pazienti (571 maschi, 64,4%) con un'età media di 73.2 \pm 7.5 anni. La prevalenza di dislipidemia in tale popolazione, come atteso, è risultata particolarmente elevata (88,4%). Nonostante le numerose evidenze riguardanti l'efficacia delle statine, il 32,7% non era trattato farmacologicamente e mostrava valori di LDL colesterolo di 103,8 \pm 34,6 mg/dL. I restanti pazienti erano trattati con statine a bassa efficacia (33,2%), ad alta efficacia o con l'associazione con ezetimibe (66,8%) raggiungendo valori di colesterolemia LDL di 103,1 \pm 34,6 mg/dL. La percentuale di pazienti che raggiungeva un target di LDL colesterolo era il 27,7%, con una percentuale di raggiungimento del target maggiore nei pazienti trattati con farmaci ad alta efficacia (21,7% vs 44,3%, p=0.018). Non esistevano differenze significative per il raggiungimento del target tra pazienti sintomatici ed asintomatici in trattamento con statine (17,0 vs 16,0%, p=n.s.). Tuttavia, un numero consistente (36,4%) di pazienti sintomatici non era in trattamento ipolipemizzante. In tali pazienti il raggiungimento del target terapeutico era significativamente ridotto se comparato con i pazienti in trattamento (2,7% vs 26,7%, p<0.001).

Conclusioni. I nostri dati testimoniano uno scarso controllo del profilo lipidico in pazienti con ateromasi carotidea stenotica. La concomitante presenza di pazienti non in trattamento, oppure in trattamento con farmaci a bassa efficacia, suggerisce un possibile margine di miglioramento terapeutico da ottenersi mediante una maggiore aderenza alle raccomandazioni delle attuali linee guida.

EVOLUZIONE TEMPORALE DEL CONTROLLO DEL PROFILO LIPIDICO IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A ENDOARTERECTOMIA PER STENOSI CAROTIDEA DI GRADO SEVERO

C. Mazzocchetti, C. Paganelli, D. Santovito, C. De Flaviis, M. Bucci, F. Cipollone
Centro di Eccellenza Europeo e di Riferimento Regionale per lo Studio dell'Aterosclerosi, dell'Ipertensione e delle Dislipidemie e Centro di Ricerca Clinica - CeSI - Università "G. D'Annunzio", Chieti
E-mail: donato.santovito@gmail.com

Background. Numerose evidenze scientifiche supportano l'indicazione all'utilizzo della terapia ipolipemizzante con statine al fine di raggiungere target terapeutici tanto più restrittivi quanto maggiore è il rischio cardiovascolare dei pazienti.

Le indicazioni delle Linee Guida e le normative nazionali si sono succedute negli anni, modificando lo scenario in termini di prescrivibilità e scelte terapeutiche.

Il nostro studio ha valutato il raggiungimento del target terapeutico in una popolazione di pazienti ad alto rischio sottoposti a endoarterectomia carotidea per la presenza di ateromasi severa nel periodo compreso tra il 2008 e il 2013.

Materiali e Metodi. Abbiamo analizzato i dati relativi ai pazienti sottoposti ad endoarterectomia carotidea presso il P.O. di Chieti e inclusi nella bio-bank del nostro centro dal 2008 al 2013. Sono stati valutati, in particolare, il raggiungimento del target terapeutico e la percentuale di pazienti in trattamento con statine a bassa e alta efficacia e con l'associazione.

Risultati. Su 886 pazienti, di cui 571 (64.4%) maschi e 315 (35.6%) femmine, con un'età media di $73,24 \pm 7,52$ anni, 783 (88.4%) erano ipercolesterolemici. Dall'analisi dei dati si evidenzia come, nel corso degli anni, si è assistito a una progressiva riduzione dei valori di colesterolo LDL (da $111,23 \pm 32,77$ mg/dl nel 2008 a $95,14 \pm 35,6$ mg/dl nel 2013).

La percentuale di pazienti in trattamento con statine a bassa efficacia si è progressivamente ridotta (dal 21,88% del 2008 al 19,21% del 2013) a favore dell'utilizzo di statine a elevata efficacia (dal 31,25% nel 2008 al 36,16% nel 2013) e dell'associazione (dal 2,08% del 2008 al 7,91% del 2013). Il raggiungimento dei target terapeutici è migliorato dal 24,5% del 2008 al 34,8% nel 2013.

Conclusioni. I nostri dati mostrano un progressivo miglioramento, negli anni, del profilo lipidico nei pazienti affetti da ateromasi carotidea. Tale effetto va verosimilmente ascritto a un maggiore utilizzo di farmaci a più elevata efficacia, come raccomandato dalle più recenti linee guida. Tuttavia ulteriori sforzi saranno ancora necessari per il raggiungimento del target in un numero maggiore di pazienti.

UROLITHIN IMPACT IN ATHEROGENESIS: IN VITRO EFFECTS ON MONOCYTES AND MACROPHAGES

L. Mele¹, I. Zanotti², F. Bernini², D. Del Rio¹
¹*Department of Food Science, University of Parma;*
²*Department of Pharmacy, University of Parma*
E-mail: laura.mele3@gmail.com

Ellagitannins are a complex subclass of hydrolysable tannins present in many different foodstuffs, in particular Rubus berries, walnuts, pomegranate, and oak-aged red wines, whose consumption has been associated with cardiovascular protective effects.

Numerous in vitro studies have shown anti-atherogenic effects of ellagitannins in cell models of the vascular system. However, these cells are not exposed to ellagitannins in vivo, as ellagitannins are poorly absorbed and are metabolized by the colonic microbiota to form a series of catabolites called urolithins.

Preliminary data of gene expression suggested that urolithins might affect macrophage functionality. Therefore, the aim of the study was to evaluate whether urolithins could influence the capacity of macrophages to adhere to extracellular matrix or affect the differentiation of monocytes into macrophages. Four ellagitannin metabolites (urolithin A, B, C and D) and a glucuronide derivative (urolithinB-glucuronide) were tested.

For the first goal, THP-1 derived macrophages were treated for 6 hours with or without urolithins. During the last hour of incubation cells were transferred on fibronectin pre-coated wells. The amount of adherent cells was evaluated with the MTT assay.

In order to evaluate the effect on monocytes differentiation, THP-1 monocytes were cultured with PMA, in presence or absence of urolithins. Adherent, differentiated cells were quantified after 24, 48, 72 hours of treatment, using the MTT method.

All 10 μ M urolithins limited the adhesion of THP-1 macrophages to fibronectin (between -50% with the most active urolithinC and -30% with the less active urolithin A).

Conversely, only urolithinC 10 μ M and 1 μ M inhibited the differentiation of monocytes, time and dose dependently, reaching a maximum effect of -45%.

In conclusion, these experiments display two mechanisms through which urolithins may affect macrophage function in vitro. Evaluating the effect of metabolites actually present in blood after ellagitannins consumption, the current study provides possible explanations of the in vivo cardiovascular protective role of ellagitannin-containing products.

NILOTINIB ASSOCIATED CARDIOVASCULAR EVENTS: A CASE REPORT

A. Mignano, I. Muratori, E. Corrado, G. Coppola, S. Novo
Unità di Cardiologia, A.O.U.P. Paolo Giaccone,
Università degli Studi di Palermo
E-mail: tonimignano@gmail.com

Introduction. The second generation BCR/ABL kinase inhibitor nilotinib is increasingly used for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukemia (CML).

Cardiotoxicity and cardiovascular complications have only recently been reported for drugs that target tyrosine kinases but the exact incidence of these adverse effects is unclear.

Case report. A 75-year-old male patient without cardiovascular risk factors and with CML (diagnosed 2008; in remission/chronic phase), treated with imatinib for 6 months, was switched to nilo-

tinib 400 mg twice daily due to imatinib suspected resistance. One year later, the patient was hospitalised due to acute inferior myocardial infarction and underwent primary coronary angioplasty with bare metal stent implantation for the right coronary artery and, after a week, a second coronary angioplasty was performed with bare metal stent implantation for interventricular coronary artery. After this event, patient stopped nilotinib for three years, during which no cardiovascular events occurred. In 2014 patient restarted nilotinib therapy and after two months was hospitalized in our unit of angiology for acute ischemia of left foot. Infusion therapy with synthetic prostaglandin (iloprost) was started but no benefit was observed and patient developed ischemic ulceration of the first toe. Vascular surgeon was contacted for femoral-tibial bypass grafting and, after a pre-operative cardiological evaluation, patient underwent coronary catheterization that showed severe stenosis of right coronary artery stent. A medicated balloon angioplasty was performed and patient was discharged with indication of femoral-tibial bypass after a month. When he was readmitted in vascular surgery unit, he arrived to medical observation with neurological symptoms (Right-sided hemiparesis, aphasia) and head CT showed acute ischemic stroke. After stabilization of clinical picture patient underwent femoral-tibial bypass with good result at 3 month. He stopped nilotinib when acute ischemia of the first toe occurred and after 6 month he doesn't show any progression of CML.

Discussion. In summary, nilotinib is very rarely associated with clinically relevant vascular events. However this possibility should be considered when selecting nilotinib for the treatment of patients with CML, particularly those with known risk factors for vascular disease. Few data on nilotinib associated cardiovascular events are available in literature and, usually, only one vascular district is involved in reported clinical cases. Other clinical studies are necessary to evaluate the real impact of second generation BCR/ABL kinase inhibitors adverse effects and to understand the mechanism of drug associated vascular damage. Considering that both microvascular and macrovascular alterations are reported, a vascular inflammation based mechanism can be proposed to explain all of these cardiovascular adverse effects (stroke, myocardial infarction, acute peripheral arterial ischemia and Raynaud syndrome).

THE NATURAL COMPOUND BERBERINE POSITIVELY AFFECTS MACROPHAGE FUNCTIONS INVOLVED IN ATHEROGENESIS

A. Moro, E. Favari, M.P. Adorni, N. Ronda, F. Bernini, F. Zimetti
Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Parma
E-mail: angelica.moro@studenti.unipr.it

Background and aims. We investigated the effect of berberine (BBR), an alkaloid showing antiatherogenic properties beyond the cholesterol lowering capacity, on macrophage cholesterol handling upon exposure to human serum and on macrophage responses to excess free cholesterol (FC) loading.

Methods. Mouse and human macrophages were utilized as cellular models. Cholesterol content was measured by a fluorimetric assay; cholesterol efflux and cytotoxicity were evaluated by radioisotopic assays. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) secretion was measured by ELISA.

Results. Exposure of cholesterol enriched murine peritoneal macrophages (MPM) to normocholesterolemic serum resulted in a significant reduction of intracellular cholesterol content (-21%; $p < 0.05$). Incubation with BBR 1 μ M led to a further removal of cho-

lesterol from these cells (-50%; $p < 0.05$). Such effect was not related to a stimulation of cholesterol efflux but rather to an inhibition of cholesterol influx. Such inhibition was confirmed in human macrophages exposed to hypercholesterolemic serum, where cholesterol accumulation induced by about 2 folds ($p < 0.05$) after exposure to serum, was completely abolished by BBR. Macrophage FC-enrichment increased MCP-1 release by 1.5 folds and increased cytotoxicity by 2 folds; all these responses were markedly inhibited by BBR.

Conclusion. We showed novel potentially atheroprotective activities of BBR in macrophages, consisting in the inhibition of serum-induced cholesterol accumulation, and the protection against FC-induced deleterious effects.

DIAGNOSI CLINICA E GENETICA IN 17 SOGGETTI CON IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE: L'ESPERIENZA DELLA LIPID CLINIC DELL'ASMN, IRCCS DI REGGIO EMILIA

E. Negri¹, C. Trenti¹, M.C. Leone¹, A. Muoio¹, N. Romano², R. Baricchi², C. Rabacchi³, S. Calandra³, L. Vecchia⁴, T. Fasano⁴
¹Medicina I; ²Medicina Trasfusionale; ³ASMN IRCCS Reggio Emilia; ⁴LACCE, Centro di Ricerche Genomiche, Università di Modena e Reggio Emilia
E-mail: tommaso.fasano@asmn.re.it

Introduzione. L'Ipercolesterolemia Familiare (FH) eterozigote è una comune malattia genetica, risultato di mutazioni in alcuni geni (LDLR, APOB, PCSK9) coinvolti nel catabolismo delle LDL-C. Nei soggetti FH i valori plasmatici di Colesterolo totale ed LDL sono elevati fin dalla nascita, una condizione che accelera lo sviluppo dell'aterosclerosi. Si stima che nella popolazione generale 1 ogni 300-500 soggetti potrebbe essere affetto da Ipercolesterolemia Familiare e che questa patologia sia attualmente sotto-diagnosticata e sotto-trattata.

Materiali e Metodi. Un profilo lipidico completo è stato ottenuto nei soggetti con sospetto clinico di FH ed il Dutch Score per la possibilità/probabilità di FH è stato calcolato. Il DNA è stato estratto da un campione di sangue e inviato presso il Centro di Ricerche Genomiche dell'Università di Modena e Reggio Emilia per la diagnosi genetica.

Risultati. I soggetti in questione (10 maschi - 7 femmine) hanno un'età media di 44 anni (da 14 a 88 anni). La media dei valori lipidici all'ingresso era: Colesterolo Totale 353±83 mg/dl; LDL 268±75 mg/dl; HDL 59±12 mg/dl; Trigliceridi 113±72 mg/dl.

11 pazienti risultano appartenere a due famiglie (rispettivamente 8 e 3 componenti). Un soggetto ha anamnesi positiva per infarto miocardico acuto all'età di 31 anni, 4 casi indice hanno anamnesi familiari positive per eventi ischemici coronarici.

Il valore medio del Dutch Score è di 6.2 (da 4 a 10) e lo studio genetico ha portato all'identificazione di mutazioni/riarrangiamenti grossolani del gene LDLR in tutti i soggetti. L'inizio della terapia (12 soggetti: statina, statina+ezetimibe, LDL-afèresi) ha modificato il profilo lipidico con una riduzione dei valori di Colesterolo (media -36%), LDL-C (-46%) e Trigliceridi (-22%) e un aumento delle HDL (+11%).

Discussione. Una precoce identificazione dei soggetti FH e l'instaurazione di una tempestiva terapia ipocolesterolemizzante consentono la modificazione del profilo lipidico e la riduzione del rischio cardiovascolare in questi soggetti.

CAROTID INTIMA-MEDIA THICKNESS AND ATHEROGENIC INDEX OF PLASMA AND IN A COHORT OF MENOPAUSAL MEDITERRANEAN WOMEN: FINDINGS FROM PROGETTO ATENA

M. Nunziata, M. Gentile, V. Cotarelli, F. De Felice, G. Marotta, F. Jossa, C. Pagano, S. Panico, A. Mattiello, G. Iannuzzo, P. Rubba
Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Università di Napoli Federico II, Napoli
E-mail: mnrnunziata@inwind.it

The association between early atherosclerosis (IMT) and Atherogenic index of plasma (AIP), a marker of atherogenicity (log triglycerides/HDL Cholesterol) was evaluated in a population-based cohort study in women, aged 30-69, living in the metropolitan area of Naples, Southern Italy (Progetto ATENA). Serum cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Triglyceride, Insulin, HOMA, Apo B, hs-CPR were measured in 390 menopausal women, as a part of 5.062 participants of the cohort.

Women in the second and third tertile of AIP showed an increased common carotid intima-media thickness compared with those in the first tertile: II vs I tertile (O.R.=2.02, p=0.018), III vs I tertile (O.R.=2.17, p=0.009), adjusted for age and Systolic pressure or II vs I tertile (O.R.=1.95, p=0.035), III vs I tertile (O.R.=1.96, p=0.047), adjusted for age, Systolic pressure, Body mass index and Apo B. This finding shows that in this group of menopausal women IMT is associated with elevated AIP independently of age and different cardiovascular risk factors.

These results are in line with the hypothesis that AIP could be used as a plasma marker of atherogenicity.

EXTRACELLULAR MATRIX REMODELLING OF ENDOTHELIAL CELL WAS INDUCED BY VERY LOW DENSITY LIPOPROTEINS THROUGH NFκB ACTIVATION

R. Oberkersch¹, Y. Rasente¹, B. Barakian¹, S. Yuschak², N. Volpi³, G. Calabrese¹

¹School of Pharmacy and Biochemistry, University of Buenos Aires;

²Churrucua-Visca Hospital, Uspallata 3400, Parque Patricios,

Buenos Aires, Argentina; ³Department of Life Science,

University of Modena and Reggio Emilia, Modena

E-mail: roberkersch@fityb.uba.ar

Predisposing risk factors for atherosclerosis, which include hypertension, diabetes, smoking, and hypercholesterolemia, are all linked to endothelial cell (EC) dysfunction (1). However, the remodelling of the vascular extracellular matrix (vECM) and the signaling cascade involved in EC dysfunction induced by normal very low density lipoprotein (N-VLDL) injury is still unclear (2). The aim of the present work was to study the remodelling of vECM and signaling of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) in response to human N-VLDL. All the protocols performed were approved by the Bioethics Committee of the University of Buenos Aires, Argentina. Human N-VLDL were isolated by ultracentrifugation from healthy volunteers. EC were obtained and cultured as described Ulrich-Merzenich (3). After reaching 70-80% confluence, HUVEC were incubated with 75 mcg/mL of N-VLDL in serum-free medium for 24 hs. After treatment, vECM remodelling was studied through:

1) proteoglycans core protein production, specifically decorin, versican and perlecan analysis by Western blot;

2) glycosaminoglycans content studied by reverse phase HPLC; 3) matrix metalloproteinase (MMP) activity analyzed by zymography.

The signaling pathways (NFκB and ERK 1/2) induced by N-VLDL were studied by immunofluorescence and Western blot. HUVEC showed a significant augmentation in the production of decorin and versican (p<0.05, C vs N-VLDL, t-Test, n=6). This increase was accompanied by an increased secretion of chondroitin sulphate and dermatan sulphate (C4S/C6S 3.52 vs 4.56 and C4S/C0S 4.97 vs 12.7, control vs N-VLDL respectively, n=3). In addition, perlecan production showed no differences. The NFκB was accumulated in the nucleus of HUVEC after lipoprotein treatment (p<0.05, C vs N-VLDL, t-Test, n=6).

No differences were detected in ERK 1/2 activation between control and N-VLDL-treated cells. The proinflammatory state reached by HUVEC in the presence of N-VLDL was associated with a significant increase in MMP-9 activity (p< 0.05, C vs N-VLDL). Our results suggest that human N-VLDL induced an athero-protective remodelling of the vECM in HUVEC, through NFκB activation and dermatan sulfate proteoglycans increase. This remodelling was different from our previous results obtained for Human Umbilical Artery Endothelial Cells (4).

References

1. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, Nishigaki I. The vascular endothelium and human diseases. *Int. J. Biol. Sci.* 2013; 9(10): 1057-1069.
2. Idberg IJ, Eckel RH, McPherson R. Triglycerides and heart disease, still a hypothesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31(8): 1716-1725. Go
3. Ulrich-Merzenich G, Metzner C, Bionde R, Malsch G, Schiermeyer B, Vetter H. Simultaneous isolation of endothelial and smooth muscle cells from human umbilical artery or vein and their growth response to low-density lipoproteins.
4. Oberkersch R, Rasente Y, Gualco L, Yuschak S, Calabrese G. Very low density lipoproteins induce differential vascular extracellular remodelling according to the endothelial phenotype. *Angiogenesis and Leukocytes Atherosclerosis*. Geneva, Switzerland. January 2014; 30-31.

ROLE OF LIPOPROTEIN X IN THE DEVELOPMENT OF RENAL DISEASE IN LCAT DEFICIENCY

A. Ossoli^{1,2}, M. Amar¹, S. Thacker¹, M. Pryor¹, L. Calabrese², A.T. Remaley¹

¹Lipoprotein Metabolism Laboratory, NHLBI, NIH, Bethesda, MD, United States; ²Center E. Grossi Paoletti, Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milan
E-mail: alice_o@hotmail.it

Introduction. Lecitin: cholesterol acil transferase (LCAT) is the unique enzyme in human plasma able to esterify cholesterol and it is implicated in the anti-atherogenic reverse cholesterol transport (RCT) pathway.

The total lack of LCAT activity leads to Familial LCAT Deficiency (FLD), a genetic disorder characterized by corneal opacity, anemia and renal failure. Renal failure represents the first cause of morbidity and mortality in FLD subject, but the cause of glomerulosclerosis is not clear. FLD subjects show alteration in plasmatic lipoprotein profile; among changes, the appearance of an abnormal lipoprotein, Lipoprotein X (LpX) seems to be involved in glomerulosclerosis development.

Method. Synthetic LpX was produced in vitro to match the lipid composition and multilamellar arrangement of lipids of LpX isolated from humans subjects and structure was confirmed by electron microscopy. Toxic effects of synthetic LpX were tested in cultured renal cells and in mice.

Results. Synthetic LpX is internalized in podocytes and mesangial cells, the principal glomerulus component, and localize in lysosomes. LpX treatment was also shown to interfere with endothelial cell barrier function. LCAT knock-out mice injected with LpX showed more than 3-fold increase in microalbumin to creatinine ratio and significant enhanced expression of genes involved in nephrotoxicity. In contrast, wild-type mice were relatively unaffected by LpX treatment.

Conclusion. This work confirms the direct involvement of LpX in the pathogenesis of glomerulosclerosis in FLD and demonstrates that the lack of LCAT enzyme activity is crucial in the development of renal disease from LpX.

DIFFERENZE NELLA CATEGORIZZAZIONE DEI PAZIENTI NELLE RECENTI REVISIONI DELLA NOTA 13 AIFA: EFFETTI SULLA CONCESSIONE IN RIMBORSABILITÀ DELLE STATINE

C. Paganelli, D. Santovito, C. Mazzocchetti, M. Di Lanzo, A. Cocco, F. Cipollone, M. Bucci

Centro di Eccellenza Europeo e di Riferimento Regionale per lo studio dell'Aterosclerosi, dell'Ipertensione e delle Dislipidemie e Centro di Ricerca Clinica - CeSI - Università "G. D'Annunzio", Chieti

E-mail: camilla.paganelli@gmail.com

Background. Nel tempo, la nota 13 è stata sottoposta a periodiche revisioni che hanno ridefinito i criteri per l'inquadramento del rischio cardiovascolare (RCV) e, di conseguenza, la scelta terapeutica e la rimborsabilità della prescrizione farmacologica. Obiettivo del nostro studio è di valutare come siano cambiati la stratificazione del RCV e il suo impatto sulla scelta terapeutica con la nota 13 del 2007, 2011 e 2013.

Materiali e Metodi. Abbiamo analizzato i dati di 1037 pazienti giunti per la prima volta presso il nostro Centro nel periodo 2010-2014 e valutato, in base alla classe di RCV definita da ciascuna delle tre note, la distanza dal target terapeutico.

Risultati. La percentuale di concordanza nella stratificazione del RCV fra le tre note è $58,1 \pm 3,18\%$ con un coefficiente K di Cohen pari a $0,28 \pm 0,02$. La versione più recente stratifica la maggior parte dei pazienti nella categoria a basso RCV (72% verso 36% del 2011 e 61% del 2007, $p < 0,001$), mentre quella del 2011 includeva la maggior parte dei pazienti nella categoria a rischio moderato (51% vs 22% del 2007 e 26% del 2013, $p < 0,001$) con conseguente possibilità di accesso ad un trattamento in regime di rimborsabilità. La distanza dal target terapeutico aumenta con il progredire della classe di RCV; la maggior parte dei pazienti naïve che le versioni del 2007 e 2011 avrebbero classificato come a rischio moderato (88,64% e 84,28% rispettivamente) presentavano una distanza dal target $< 38\%$ (massima riduzione attesa con una statina di 1° livello).

Conclusioni. Le diverse revisioni della nota 13 categorizzano gli stessi pazienti in differenti classi di RCV con effetti sulla rimborsabilità della terapia ipolipidizzante, che appare particolarmente ridotta nella versione del 2013, nonostante la distanza dal target per molti pazienti naïve classificati come a rischio moderato nelle precedenti versioni (e ri-categorizzate come a basso rischio nell'ultima) risulti tale da potersi avvalere di una statina di 1° livello (a basso costo) per il raggiungimento del target terapeutico.

ATHEROGENIC INDEX OF PLASMA IN A COHORT OF MENOPAUSAL MEDITERRANEAN WOMEN: FINDINGS FROM PROGETTO ATENA

C. Pagano, M. Gentile, V. Cotarelli, M.F. Coppola, R. Maione, G. Marotta, F. Jossa, M. Nunziata, A. Mattiello, S. Panico, P. Rubba

Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, Università di Napoli Federico II, Napoli
E-mail: carmen_pagano@hotmail.it

Atherogenic index of plasma (AIP), a marker of atherogenicity (log triglycerides/HDL Cholesterol) was evaluated in a population-based cohort study in women, aged 30-69, living in the metropolitan area of Naples, Southern Italy (Progetto ATENA). Serum cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Triglyceride, Insulin, HOMA, Apo B, hs-CPR and small dense LDL were measured in 390 menopausal women, as a part of 5.062 participants of the cohort. LDL particle separation was performed by Lipoprint System: seven LDL subfractions were obtained and LDL score (% of sd-LDL particles) calculated.

Women with elevated AIP ($\geq 0,27$, 50° percentile of studied population) had different cardiovascular risk factor (Cholesterol, Triglycerides, Cholesterol LDL, Glucose, Insulin, BMI, LDL score, Systolic blood pressure) significantly ($p < 0,05$) higher as compared to participants with AIP ($< 0,27$).

This finding shows that in this group of menopausal women elevated AIP is associated with different cardiovascular risk factors. AIP could be an useful tool for identification of menopausal women at high risk of cardiovascular disease.

RUOLO DEL POLIMORFISMO ILE148MET DEL GENE PNPLA3 NELLA STEATOSI ASSOCIATA ALLA IPOBETALIPOPROTEINEMIA FAMILIARE

O. Palesano¹, G. Misiano¹, R. Spina¹, V. Valenti¹, I. Altieri¹, V. Ingrassia¹, F. Fayer¹, E. Di Leo², L. Magnolo², I. Minicocci³, A. Di Costanzo, A. Montali³, D. Noto¹, A.B. Cefalù¹, P. Tarugi², M. Arca³, M.R. Averna¹

¹Dipartimento Biomedico di Medicina Interna e Specialistica (DIBIMIS), Università di Palermo; ²Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia; ³Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Università di Roma "La Sapienza"
E-mail: ornellapalesano@hotmail.it

Il gene PNPLA3 è stato associato alla steatosi epatica (NAFLD). Il prodotto del gene, l'adiponutrina, è una proteina di 481 aminoacidi. Il polimorfismo rs738409 (Ile148Met) che è stata correlata al contenuto epatico di grasso. La ipobetalipoproteinemia familiare (FHBL) riconosce diversi geni causali, tra cui prevalentemente APOB, PCSK9 e adesso anche ANGPTL3. Mentre la FHBL legata ad APOB è caratterizzata dalla presenza di steatosi epatica, quella legata a PCSK9 non sembra invece presentare questa caratteristica. Incerto è il caso della FHBL legata a mutazioni del gene ANGPTL3.

Lo scopo del presente studio è stato quello di investigare se il polimorfismo Ile148Met del gene PNPLA3 possa rappresentare un elemento condizionante lo sviluppo della steatosi nella varie forme genetiche di FHBL. A tale scopo lo SNP rs738409 è stato valuta-

to tramite real time PCR con tecnologia TaqMan in 1.008 soggetti normolipemici, 227 soggetti con NAFLD e 142 HBL di cui 79 FHBL.

Il primo risultato è stata la dimostrazione della assenza di maggiore prevalenza del polimorfismo Ile149Met nei soggetti HBL, con presenza della condizione omozigote Met/Met nell'11% dei controlli, nell'8% dei soggetti NAFLD e nel 7% dei soggetti con HBL ($p=ns$). Inoltre, nessuno dei parametri metabolici esaminati era correlato al genotipo rs738409. Infatti colesterolo totale, HDL ed LDL, trigliceridi, glicemia, transaminasi, non risultavano significativamente differenti in soggetti Ile/Ile, Ile/Met o Met/Met secondo il test ANOVA corretto per età e sesso.

La presenza di steatosi non era correlata al polimorfismo Ile148Met nell'intera casistica esaminata, con prevalenze del genotipo Met/Met del 11% dei soggetti senza steatosi e dell'8% ($p=ns$) nei soggetti con steatosi. L'analisi dei sottogruppi non è stata effettuata per la scarsa numerosità del gruppo HBL.

In conclusione il ruolo del polimorfismo Ile148Met non sembra essere rilevante nel determinare la steatosi dei soggetti FHBL.

DETERMINANTS OF EARLY CAROTID ATHEROSCLEROSIS IN HYPERTENSIVE ATRIAL FIBRILLATION PATIENTS

D. Pastori, L. Perri, P. Pignatelli, F. Angelico, M. Del Ben, L. Loffredo, F. Violi

I Clinica Medica, Sapienza Università di Roma

E-mail: daniele.pastori@uniroma1.it

Objectives. Carotid intima-media thickness (cIMT) is a measure of subclinical atherosclerosis and early vascular aging, and is a predictor for myocardial infarction (MI) and stroke. An association between cIMT and the risk of new onset atrial fibrillation (AF) has been described. Factors associated with cIMT in AF patients are unknown.

Methods. We evaluated cIMT in 724 consecutive hypertensive non-valvular AF patients. All patients were treated with oral vitamin K antagonists. For the analyses, we used the mean value of IMT resulting from right and left common carotid arteries.

Results. Mean age was 73.3 ± 8.8 years; 42.7% were females. In the whole cohort mean cIMT was 0.99 ± 0.21 mm. cIMT was correlated with age ($R: 0.253$, $p < 0.001$), systolic blood pressure ($R: 0.115$, $p = 0.010$) and CHA2DS2-VASc score ($R: 0.251$, $p < 0.001$). An increased cIMT was found in patients with previous stroke/TIA (1.04 ± 0.25 vs. 0.98 ± 0.20 , $p = 0.007$) and MI (1.02 ± 0.25 vs. 0.98 ± 0.20 , $p = 0.016$). In a multivariable stepwise linear regression analysis, Age (B: 0.201, $p = 0.003$), Smoking (B: 0.154, $p = 0.019$), History of MI (B: 0.203, $p = 0.002$), Statins (B: -0.171, $p = 0.009$), β blockers (B: -0.161, $p = 0.012$), History of Stroke/TIA (B: 0.153, $p = 0.016$), Persistent/Permanent AF (B: 0.152, $p = 0.019$) were independently associated with cIMT ($R^2 = 0.173$) after adjustment for potential confounders.

Conclusions. In hypertensive AF patients, subclinical atherosclerosis, assessed by cIMT, is associated with previous cardiovascular and cerebrovascular events, smoking and persistent/permanent AF. Statin and β blockers use seems to have a favorable effect on carotid atherosclerosis.

GENETIC CHARACTERIZATION OF LDL-RECEPTOR IN PATIENTS WITH A CLINICAL DIAGNOSIS OF FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA: TWO NOVEL MUTATIONS

C. Pavanello¹, C. Tarlarini², S. Penco², L. Calabresi³, G. Mombelli¹, C.R. Sirtori¹

¹*Centro Dislipidemie, Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano;*

²*S.C. Analisi Chimico Cliniche e Patologia Clinica Dipartimento di Medicina di Laboratorio Ospedale Niguarda Cà Granda, Milano;*

³*Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano*

E-mail: chiara.pavanello@ospedaleniguarda.it

Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominant disorder of lipoprotein metabolism. In the majority of patients, FH is caused by mutations in the gene encoding the low density lipoprotein receptor (LDLR).

Aim of the present study was the characterization of mutations of the LDLR gene in 65 patients with clinical definitions of possible (N=5), probable (N=2) or certain (N=58) FH.

Patients were aged between 9 and 81 years. Plasma LDL cholesterol (LDL-C) level ranged from 168 to 488 mg/dl. LDLR defects were detected in 57 patients, in various regions of the gene with 26% in the LDL binding domain (exons 2-6), 65% in the EGF precursor homology domain (exons 7-14) and 9% in the membrane spanning region (exons 16-17). Two patients were found homozygous for the described mutations V523M and c.2312-3C>A. The most common mutations (E288X, V523M, G549D) were detected in 3 or more unrelated patients. Nonsense mutations accounted for 5.3%, missense for 64.9% and frame-shift mutations for 12.3%. We found one "in frame" deletion (I624del) and 9 (15.8%) intronic mutations.

Two heterozygous mutations were not described before. One of these is a duplication of the nucleotide in 1125 position which causes a frame-shift, ending in a stop at position 5 (p.K376Qfs*5) and one concerns a deletion of an adenine in intron 10 (c.1587-2delA). All genotypes do not significantly differ in plasmatic LDL-C level. Tendon xanthomata were present in 72% of genetically defined FH. Future analyses will be performed on genotype-negative patients to investigate other mutations involved in the development of the FH phenotype (i.e. apoB100, PCSK9, ARH).

CAROTID STIFFNESS IN GLOMERULOPATHIES WITHOUT SEVERELY REDUCED KIDNEY FUNCTION

D. Pazzano¹, M.R. Iannuzzi², A. Iannuzzi³, A. Tortori⁴, L. De Serio⁵, A. D'Angelillo²

¹*Nefrologia e Dialisi, Università di Messina;*

²*Nefrologia e Dialisi, A.O.R.N. Cardarelli, Napoli;*

³*Medicina Interna, A.O.R.N. Cardarelli, Napoli;*

⁴*Seconda Università Napoli;*

⁵*Campus Biomedico, Roma*

E-mail: dario_pazzano@hotmail.it

Background. Arterial stiffness represents one of the strongest markers for the risk of death and cardiovascular outcomes in dialysis patients. The gold standard for assessing arterial stiffness is carotid-femoral pulse-wave velocity (PWV). Recently, the carotid stiffness measured with a radiofrequency ultrasound technique,

was demonstrated to be a valid and reliable independent predictor of cardiovascular disease.

The purpose of this study was to evaluate the carotid stiffness in patients with glomerulopathies and proteinuria but without severely reduced kidney function.

Methods. We enrolled 30 patients with glomerular diseases, proteinuria and GFR > 30 ml/min/1.73 m² (13 membranous glomerulonephritis, 2 minimal change disease, 3 focal and segmental glomerulosclerosis, 5 IgA nephropathy, 5 lupus nephritis, 1 anti-phospholipid antibody nephropathy, 1 cryoglobulinemic glomerulonephritis) and 30 control subjects. A full physical examination was performed in all subjects. The laboratory evaluations included routine hematology, blood chemistry, and urinalysis; carotid intima-media thickness (IMT) and stiffness measurements.

Results. Age, BMI, calcium, phosphorus, parathyroid hormone, Hs-CRP and cholesterol levels were not significantly different in the two groups. Systolic and diastolic blood pressure, triglycerides, HDL-C, glucose, urea, creatinine and uric acid levels were significantly higher in the group of patients with glomerular diseases. Carotid IMT was not statistically different in the two groups (0.69±0.21 in kidney disease patients; 0.64±0.11 mm in controls). Carotid stiffness was significantly higher in patients with glomerulopathies compared with controls (9.0±4.8 vs 5.7±2.2, p<0.01), even after adjustment for age, sex and major cardiovascular risk factors.

Conclusion. This study demonstrated, for the first time, that in subjects with glomerular disease, without severely reduced kidney function, there are signs of altered elastic properties of the arterial wall that may be responsible for a worse cardiovascular prognosis.

ALTERAZIONI ECOCARDIOGRAFICHE IN PAZIENTI CON DIABETE TIPO 2 E STEATOSI EPATICA NON ALCOLICA (NAFLD)

I. Pichiri, A. Mantovani, S. Bonapace, L. Bertolini, L. Zenari, G. Zoppini, E. Bonora, G. Targher
Divisione di Endocrinologia e Malattie Metaboliche, Università ed Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Divisione di Cardiologia e Diabetologia, Ospedale "Sacro Cuore" di Negrar, Verona
 E.mail: isabella.pichiri@univr.it

Background. Alcuni studi epidemiologici hanno recentemente suggerito la presenza di una significativa associazione tra steatosi epatica non alcolica (NAFLD) ed alterata funzionalità cardiaca ventricolare. Inoltre, è stato anche suggerito un possibile legame fra NAFLD ed aumentato rischio di fibrillazione atriale. Abbiamo pertanto valutato se la NAFLD si associava ad una maggior frequenza di disfunzione ventricolare e ad alterazioni dell'atrio sx in pazienti affetti da diabete tipo 2.

Materiale e Metodi. Sono stati studiati 180 pazienti con diabete tipo 2 (M/F=135/45, età =69±6 anni) che erano arruolati consecutivamente fra quelli afferenti presso il Servizio di Diabetologia dell'Ospedale di Negrar (VR) nell'arco di 12 mesi. Tali pazienti dovevano essere clinicamente esenti da cardiopatia ischemica, cardiomiopatia valvolare, epatopatia cronica ed abuso etilico (>20 g/die).

In tutti i partecipanti sono stati eseguiti un test da sforzo al cicloergometro (per escludere la presenza di ischemia miocardica inducibile), una ecocardiografia tissue doppler (eseguita da un unico operatore) mentre la NAFLD è stata diagnosticata mediante ecografia epatica (eseguita da un unico operatore).

Risultati. I pazienti con NAFLD (n=120, 66.7% del totale) avevano valori significativamente più elevati di E/e' (7.3±2.7 vs. 6.9±2, p<0.001), pressione telediastolica ventricolare (18±1.8 vs. 15.9±1.5 mmHg, p<0.001) e volume atriale sx indicizzato (34±10 vs. 30±13 ml/m², p<0.05) rispetto a quelli senza NAFLD (n=60). In particolare, 68% dei pazienti con NAFLD avevano un rapporto E/e' alterato (E/e' >8) rispetto al 14% dei pazienti senza NAFLD (p<0.001). I due gruppi non differivano significativamente per massa cardiaca (117±23 vs. 113±27 g/m²), frazione di eiezione (EF: 63±8 vs. 65±9%) e volume ventricolare telesistolico e telediastolico. La presenza di NAFLD era associata ad un alterato rapporto E/e' (odds ratio [OR] 13.1, 95% CI 5.6-30, p<0.001). Tale associazione rimaneva statisticamente significativa (adjusted-OR 20.6, 95% CI 6.9-61, p<0.001) anche dopo aggiustamento per età, sesso, BMI, durata di diabete, emoglobina glicata, ipertensione arteriosa, frazione di eiezione, massa cardiaca ed uso di farmaci ipoglicemizzanti, anti-ipertensivi, anti-aggreganti ed ipolipemizzanti.

Conclusioni. I risultati di questo studio indicano che in pazienti affetti da diabete tipo 2 privi di cardiopatia ischemica, la presenza di NAFLD si associa indipendentemente ad un'aumentata prevalenza di disfunzione diastolica ventricolare di grado lieve-moderato e lieve aumento del volume atriale sx. Tali alterazioni potrebbero concorrere a spiegare l'aumentato rischio cardiovascolare e di fibrillazione atriale che si osserva nei pazienti con NAFLD. Ulteriori studi sono necessari per definire i possibili meccanismi eziopatogenetici di tale associazione.

Materiale e Metodi. Sono stati studiati 180 pazienti con diabete tipo 2 (M/F=135/45, età=69±6 anni) che erano arruolati consecutivamente fra quelli afferenti presso il Servizio di Diabetologia dell'Ospedale di Negrar (VR) nell'arco di 12 mesi. Tali pazienti dovevano essere clinicamente esenti da cardiopatia ischemica, cardiomiopatia valvolare, epatopatia cronica ed abuso etilico (>20 g/die). In tutti i partecipanti sono stati eseguiti un test da sforzo al cicloergometro (per escludere la presenza di ischemia miocardica inducibile), una ecocardiografia tissue doppler (eseguita da un unico operatore) mentre la NAFLD è stata diagnosticata mediante ecografia epatica (eseguita da un unico operatore).

Risultati. I pazienti con NAFLD (n=120, 66.7% del totale) avevano valori significativamente più elevati di E/e' (7.3±2.7 vs. 6.9±2, p<0.001), pressione telediastolica ventricolare (18±1.8 vs. 15.9±1.5 mmHg, p<0.001) e volume atriale sx indicizzato (34±10 vs 30±13 ml/m², p<0.05) rispetto a quelli senza NAFLD. In particolare, 68% dei pazienti con NAFLD avevano un rapporto E/e' alterato (E/e' >8) rispetto al 14% dei pazienti senza NAFLD (p<0.001). I due gruppi non differivano significativamente per massa cardiaca (117±23 vs 113±27 g/m²), frazione di eiezione (EF: 63±8 vs. 65±9%) e volume ventricolare telesistolico e telediastolico. La presenza di NAFLD era associata ad un alterato rapporto E/e' (odds ratio [OR] 13.1, 95%CI 5.6-30, p<0.001). Tale associazione rimaneva statisticamente significativa (adjusted-OR 20.6, 95%CI 6.9-61, p<0.001) anche dopo aggiustamento per età, sesso, BMI, durata di diabete, emoglobina glicata, ipertensione arteriosa, frazione di eiezione, massa cardiaca ed uso di farmaci ipoglicemizzanti, anti-ipertensivi, anti-aggreganti ed ipolipemizzanti.

Conclusioni. I risultati di questo studio indicano che in pazienti affetti da diabete tipo 2 privi di cardiopatia ischemica, la presenza di NAFLD si associa indipendentemente ad un'aumentata prevalenza di disfunzione diastolica ventricolare di grado lieve-moderato e lieve aumento del volume atriale sx. Tali alterazioni potrebbero concorrere a spiegare l'aumentato rischio cardiovascolare e di fibrillazione atriale che si osserva nei pazienti con NAFLD. Ulteriori studi sono necessari per definire i possibili meccanismi eziopatogenetici di tale associazione.

HIGH CARDIOVASCULAR RISK IN NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE: A POSSIBLE ROLE FOR INCREASED OXIDATIVE STRESS?

L. Polimeni, F. Baratta, D. Pastori, R. Carnevale, S. Bartimoccia, S. Nocella, M. Del Ben, F. Angelico
Department of Internal Medicine and Medical Specialties and Department of Public Health and Infectious Diseases and Sapienza University, Rome
E-mail: licia.polimeni@uniroma1.it

Background. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most emerging form of chronic liver disease worldwide. NAFLD is strongly associated with obesity, insulin resistance, hypertension, and dyslipidaemia, and is now regarded as the liver manifestation of the metabolic syndrome. However, the increased mortality of patients with NAFLD is primarily a result of cardiovascular disease (CVD) and, to a lesser extent, to liver related diseases. Several lines of evidence suggest that chronic oxidative stress may be one of the key mechanisms responsible for liver damage and disease progression in NAFLD. At the same time, there is sound evidence that oxidative stress centrally contributes to atherothrombosis and is involved at all stages of atherosclerotic plaque evolution. Aim of the study was to investigate two markers of systemic oxidative stress - urinary 8-iso-prostaglandin F_{2α} (8-iso-PGF_{2α}) and serum soluble NOX2-derived peptide (NOX2-dp) - and an antioxidant - cholesterol-adjusted serum vitamin E (vit E/chol) - in a large cohort of patients with NAFLD.

Methods. The study was performed in 310 consecutive patients referred for suspected metabolic disease. Patients underwent a liver ultrasonographic scanning (US) and NAFLD was defined according to Hamaguchi US criteria. Serum levels of vitamin E were measured and adjusted for serum cholesterol. In 264 patients with NAFLD oxidative stress was assessed by urinary 8-iso-PGF_{2α} and serum NOX2-dp levels.

Results. Mean age was 53.9 (±12.7) years and 35.8% were female. In 254 (81.9%) patients, US-NAFLD was detected. In 20 NAFLD patients, non-alcoholic steatohepatitis (NASH) was diagnosed at liver biopsy. NAFLD patients (3.4±2.0), as well as those with NASH (3.4±2.6), showed reduced mean vit E/chol levels compared to non-NAFLD patients (4.8±2.0 μmol/mmol chol, p<0.001 and p=0.013 respectively). At multivariable logistic regression analysis, Vit E/chol (OR: 0.724, p=0.002), BMI (OR: 1.175, p=0.002), ALT (OR:1.037, p=0.023), and metabolic syndrome (OR: 3.844, p=0.004) were independent predictors of NAFLD. Serum Vit E/chol levels were not correlated with the US severity of NAFLD. No association was found between serum vit E/chol levels and estimates of dietary vitamin E intake.

Patients with NAFLD had higher (p<0001) mean values of urinary 8-iso-PGF_{2α} and of serum NOX2-dp, ALT, Cytokeratin-18 and homeostasis model of insulin resistance and lower values of serum adiponectin as compared to those without. Prevalence of metabolic syndrome was significantly higher in patients with NAFLD. In addition, the levels of urinary 8-iso-PGF_{2α} were independent predictors of non-alcoholic fatty liver and a strong association of urinary 8-iso-PGF_{2α} and of serum NOX2-dp with the severity of steatosis at ultrasound was also observed.

Conclusions. Subjects with NAFLD and NASH have similarly reduced serum levels of vit E/chol and an increased NOX2-generated oxidative stress compared to non-NAFLD patients. Thus, patients with NAFLD/NASH could have an antioxidant/oxidant status imbalance. These findings may further contribute to a better understanding of the association between NAFLD and CVD.

SKI-II, A SPHINGOSINE KINASE 1 AND 2 INHIBITOR, AFFECTS THE DEVELOPMENT OF ATHEROSCLEROSIS IN LOW-DENSITY LIPOPROTEIN RECEPTOR-DEFICIENT MICE

F. Poti, S. Becker, U. Ceglarek, M. Simoni, J.-R. Nofer
Department of Biomedical, Metabolic and Neural Sciences, University of Modena and Reggio Emilia, Modena; Institute for Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Laboratory Diagnostics, University of Leipzig, Leipzig, Germany; Center for Laboratory Medicine, University Hospital Münster, Münster, Germany
E-mail: fra.poti@libero.it

Background. Numerous in vitro studies suggest that sphingosine 1-phosphate (S1P), a bioactive lysosphingolipid associated with high-density lipoprotein (HDL), accounts at least partly for the potent anti-inflammatory properties of this lipoprotein and, thereby, contributes to the anti-atherogenic potential attributed to HDL. The present study was undertaken to investigate whether a reduction in S1P plasma levels would affect atherosclerosis in a murine model of disease.

Methods and Results. Low-density lipoprotein receptor (LDL-R)-deficient mice on a Western diet containing 0,25% w/w or 1,25% w/w cholesterol were given SKI-II, a synthetic inhibitor of sphingosine kinase 1 and 2 (panSK-inhibitor), for 16 weeks at a dose (50 mg/kg thrice a week) previously shown to reduce tumor mass in mice or vehicle only. Preliminary results demonstrated that treatment with SKI-II reduces plasma S1P concentration by approximately 30%. At the end of the treatment, blood, internal organs and aortas were collected and atherosclerotic plaque area was analyzed by Oil Red O staining of the "en face" prepared aortas. SKI-II significantly increased atherosclerotic lesion formation in the thoracic aorta only in mice fed with high cholesterol diet (29,12±7,65 vs 20,75±6,12% plaque/total area; p<0,05). Except for triglycerides, which were decreased in SKI-II-treated mice, administration of this compound failed to affect plasma lipids as well as body weight and cell blood counts. Mice receiving SKI-II showed elevated plasma levels of TNFα, sICAM1, and sVCAM1 as compared to untreated animals. By contrast, plasma MCP1 concentrations were lower in SKI-II-treated mice.

Conclusions. Our preliminary results suggest that the prolonged lowering of endogenous S1P levels in plasma with panSK-inhibitor SKI-II leads to pro-inflammatory and pro-atherogenic effects only in LDL-R-deficient mice fed very high cholesterol diet.

PREVALENZA DI IPERCOLESTEROLEMIA IN UNA COORTE DI PAZIENTI AFFETTI DA IPERTROFIA CONCENTRICA VENTRICOLARE SINISTRA

M. Pulicanò¹, E. Librandi², A. Noto², V. Spagnuolo²
¹Studente Scienze Infermieristiche Università degli Studi di Catanzaro; ²U.O.C. di Medicina Interna, SO "Annunziata", A.O. di Cosenza
E-mail: vitalianos@yahoo.com

Lipertrofia concentrica ventricolare sinistra rappresenta un fattore di rischio consistente per futuro sviluppo di cardiopatia ischemica. La riduzione dei valori di pressione arteriosa e di ipertrofia ventricolare è associata ad una riduzione del rischio di circa il 25%. Per

ottenere una maggiore significativa riduzione del rischio residuo è necessario correggere gli altri fattori associati. In particolare la correzione dell'ipercolesterolemia permette la riduzione di oltre il 35% del rischio residuo.

Abbiamo voluto valutare la prevalenza di ipercolesterolemia [LDL > 115 mg/dl (in accordo alle linee guida per l'ipertensione arteriosa ESH/ESC del 2013)] in una coorte di pazienti affetti da cardiopatia ipertensiva (massa ventricolare sinistra > 115 g/m² nei maschi e di 95 g/m² nelle femmine e (PWT+IVST)/LVTDD ≥ 0.42). I primi cento pazienti affetti da ipertrofia concentrica del ventricolo sinistro sono stati sottoposti al dosaggio dei valori di LDL colesterolo. Il 54% dei pazienti erano di sesso maschile. L'età media era di 61.4 ± 14.3 anni. Il 66% dei pazienti presentavano valori di LDL > 115 mg/dl (valori medi di 126.4 ± 34.95 mg/dl).

I nostri dati mostrano un'ampia prevalenza di ipercolesterolemia in questi soggetti che presentano un elevato rischio cardiovascolare. In tali pazienti ad alto rischio è quindi indispensabile un approccio terapeutico adeguato non solo alla correzione dei valori di pressione arteriosa e all'alterazione del pattern geometrico ma anche alla riduzione dei valori di LDL colesterolo nella prevenzione della cardiopatia ischemica.

MUTATIONS OF GPIHBP1 GENE IN FAMILIAL CHYLOMICRONEMIA

C. Rabacchi¹, P.S. Buonomo², S. Calandra³

¹Dipartimento Scienze della Vita, Università di Modena e Reggio Emilia; ²Ospedale Bambino Gesù, Roma;

³Dipartimento Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Università di Modena Reggio Emilia
E-mail: claudio_rabacchi@hotmail.it

Background. Familial chylomicronemia (FChyl) is a genetic defect of the intravascular lipolysis of triglyceride (TG)-rich lipoproteins. Intravascular lipolysis involves not only the TG-hydrolase lipoprotein lipase (LPL) but also other factors as apolipoprotein CII and apolipoprotein AV (activators of LPL), GPIHBP1 (the molecular platform required for LPL activity on endothelial surface) and LMF1 (a factor required for intracellular formation of active LPL). FChyl may result from mutations in any of these genes.

Material and Methods. We sequenced the candidate genes in a neonate with FChyl.

Results. A 3 days-old newborn was found to have chylomicronemia (plasma TG 18 mmol/L). The discontinuation of breastfeeding for 24 hours reduced plasma TG to 2.3 mmol/L, while its resumption induced a sharp TG increase (7.9 mmol/L). The child was switched to a low fat diet which was effective in maintaining TG level below 3.5 mmol/L during the first three months of life. Molecular studies revealed that the child was a compound heterozygous for two novel mutations in GPIHBP1 gene. The first mutation was a 9 bp deletion and 4 bp insertion in exon 2 causing a frameshift which abolished the canonical termination codon TGA. The predicted translation product of the mutant mRNA is a peptide which contains 51 amino acids of the N-terminal end of the wild type protein followed by 252 novel amino acids. The second mutation was a nucleotide change (c.319 T>C), causing an amino acid substitution p.(Ser107Pro) predicted in silico to be damaging. The patient's mother was heterozygous for the del/ins mutation and the father was heterozygous for the p.(Ser107Pro) substitution. Both parents had a normal plasma lipid profile.

Conclusions. These mutations are added to the list of 15 loss of function mutations of GPIHBP1 reported so far in patients with Familial Chylomicronemia.

SAXAGLIPTIN MIGLIORA LE ALTERAZIONI VASCOLARI E LO STRESS OSSIDATIVO NELLE PICCOLE ARTERIE DI UN MODELLO MURINO DI DIABETE TIPO 2

C. Rossi, U. Dell'Agnello, E. Duranti, E. Santini, A. Virdis, A. Solini
Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale,
Università di Pisa
E-mail: rossi.chiara@gmail.com

Introduzione. Il topo db/db manifesta disfunzione endoteliale a livello delle piccole arteriole di resistenza. I DPP-4 inibitori esercitano proprietà antinfiammatorie ed antiossidanti. Abbiamo valutato gli effetti di saxagliptina (Saxa) sul rimodellamento vascolare e sulla disfunzione endoteliale nelle arterie mesenteriche dei db/db. **Metodi.** Topi db/db e wild-type sono stati trattati con Saxa, metformina o veicolo, valutando struttura e funzione vascolare con miografo pressurizzato e misurando l'espressione di enzimi coinvolti nel tono vascolare in realtime PCR e WB.

Risultati. Met e Saxa riducevano la glicemia in modo analogo, ma Met non mostrava alcun effetto vascolare. I db/db, rispetto ai Ctrl, mostravano un aumentato rapporto media/lumen (M/L: 7.3 ± 0.1% vs 5.9 ± 0.1%), e una più estesa area cross-sectional della media (MCSA: 10.5 ± 2.6 vs 8.7 ± 1.3 μm² × 10³); queste alterazioni nei db/db erano in parte prevenute da Saxa (M/L: 6.4 ± 0.1%; MCSA: 9.4 ± 1.6 μm² × 10³). Nei db/db, la vasodilatazione all'Ach risultava ridotta (69.4 ± 1.4% vs 96.6 ± 0.4%) ed era lievemente influenzata da L-NAME (inibizione: -5 ± 1.8% db/db vs -39 ± 0.5%). I trattamenti con inibitori selettivi di COX-1 (SC-560) e COX-2, antagonista del recettore per il trombossano (SQ-29548) e acido ascorbico risultavano inefficaci nei Ctrl, mentre nei db/db solo SC-560 (80.9 ± 0.3%), SQ-29548 (81.6 ± 0.6%) e acido ascorbico (98.6 ± 0.4%) miglioravano la risposta all'Ach. Saxa non alterava le risposte vascolari nei Ctrl, ma migliorava il rilasciamento all'Ach (84.9 ± 0.4%) nei db/db e ripristinava parzialmente l'inibizione operata da L-NAME (60.4 ± 0.4%; inibizione: -24.5 ± 0.5%); inoltre rendeva inefficaci le pre-incubazioni con SC-560 e SQ-29548. Sia nei wt che nei db/db Saxa non modificava l'espressione delle ciclossigenasi né di iNOS; eNOS, maggiormente espresso nelle arterie dei db/db, risultava down-regolato del 50 ± 15% dopo trattamento con Saxa. **Conclusioni.** Saxa migliora il rimodellamento vascolare e la disfunzione endoteliale nelle arteriole di resistenza dei db/db indipendentemente dalla riduzione della glicemia, verosimilmente attraverso una consistente riduzione dello stress ossidativo, un ripristino della biodisponibilità di NO ed una riduzione dell'attività vasocontrittiva COX-1-dipendente.

SCREENING OF LPL, APOAV, APOC2, GPIHBP1 AND LMF1 GENES IN PATIENTS WITH SEVERE HYPERTRIGLYCERIDEMIA

A. Ruotolo^{1,2}, C. Giacobbe^{1,2}, M.D. Di Taranto³, M. Malamisura⁴, R. Auricchio⁴, C. Pagano⁵, G. Marotta⁵, P. Rubba⁵, G. Fortunato^{1,2}

¹CEINGE S.C.a.r.l. Biotecnologie Avanzate, Napoli;

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

³IRCCS Fondazione SDN, Napoli; ⁴Dipartimento di Scienze

Mediche Traslazionali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; ⁵Dip. di Medicina Clinica e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli

E-mail: ruotolo.anna@hotmail.it

Introduzione. Familial Severe Hypertriglyceridemia (HTG) is a rare autosomal recessive disorder characterized by high plasma

levels of triglycerides (TG>10. mmol/L), eruptive xanthomas, li-paemia retinalis and recurrent pancreatitis, with a population prevalence of approximately one in a million.

HTG is caused by mutations in five different genes: Lipoprotein lipase (LPL), Apolipoprotein A-V (APOA5), Apolipoprotein C-II (APOC2), Glycosyl-phosphatidyl-inositol-anchored HDL-binding protein (GPIHBP1), and Lipase maturation factor-1 (LMF1). We aim to screen LPL, ApoA5, ApoC2, GPIHBP1 and LMF1 genes in patients with severe HTG.

Materials and Methods. We studied 21 patients with a severe HTG. After genomic DNA extraction from peripheral blood samples, the promoter and 10 exons of the LPL gene, the exons of ApoA5, ApoC2, LMF1 and GPIHBP1, were amplified by PCR and directly sequenced. For detection of large rearrangements, copy number quantification of the 10 exons of the LPL gene was performed by the SALSA MLPA kit (MRC-Holland).

Results. In LPL gene we found: two known mutations, at heterozygous state (c.809G>A-p.Asp207Glu and c.Asp207Glu-p.Arg270His) in 3/21 patients; two new variants, at heterozygous state, in 1/21 patients. In another patient we identified a new variant in LPL gene and a known mutation (c.122A>C-p.Lys41Thr) in ApoC2 gene, both at heterozygous state. No large rearrangements were identified in LPL gene and no other mutations were found in ApoA5 gene. Furthermore in ApoA5 gene we have found 5 SNPs which are associated with high levels of triglycerides (rs662799, rs651821, rs3135506, rs143292359, rs2266788). The screening of LMF1 and GPIHBP1 genes is still in progress.

Conclusions. In our population we found a mutation frequency of about 25%, confirming that the LPL gene is the most frequently mutated in HTG. The high heterogeneity of the HTG and the incomplete knowledge of the genetic of this disease recommended a deep genetic screening for the identification of new variants.

STAT3 INHIBITION INDUCES PCSK9 IN HEPATIC CELL LINE: POSSIBLE INVOLVEMENT IN HYPERTRIGLYCERIDEMIA ASSOCIATED WITH INSULIN RESISTANCE

M. Ruscica, C. Ricci, C. Macchi, P. Magni, A. Corsini, N. Ferri
Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; Multimedica IRCCS, Milano; Centro Dislipidemie, A.O. Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano
E-mail: nicola.ferri@unimi.it

PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9) regulates the circulating low-density lipoprotein cholesterol (LDL) levels by inducing LDL receptor (LDLR) degradation. However, PCSK9 levels are positively correlated with insulin resistance, liver steatosis and plasma very low density lipoprotein-triglycerides (VLDL-TG) concentrations. This evidence suggests that PCSK9 could also be implicated in lipid homeostasis. Chronic inflammation, associated with elevated circulating cytokines, and hepatic overexpression of suppressor of cytokine signaling (SOCS) proteins, are major determinants of hypertriglyceridemia associated to insulin resistance. In the present study, we have investigated the role of SOCS3 in the transcriptional regulation of PCSK9 in HepG2 cell line. As expected, forced overexpression of SOCS3 determined a complete abrogation of STAT3 phosphorylation, associated to:

1. induction of fatty-acid synthase mRNA levels (3.59±0.40 fold);
2. activation of SREBP transcriptional activity (1.58±0.15 fold);
3. increase apoB production (3.47±0.09 fold).

SOCS3 overexpression also determined a significant increase

of PCSK9 mRNA (7.82±1.73 fold) and protein, determined by Western blot analysis and ELISA assay (2.18±1.13 fold) without significant changes of HMG-CoA reductase and LDLR levels as well as of cholesterol biosynthesis. Pharmacological inhibition of STAT3 or JAK proteins also induced PCSK9 levels by 2.06±0.75 and 3.30±0.3 fold, respectively. Interestingly, insulin significantly induced STAT3 phosphorylation, fatty-acid synthase and PCSK9 mRNA levels to a similar extent in both control and SOCS3-over-expressing cells, although the overall mRNA levels of PCSK9 and fatty-acid synthase were significantly higher in HepG2 SOCS3 cells. In conclusion, we provided evidence that biological and/or pharmacological inhibition of the JAK/STAT pathway increased PCSK9 levels, both in the absence and in the presence of insulin stimulation, a possible determinant of PCSK9 transcription in insulin resistant patients.

EVALUATION OF AGREEMENT AMONG CARDIOVASCULAR RISK CALCULATORS AND THEIR CORRELATION WITH ARTERIAL STIFFNESS IN CLINICAL PRACTICE

D. Santovito, C. Paganelli, C. Mazzocchetti, G. Giammichele, M. Pagnottella, C. De Simone, A. D'Angelo, D. Di Marco, M. Bucci, F. Cipollone
European Center of Excellence on Atherosclerosis, Hypertension and Dyslipidemia, and Clinical Research Center, Center of Excellence on Aging; "G. d'Annunzio" University, Chieti-Pescara
E-mail: donato.santovito@gmail.com

Background. Evaluation of global cardiovascular risk using cardiovascular disease risk calculators is usually recommended by the main guidelines for cardiovascular prevention. Differences in risk estimation could result in changes in clinical management of the patients, but evidence on the consistency in risk assessment among different calculators and their correlation with marker of arterial stiffness are still far to be fully elucidated.

Methods. We enrolled 1000 patients with cardiovascular risk factors but without history or evidence of previous cardio- or cerebrovascular events. The patients were evaluated for the first time in our center for atherosclerosis prevention, cardiovascular risk was estimated by using 22 pre-selected and validated calculators and Pulse Wave Velocity and Augmentation Index were evaluated with an oscillometric technique (Vicorder, Medgraphic Italia).

Results. The overall consistency among the cardiovascular risk calculators was globally low both as evaluated by percentage of agreement (44.7±3.7%) or as Cohen's K value (0.218±0.042). The low consistency was reflected by the different categorization of patients in risk classes, with the "progetto Cuore" and the "SCORE" including significantly more patients in the low-risk category (73.6% and 60.1%, respectively, p<.001), and with the "ATP-IV" classifying more patients in the high-risk and very-high-risk groups (13.8% and 40.8%, respectively). A significant correlation between PWV and the cardiovascular risk class was found for the "progetto Cuore" calculator (Spearman's rho: 0.209, p<.001). Furthermore, this latter calculator showed a significant discriminant power for diagnosis of presence of arterial stiffness (best sensitivity: 62.2%; best specificity: 68.2%; AUROC: 0.637, p<.001) and patients in the non-low-risk class showed an odds ratio for arterial stiffness of 3.516 (95% CI: 1.671-7.401)

Conclusions. Our data support an overall disagreement among the different cardiovascular risk calculators resulting in different classification of patients in risk groups with potential consequences in clinical management of patients. The "progetto Cuore" algo-

rhythm resulted to be correlated with the presence of subclinical organ damage. These results suggest that the adoption of a single calculator for estimating cardiovascular risk deriving from the autochthonous population could result in a less confusing and more reliable classification of patients in cardiovascular risk classes.

MEAN PLATELET VOLUME IN ACUTE CORONARY SYNDROME PATIENTS: ROLE OF A GENETIC VARIANTS IN CHR7Q22.3, 12Q24.31 AND CHR3P13-P21

C. Saracini^{1,2,3}, R. Marcucci^{1,2,3}, S. Galora^{1,2,3}, A.M. Gori^{1,2,3,4}, F. Cesari^{2,3}, N. Maggini^{2,3}, R. Valenti³, G. Parodi³, G.F. Gensini^{1,3,4}, D. Antonucci³, R. Abbate^{1,2,3}, B. Giusti^{1,2,3}

¹Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; ²Atherothrombotic Diseases Center, Careggi Hospital; ³Department Heart and Vessel, Careggi Hospital; ⁴Don Carlo Gnocchi Foundation, Florence
E.mail: saracini.claudia@gmail.com

Introduction. Several studies have shown a strong correlation between mean platelet volume (MPV), platelet count (Plt) and numerous clinical conditions. An MPV increase is a predictor of adverse clinical events in coronary disease.

Materials and Methods. Aim of this study was to evaluate the role of rs342293 (chr7q22.3), rs12485738 (chr3p13-p21) and rs7961894 (12q24.31) polymorphisms in determining MPV and Plt in a cohort of 1,433 subjects with acute coronary syndrome (ACS).

Results. The rs12485738 polymorphism did not show any significant association with blood parameters MPV and Plt rs342293 G allele carriers showed increased MPV values compared to homozygous CC [9.7 (6-13.9) vs 9.2 (6.2-13.8) fL, p=0.001]; Plt was significantly reduced in G allele carriers compared to homozygous CC [215 (8-805) vs 226 (49-1360) plateletsx10³/μL, p=0.013]. Concerning rs7961894 polymorphism, MPV value was higher in T allele carriers than CC patients [9.6 (6.8-13.8) vs 9.15 (6.0-13.9) fL, p=0.010]; Plt value was higher in T allele carriers than CC wild-type homozygous [213 (60-1360) vs 221 (8-805) plateletsx10³/μL, p=0.022]. At multiple logistic regression analysis adjusted for age, sex, and Plt or MPV: rs342293 and rs7961894 polymorphisms were significant and independent determinants of MPV (Beta=0.381, SE=0.123, p=0.002 and Beta=0.297, SE=0.125, p=0.018), and the status of rs342293 G allele carriers was a significant and independent determinant of Plt (Beta=-12.3, SE=5.66, p=0.030).

Our results extend in ACS patients the role of rs342293 and rs7961894 polymorphisms on MPV and Plt phenotypes.

LA TERAPIA CON LDL AFERESI RIDUCE L'INCIDENZA DEGLI EVENTI CARDIOVASCOLARI MAGGIORI - 20 ANNI DI ESPERIENZA

F. Sbrana, F. Bigazzi, B. Dal Pino, M. Puntoni, M. Pianelli, R. Luciani, A. Ripoli, T. Sampietro
Fondazione Toscana Gabriele Monasterio, Pisa
E-mail: francesco.sbrana@ftgm.it

Scopo dello studio. La LDL aferesi (LA) è ad oggi è indicata nell'ipercolesterolemia familiare omozigote, nelle forme di ipercolesterolemie familiare resistenti e/o intolleranti alla terapia farma-

cologica e nell'iper Lp(a) associata a malattia aterosclerotica. Lo scopo del nostro studio è stato quello di analizzare l'incidenza degli eventi cardiovascolari maggiori (MACE) nei soggetti in trattamento cronico di LA presso il nostro Centro dal 1994.

Materiali e Metodi. Durante il periodo in esame 30 pazienti (età media 62±8 anni, maschi 73%) affetti da ipercolesterolemia familiare (17/30 FH, 13/30 FCH) in terapia ipolipemizzante massimale, con storia di malattia cardiovascolare sono stati sottoposti a LA presso il nostro Centro con cadenza bisettimanale (sistema Liposorber®-LA systems; Kaneka, Osaka, Japan o HELP®, Plasmal-Futura®; B|Braun, Melsungen, Germany in accordo con le caratteristiche cliniche del paziente). Elevati livelli di Lp"a (>60 mg/dl) erano presenti in 16/30 soggetti. La media del trattamento di LA era di 5 anni (range interquartile 3-8 anni). La malattia coronarica era stata diagnostica ad un'età media di 44±8 anni. Non rilevanti comorbidità erano presenti. L'incidenza di MACE (morte per cause cardiovascolari, accidenti cerebro-vascolari, infarto miocardico non fatale, rivascolarizzazione coronarica chirurgica o percutanea) è stata valutata nei 5 anni precedenti (media 5 anni; range interquartile 3-8 anni) e durante il periodo di trattamento di LA.

Risultati. Il n. di MACE rilevati sono stati 70 nei 5 anni precedenti l'inizio del LA e 15 durante il periodo di trattamento. Gli eventi per paziente registrati nei 5 anni precedenti all'inizio del LA sono stati 2 [1 - 3] rispetto a 0 [0-1] durante il periodo di LA (p<0.001, Mann-Whitney test).

Degli eventi registrati nel follow-up, 7/15 sono stati evidenziati nei primi 5 anni, 2/15 tra il sesto e il decimo anno e 6/15 oltre il decimo anno. 5/15 erano infarti del miocardio, 2/15 sono stati decessi per causa cardiovascolare registrati entro un anno dall'inizio del trattamento di LA in pazienti che già presentavano angina a riposo prima di intraprendere il trattamento di LA, e 2/15 sono stati attacchi ischemici transitori in soggetti che precedentemente all'inizio del LA avevano presentato un evento ischemico cerebrale. È rilevante che 6/15 MACE registrati nel follow-up erano secondari a restenosi intrastent e non a progressione della malattia coronarica.

Conclusioni. I nostri dati confermano che l'incidenza dei MACE è significativamente ridotta nei soggetti affetti da ipercolesterolemia familiare severa dopo l'inizio della terapia di LA.

ALTERAZIONI LIPIDICHE ED EPATICHE IN SOGGETTI CON PREDIABETE IDENTIFICATO IN BASE ALL'EMOGLOBINA GLICATA

R. Scicali, S. Calanna, A. Di Pino, S. Piro, K.F. Knop¹, F. Purrello
U.O.C. di Medicina Interna, Ospedale Garibaldi Nesima,
Dipartimento di Biomedicina Clinica e Molecolare,
Università degli Studi di Catania; ¹Diabetes Research Division,
Gentofte Hospital, Copenhagen, Denmark
E-mail: robyone.scicali@hotmail.it

Scopo dello studio. Abbiamo studiato le alterazioni lipidiche e la presenza di steatosi epatica in pazienti con prediabete identificato dai valori di emoglobina glicata (HbA1c) secondo i nuovi criteri ADA.

Metodi e Risultati. Abbiamo studiato 208 soggetti, divisi, in base ai valori di HbA1c, in soggetti con prediabete (HbA1c 5,7-6,4%, n=91), pazienti con diabete di tipo 2 di neo diagnosi (HbA1c ≥ 6,5%, n=50), e soggetti di controllo (HbA1c <5,7%, n=67). Sono stati eseguiti in tutti i soggetti esami ematochimici per il profilo lipidico, l'analisi di bioimpedenza, l'ecografia del fegato.

È stata inoltre indicizzata la quantità di grasso nel fegato mediante il fatty liver index (FLI) e calcolato il BARD score (body mass index, aspartate aminotransferase/alanine aminotransferase ratio, diabetes), per la valutazione della fibrosi epatica.

Rispetto ai controlli, i soggetti con prediabete sono stati caratterizzati da: minori livelli di apolipoproteina AI e colesterolo HDL, maggiori livelli di trigliceridi e aumentato rapporto apolipoproteina B/apolipoproteina AI, maggiore FLI, aumento della prevalenza steatosi epatica di grado severo, simile score BARD, e una maggiore massa totale di grasso corporeo.

In confronto ai soggetti con diabete, i soggetti con prediabete esibivano simile rapporto apolipoproteina B/apolipoproteina AI, simile FLI, ridotta prevalenza di steatosi epatica di grado severo, punteggio BARD più basso. Inoltre, l'emoglobina glicata era correlata con l'indice di massa corporea (body mass index BMD), l'insulino-resistenza (HOMA-IR), i trigliceridi, il colesterolo HDL e le transaminasi (AST e ALT).

Conclusioni. I soggetti con prediabete identificati secondo i valori di emoglobina glicata, sono caratterizzati da anomalie nel profilo lipidico e steatosi epatica, mostrando quindi un profilo di rischio grave per le malattie cardiovascolari e del fegato.

EVALUATION OF TWO METHODS FOR LIPOPROTEIN(A) DETERMINATION: PRELIMINARY RESULTS

A. Sereni¹, R. Marcucci¹, A. Rogolino², A.P. Cellai², A. Alessandrello Liotta², A. Kura¹, R. Abbate¹, A.M. Gori^{1,3}
¹Department, Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; ²Careggi Hospital, Florence; ³Don Carlo Gnocchi Foundation, Florence
 E-mail: serentialice@gmail.com

Lp(a) is a molecule formed by the assembly of apolipoprotein B100 with apolipoprotein (a) [apo(a)]. Apo(a) is characterized by variable number of kringle 4 type2 repeats, which accounts for the apo(a) size variation. This apo(a) size variation constitutes a serious challenge for the measurement of Lp(a) levels, as the reactivity of the antibodies directed to the repeated antigenic sites of apo(a) K4 type2 will vary depending on the size of apo(a). The aim of this study was to compare two commercial methods for Lp(a) determination in a selected population of patients referred to Thrombosis Centre (Florence, Italy).

We determined Lp(a) levels by using an immunoturbidometric assay, Lp(a) Randox and an immunonephelometric system, LPAX IMMAGE (Beckman Coulter). In 90 patients the deming regression showed a slope value of 1.36 (95% CI 1.04-1.67) with an intercept of -121.85. In patients with Lp(a) values <500 mg/L and >500 mg/L the slope values were 1.36 (95% CI 1.02-1.70, intercept of -49.21) and 1.74 (95% CI 0.96-2.52, intercept-566.51) respectively. Using 500 mg/L as cut-off value, Lp(a) Randox detected 53 (58.9%) patients with Lp(a) >500 mg/L and LPAX IMMAGE detected 58 (64.4%) patients.

By using Lp(a) Randox as reference method, 85/90 (94.4%) samples were concordant, with 32/37 (86.5%) patients with Lp(a) <500 mg/L and 53/53 (100%) with Lp(a) >500 mg/L. A significant good agreement between the two assays was observed ($\kappa=0.88$, SE 0.05, $p<0.0001$), but 13.5% of patients with Lp(a) <500 mg/L were discordant. Our results demonstrate that the choice of the assay for Lp(a) determination may affect the identification of patients with high levels of Lp(a). A proper evaluation of the Lp(a) levels is required in order to ameliorate the clinical risk assessment and the pharmacological approach.

HIGH LIPOPROTEIN(A) LEVELS ARE ASSOCIATED WITH CORONARY CALCIUM SCORE IN THE MONTIGNOSO STUDY POPULATION

A. Sereni¹, A.M. Gori^{1,2}, R. Marcucci¹, B. Giusti¹, F. Sofi¹, D. Chiappino³, D. Della Latta³, R. Abbate¹, G.F. Gensini^{1,2}
¹Dept, Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; ²Don Carlo Gnocchi Foundation, Florence; ³Gabriele Monasterio Foundation Regione Toscana CNR, Pisa
 E-mail: serentialice@gmail.com

Different studies showed a causal role of lipoprotein(a) [Lp(a)] in the pathogenesis of atherosclerosis and cardiovascular diseases. Aim of this study was to evaluate the association between Lp(a) levels and coronary artery calcium score (CACS) in the prospective general population study "Montignoso Study".

In 298 subjects (M 224/F 74 median age 69) we studied CACS Agatston score (CACSag) Agatston score, Calcium Volume Score (CVS) and Lp(a) levels. We used an isoform-insensitive immuno-reactivity to apo(a) method (Randox). High Lp(a) levels were defined values ≥ 500 mg/L.

Subjects with CACSag>100 (n=149) had significantly higher Lp(a) levels than subjects with CACSag \leq 100 (n=149) [124.0 (63.0-384.0) vs 101.0 (55.0-183.5) mg/L, $p=0.015$]. Similarly, Lp(a) levels in subjects with CVS>100 were significantly higher than in subjects with CVS \leq 100 [124.0 (61.5-382.5) vs 97.0 (56.1-185.3) mg/L, $p=0.023$]. A higher percentage of subjects with Lp(a)>500 mg/L was observed in CACSag>100 than in CACSag \leq 100 subjects (20.8% vs 8.7%, $p=0.003$).

At regression logistic analysis adjusted for age, sex, cardiovascular risk factors Lp(a) levels ≥ 500 mg/L were significantly associated with CACSag >100 [OR=2.56 (95% IC 1.25-5.28), $p=0.011$]. Similarly, the logistic regression analysis showed that Lp(a) levels ≥ 500 mg/L were significant predictors of CVS>100 [OR=2.50 (95% IC 1.22-5.16), $p=0.013$]. Our results showed a significant association between high levels of Lp(a) and CACS, suggesting a significant role of Lp(a) in atherosclerosis.

ROLE OF RS4988300 AND RS3781590 LRP5 GENE AND RS1466535 LRP1 GENE POLYMORPHISMS IN THE COHORT OF THE PROSPECTIVE MONTIGNOSO STUDY

A. Sereni¹, B. Giusti^{1,2,3}, F. Sofi^{1,4,5}, C. Saracini^{1,2}, S. Galora¹, R. De Caro¹, D. Della Latta⁶, D. Chiappino⁶, R. Abbate^{1,2,3}, G.F. Gensini^{1,3,5}
¹Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; ²Atherothrombotic Diseases Center, Careggi Hospital; ³Department Heart and Vessel, Careggi Hospital, ⁴Agency of Nutrition, Careggi University Hospital, Florence; ⁵Don Carlo Gnocchi Foundation, Florence; ⁶G. Monasterio Foundation CNR - Regione Toscana, Pisa
 E-mail: serentialice@gmail.com

Atherosclerosis with its manifestations: coronary artery, cerebrovascular, peripheral arterial occlusive disease and abdominal aortic aneurysm (CAD, PAOD, CVD, AAA) is a multifactorial conditions in which environmental and genetic factors are involved.

Polymorphisms in two members of the low density lipoprotein receptor (LDLR) family were demonstrated to be susceptibility factor for AAA: rs4988300 and rs3781590 in LRP5 and rs1466535 in LRP1 gene. We aimed to evaluate the role of rs4988300 and rs3781590

LRP5 and rs1466535 LRP1 polymorphisms as determinants of atherosclerotic manifestations in the cohort of the prospective Montignoso study (n=1514). In particular, we studied their association with PAOD, CAD, and glucose levels.

At the multivariate logistic regression analysis, adjusted for traditional cardiovascular risk factors, the status of rs3781580 LRP5 homozygous carrier was a significant and independent determinant of PAOD [OR=2.44 (95% CI=1.11-5.37), p=0.026], and the status of rs3781580 LRP5 carrier (heterozygotes+homozygotes) was a significant and independent protective factor of acute myocardial infarction (AMI) [OR=0.54 (95% CI=0.29-0.97), p=0.039]. Similar result was observed for the status of carrier of the rs4988300 polymorphism and AMI [OR=0.55 (95% CI=0.30-1.02), p=0.057]. Concerning the rs1466535 LRP1 polymorphism, no association was observed with atherosclerotic manifestations evaluated. Interestingly, the presence of rs4988300 LRP5 was associated with significantly (p=0.012) reduced baseline glucose levels [GG=100 (70-242), GT+TT=98 (58-392)].

Our results indicated that LRP5 polymorphisms might have different role in different arterial districts affecting, at least in part, the glucose metabolism.

CARDIOVASCULAR BENEFITS FROM OLD GRAIN VARIETIES: FINDING FROM A DOUBLE-BLINDED RANDOMIZED CONTROLLED DIETARY TRIAL

A. Sereni¹, F. Sofi^{1,3}, E. Pellegrino⁴, A.M. Gori¹, A. Casini², R. Abbate¹, G.F. Gensini^{1,3}, E. Bonari⁴

¹Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; ²Unit of Clinical Nutrition, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Florence;

³Don Carlo Gnocchi Foundation, ONLUS IRCCS, Florence;

⁴Institute of Life Sciences, Scuola Superiore Sant'Anna, Pisa
E-mail: serenialice@gmail.com

Background and Aim. Ancient grains have been recently shown to have some beneficial effects on health. Aim of this study was to evaluate the effect of a replacement diet with bread derived from 3 different ancient grain varieties on cardiovascular risk profile.

Methods. Forty-five subjects (median age 50.1 years) were included in a randomized, double-blinded cross-over trial. Participants were assigned to consume bread obtained by 3 ancient (Verna, Gentil Rosso, Autonomia B) and 1 modern variety of grain for 8 weeks in a random order. A 8 week washout period was implemented between the two interventions. Blood analyses were performed at the beginning and at the end of each intervention phase. Endothelial Progenitor Cells (EPCs), Circulating Progenitor Cells (CPCs) and Circulating Endothelial Cells (CECs) were assessed using flow cytometry.

Results. Consumption of bread obtained by the old varieties reported a significant amelioration of some cardiovascular parameters. Indeed, "Verna" variety determined a significant reduction of total cholesterol (pre: 214.5 mg/dL vs post: 208 mg/dL; p=0.03), low density lipoprotein (LDL)-cholesterol (pre: 132.9 mg/dL vs post: 127.8 mg/dL; p=0.03) and blood glucose (pre: 0.89 g/L vs post: 0.84 g/L; p=0.003) whereas "Gentil Rosso" and "Autonomia B" determined a significant reduction of total cholesterol (pre: 218.6 mg/dL vs post: 201.6 mg/dL; p=0.001) and LDL-cholesterol (pre: 130.1 mg/dL vs post: 121.9 mg/dL; p=0.04). No significant differences during the intervention phase with the modern variety have been reported.

With regard to CPCs, the intervention period with "Verna" showed a significant increase by +9.6% of CD34+ (p=0.04), and by +18.1% of CD133+ (p=0.02).

Conclusion. The present results suggest that a dietary consumption of bread obtained from old grain varieties could be effective in reducing cardiovascular risk factors, by also inducing an improvement of CPC.

CHOLESTEROL ESTERIFICATION RATE IS POSITIVELY ASSOCIATED WITH GLOMERULAR FILTRATION RATE, INDEPENDENTLY OF HDL-C LEVELS, IN CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS

S. Simonelli¹, A. Baragetti^{2,3}, K. Garlaschelli², L. Grigore², G.D. Norata^{2,3}, L. Calabresi¹, G. Franceschini¹, A.L. Catapano^{2,3,4}

¹Center E. Grossi Paoletti, Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milano, Milano;

²Center for the Study of Atherosclerosis, Bassini Hospital, Cinisello Balsamo, Milano; ³Department of Pharmacological and Biomolecular Sciences, University of Milano, Milano;

⁴IRCCS Multimedica, Milano

E-mail: sara.simonelli76@gmail.com

Background. Chronic kidney disease (CKD) is associated with severe alterations of plasma lipid/lipoprotein profile, characterized by a reduction in high-density lipoprotein (HDL) cholesterol levels and an increase in plasma triglyceride levels.

We have recently shown that CKD patients have a partial defect in plasma cholesterol esterification, secondary to an acquired LCAT deficiency, which is a major factor in reducing plasma HDL-C levels. Objective of this study was to evaluate the correlation between LCAT concentration and functionality and kidney damage.

Methods. Cholesterol esterification process and plasma LCAT concentration were evaluated in 176 patients with mild to moderate CKD [average glomerular filtration rate (GFR) 50.3±29.1 mL/min], previously enrolled through the outpatient ambulatory of the Unit of Nephrology and Dialysis of Bassini Hospital and observed during 84 months of follow up in the NephroPLIC study. Cholesterol esterification in plasma was assessed by measuring the unesterified/total cholesterol ratio, the esterification of cholesterol within endogenous lipoproteins (cholesterol esterification rate, CER), and plasma LCAT concentration, measured by an immuno-enzymatic assay.

Results. CER was reduced in the majority of the patients (average 33.2±14.9 nmol/mL/h), while unesterified/total cholesterol ratio and plasma LCAT concentration were only slightly reduced (average 0.24±0.03 and 4.89±1.13 µg/mL, respectively). Interestingly, CER was significantly and positively associated with GFR (R²=0.05, P<0.001).

This correlation was independent of HDL-C levels. LCAT mass was also associated with kidney damage index: patients with lower plasma LCAT concentration exhibited higher creatinine levels and albumin/creatinine urinary levels.

Conclusions. Chronic kidney disease is characterized by a compromised cholesterol esterification process which is significantly associated with kidney damage.

IMPATTO DELLA NUTRIZIONE SULLE FUNZIONI COGNITIVE IN UN GRUPPO DI SOGGETTI ADULTI E ANZIANI

C. Soavi, E. Capatti, G. Brombo, E. Dalla Nora, D. Francesconi, R. Situlin, M.L. Morieri, M.A. Miselli, S. Poma, A. Passaro, G. Zuliani, PANGeA Group
 Dipartimento di Scienze Mediche, Sezione di Medicina Interna e Cardiopolmonare, Università di Ferrara, Ferrara,
 Dipartimento di Scienze Mediche Chirurgiche e della Salute, Ospedale di Cattinara, Trieste
 E-mail: cecilia.soavi@student.unife.it

Scopo dello studio. Valutare l'associazione tra la frequenza di assunzione di diversi alimenti e le performance cognitive in soggetti adulti e anziani.

Materiali e Metodi. 457 pazienti di età media 66.6 anni (54-81), partecipanti al progetto PANGeA sono stati sottoposti al Montreal Cognitive Assessment (MoCA) per valutarne le performance cognitive.

Ai soggetti è stato somministrato un questionario semiquantitativo per rilevare la frequenza di assunzione di 90 cibi, nell'anno precedente. L'analisi statistica è stata effettuata raggruppando gli alimenti in 17 macro categorie.

Risultati. I valori di MoCA erano più alti nelle femmine (24.7 ± 3 vs 24 ± 2.9 , $p < 0.009$) e, come atteso, correlavano inversamente con l'età ($r = -0.235$, $p < 0.001$).

I punteggi del MoCA correlavano positivamente con il consumo di uova ($r = 0.122$, $p = 0.009$), verdure ($r = 0.091$, $p = 0.052$) e pesce ($r = 0.139$, $p = 0.003$) e negativamente con i cereali ($r = -0.104$, $p = 0.026$).

Le frequenze di verdure, pesce, uova e cereali erano associate al punteggio MoCA anche dopo aggiustamento per sesso e pesando il modello per età (verdure $\beta = 0.092$, $p = 0.046$; pesce $\beta = 0.145$, $p = 0.002$; uova $\beta = 0.088$, $\beta = 0.059$; cereali $\beta = -0.104$, $p = 0.024$).

Conclusioni. I nostri dati mostrano un'associazione tra il consumo di alcuni alimenti e migliori funzioni cognitive. È ipotizzabile che una maggior assunzione di idrosilati proteici dell'uovo possa incrementare il rapporto tra triptofano e altri aminoacidi neutri, condizione associata ad un migliore umore e cognitività.

Un eccessivo consumo di carboidrati, sbilanciando la dieta a scapito degli altri nutrienti, potrebbe giustificare la correlazione inversa tra cereali e score MoCA.

Un elevato consumo di verdure e di pesce è caratteristico della dieta mediterranea, associata in numerosi studi ad un effetto protettivo sulle funzioni cognitive. A tal fine stiamo elaborando uno score di "mediterraneità" della dieta, basato sulle frequenze alimentari, per analizzare l'impatto di diversi pattern dietetici sulle funzioni cognitive.

A KHORASAN WHEAT-BASED REPLACEMENT DIET IMPROVES RISK PROFILE OF PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME: A RANDOMIZED CROSSOVER TRIAL

F. Sofi^{1,3}, A. Whittaker⁴, C. Fiorillo⁵, M. Becatti⁵, E. Rafanelli³, M.L.E. Luisi³, A.M. Gori², R. Abbate², G.F. Gensini^{2,3}, S. Bendettelli⁴, A. Casini¹

¹Unit of Clinical Nutrition, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Florence; ²Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; ³Don Carlo Gnocchi Foundation, ONLUS IRCCS, Florence; ⁴Department of Agrifood Production and Environmental Sciences, University of Florence; ⁵Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences, University of Florence
 E-mail: francesco.sofi@unifi.it

Background and Aim. Khorasan wheat is an ancient grain with previously reported health benefits in clinically healthy subjects. The aim of this study was to examine whether a replacement diet with products made with such wheat could provide additive protective effects in reducing lipid, oxidative and inflammatory risk factors also in patients with Acute Coronary Syndromes (ACS).

Materials and Methods. A randomized, double-blinded crossover trial with two intervention phases was conducted on 22 ACS patients (9 F, 13 M). The patients were assigned to consume products (bread, pasta, biscuits and crackers) made either from organic semi-whole Khorasan wheat or organic semi-whole control wheat for 8 weeks in a random order. An 8-week washout period was implemented between the respective interventions. Blood analyses were performed at both the beginning and end of each intervention phase.

Results. Consumption of products made with Khorasan wheat determined a significant amelioration of several key markers, such as total cholesterol (-6.8%), LDL-cholesterol (-8.1%) glucose (-8%) and insulin (-24.6%), independently from age, sex, traditional risk factors, medications and diet quality.

Similarly, significant reductions in production of reactive oxygen species and lipoperoxidation of circulating monocytes and lymphocytes, as well as in the levels of the Tumor Necrosis Factor- α , were shown after the replacement diet with Khorasan wheat products. On the other hand, no significant differences were observed after the intervention phase with products made with the control wheat.

Conclusions. The present results suggest that a replacement diet with cereal products made from Khorasan wheat provides additional protection in patients with ACS. Circulating cardiovascular risk factors, including lipid parameters, and markers of both oxidative stress and inflammatory status, were reduced, irrespective of the number and combination of medicinal therapies with proven efficacy in secondary prevention.

DETECTION OF NEW GENES RESPONSIBLE OF FAMILIAL RECESSIVE HYPERCHOLESTEROLEMIA: PRELIMINARY DATA FROM AN EXOME SEQUENCING APPROACH

R. Spina, A.B. Cefalù, V. Valenti, D. Noto, V. Ingrassia, C. Scrimali, M.P. La Spada, G. Misiano, G.I. Altieri, F. Fayer, C.M. Barbagallo, O. Palesano, V. Licata, M. Averna
Università di Palermo. Dipartimento di Medicina Interna e Specialistica (DIBIMIS). Unità di Biologia Molecolare Diagnostica "AOUP" di Palermo, Centro di Riferimento Regionale per la Prevenzione, la Cura delle Malattie Rare del Metabolismo (CERMMET)
E.mail: rossella.spina@libero.it

Primary hypercholesterolemias are genetic disorders of lipid metabolism with a recessive or dominant transmission mode of inheritance. To date known genes responsible of this disorders include: LDLR, APOB, PCSK9 for dominant forms (ADH - autosomal dominant hypercholesterolemia). Known genes involved in recessive forms (autosomal recessive hypercholesterolemia) are LDLRAP1, CYP7A1, ABCG5/8.

Exome sequencing is a targeted sequencing approach that is restricted to the protein-coding regions of genomes. The exome is estimated to encompass approximately 1% of the genome, yet contains approximately 85% of disease-causing mutations. Exome sequencing enables the identification of common single nucleotide variants (SNVs), copy number variations (CNVs), and small insertions or deletions (indels), as well as rare de novo mutations that may explain the heritability of Mendelian and complex disorders. Different platforms are currently available for exome studies relying on optical detection of sequences.

The Ion Proton developed a system based on using standard sequencing chemistry, but with a novel, semiconductor based detection system.

This method is based on the detection of hydrogen ions that are released during the polymerization of DNA, as opposed to the optical methods. The Ion Proton System, combined with Ion AmpliSeq technology and an integrated data analysis solution, offers fast and high-quality exome sequencing with flexible throughput from 1 to 3 exomes per run.

A workflow of 2 days consist of different steps going from DNA to annotated variants (library construction, prepare template, run sequence, data analysis).

The Ion Reporter Software uses exome sequencing data to characterize variant alleles in the proband and in the parents when available (trios) that may account for the Mendelian disorders.

In this work we present preliminary data on an exome sequencing analysis performed in a proband and his parents affected by a apparently recessive form of hypercholesterolemia in which Sanger sequencing analysis was not able to detect any mutation in the candidate genes

ASSOCIATION OF APOLIPOPROTEIN(A) KRINGLE-IV TYPE 2 COPY NUMBER VARIATION WITH VENOUS THROMBOEMBOLISM

E. Sticchi, B. Giusti, A. Magi, P.R. Kamstrup, D. Prisco, I. Martinelli, P.M. Mannucci, R. Abbate
Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence; Atherothrombotic Disease Center, A.O.U. Careggi, Florence, Italy; Department of Clinical Biochemistry, Herlev Hospital, Copenhagen University Hospital, Herlev, Denmark; Angelo Bianchi Bonomi Hemophilia and Thrombosis Center, University of Milan and Department of Medicine and Medical Specialities, IRCCS Maggiore Hospital, Milan
E-mail: elenasticchi@hotmail.com

An association between high lipoprotein (a) [Lp(a)] concentrations and venous thromboembolism (VTE) is being evidenced. Lp(a) is controlled by genetic variants in LPA gene, coding for the apolipoprotein(a) moiety of Lp(a). We investigated the role of LPA gene kringle-IV type 2 (KIV2) size polymorphism and single nucleotide polymorphisms (SNPs) (rs1853021, rs1800769, rs3798220, rs10455872) in modulating the susceptibility to venous thromboembolism.

Five hundred and sixteen patients with idiopathic VTE without thrombophilic risk factors [median age 44 (9-80) yrs, 39% males] and 1117 healthy control subjects, comparable for age and gender, were investigated. LPA KIV2 polymorphism, rs3798220 and rs10455872 SNPs were genotyped by real time PCR TaqMan technology. Concerning rs1853021 and rs1800769 SNPs, PCR-RFLP assay was used.

LPA KIV2 repeat number has been found to be significantly lower in patients than in controls [11(0-116) vs 15(1-118), p<0.0001]. In the VTE patients group, a significantly higher percentage of subjects with KIV2 repeat number ≤9 was observed with respect to controls (38% vs 18%, p<0.0001). KIV2 repeat number was independently associated with VTE (p=3.06x10⁻¹¹), as evidenced by general linear model analysis adjusted for traditional risk factors. No significant difference in allele frequency for all SNPs investigated was evidenced. Haplotype analysis showed that LPA haplotypes rather than individual SNPs influenced disease susceptibility.

In conclusion, our data indicate that LPA genetic variants, known to contribute to Lp(a) concentrations, are significant and independent susceptibility factors to VTE.

THE ASSOCIATION BETWEEN MICROVASCULAR DYSFUNCTION AND CAROTID INTIMA MEDIA THICKNESS IN PATIENTS WITH CARDIAC SYNDROME X

V. Sucato, E. Corrado, S. Evola, G. Novo, A. Sansone, G. Coppola, G. Andolina, P. Assennato, S. Novo
Divisione di Cardiologia, Policlinico Paolo Giaccone, Università di Palermo
E-mail: odisseos86@alice.it

Introduction. The aim of this study was to evaluate in patients with cardiac syndrome X (CSX) the relationship between microvascular dysfunction and increase of carotid intima media thickness (C-IMT) using validated angiography indices

Material and Methods. Our study was performed on a popula-

tion 124 patients with CSX that underwent coronary angiography and carotid ultrasound. We divided the sample into two categories: patients with increase of C-IMT and those without increase. We calculated, on angiographic images, validate angiography indexes like TIMI Frame Count (TFC) and Myocardial Blush Grade (MBG) on three major coronary arteries.

Results. Our sample compared two groups: patients with increase of C-IMT (n=63) and patients without increase of C-IMT (n=61). About common cardiovascular risk factor, diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidemia was significantly higher in patients with increase of C-IMT group than controls patients. Analysis through angiography indexes showed that patients with increase C-IMT had a longest TFC of three major coronary arteries (TFC LAD 44, 7+/-12, 5; TFC RCA 26, 2±6.9; TFC CX 27±5.9), than control group, index of a coronary flow slowed with good statistical result on left anterior descending artery (p = 0.02), circumflex coronary artery (p = 0.05). So, we found lower MBG on three coronary arteries (MBG LAD 2,5±0,3; MBG RCA 2,3±0,3; MBG CX 2,1±0,32) in patients with increase of C-IMT than control group, with good statistical significance on left anterior descending artery (p value 0.02), circumflex coronary artery (p-value 0.04).

Conclusion. Analysis of microcirculation through angiography indexes in patients with CSX with increase of C-IMT and without has led to assess that patients with increase of C-IMT population has a greater involvement of microcirculation than patients without. So there are a greater incidence of common cardiovascular risk factor in patients with increase of C-IMT.

ASSOCIAZIONE TRA ACIDO URICO E STIFFNES ARTERIOSA IN UNA POPOLAZIONE SANA

A. Tafa, A. Giambelluca, C. Rovito, C. Caffarelli, C. Pondrelli, M. Franchi, R. Nuti, S. Gonnelli
Dipartimento di Scienze Mediche, Chirurgiche e Neuroscienze, Università di Siena
E-mail: afertafa@yahoo.com

Introduzione. L'iperuricemia può essere inclusa tra i fattori di rischio cardiovascolare emergenti. Numerosi studi epidemiologici hanno dimostrato una relazione tra acido urico e numerose patologie cardiovascolari. Inoltre, il rapporto tra acido urico e malattie cardiovascolari è stato osservato non solo per valori di iperuricemia, ma anche per valori che rientrano nel range della normalità.

Scopo. Valutare le correlazioni tra i livelli circolanti di acido urico e Stiffness arteriosa in soggetti apparentemente sani.

Materiali e Metodi. Abbiamo studiato 100 soggetti (44 maschi e 54 femmine) con un'età compresa tra i 25 e 60 anni (età media: 45.9±7.9 anni) afferiti consecutivamente all'ambulatorio di Fisiopatologia Clinica delle Malattie Metaboliche del Dipartimento Scienze Mediche, Chirurgiche e Neuroscienze. Tutti i soggetti sono stati sottoposti ad un prelievo di sangue per la determinazione dei parametri dell'assetto lipidico e dei livelli sierici di acido urico.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad un esame ultrasonografico dei vasi epiaortici con Ecografo Esaote MyLab 60, sonda lineare B-mode da 7.5 MHz ed abbiamo rilevato lo spessore medio-intimale e lo Stiffness mediante l'elaborazione del software integrato RFQAS.

Risultati. Nei nostri pazienti abbiamo osservato valori di acido urico più elevati nei maschi rispetto alle femmine, senza raggiungere una significatività statistica. Inoltre abbiamo osservato un'elevata correlazione tra acido urico e Stiffness (r=0.25; p<0.05). Tale correlazione si mantiene sia nei maschi che nelle femmine, raggiungendo una migliore significatività statistica nel sesso femminile

(maschi r=0.26; p<0.05, femmine r=0.39; p<0.01).

Conclusioni. I risultati confermano l'utilità clinica della determinazione dell'uricemia nell'inquadramento del rischio cardiovascolare.

EFFETTI DELLA PARATIROIDECTOMIA SULL'ASSETTO LIPIDICO NELL'IPERPARATIROIDISMO PRIMITIVO

F. Tassone, F. Capucci, C. Baffoni, E. Castellano, G. Borretta
A.S.O. Santa Croce e Carle
E-mail: francesco.tassone@gmail.com

Introduzione. L'iperparatiroidismo primitivo (PHPT) è noto essere associato ad ipertensione arteriosa, ad incremento della frequenza di intolleranza glicidica e diabete mellito, alterazioni che possono conferire un incremento del rischio cardiovascolare di questi pazienti. Le manifestazioni 'non classiche' del PHPT, e tra queste l'assetto lipidico, non sono state ad oggi estesamente studiate ne' vi sono molti dati in letteratura sull'eventuale influenza positiva su di esse della paratiroidectomia.

Soggetti e Metodi. abbiamo studiato 109 pazienti consecutivi affetti da pHPT (media±S.D.: età =58.1±11.4 aa., M/F=36/73, PTH=259.6±342.2 ng/l; Calcio =12.4±10.3 mg/dl). In tutti i pazienti abbiamo misurato il BMI, i livelli pressori, dosato l'assetto lipidico, l'apolipoproteina B prima dell'intervento chirurgico di paratiroidectomia e circa 12 mesi dopo.

Risultati. Dopo la paratiroidectomia abbiamo osservato un incremento significativo della colesterolemia totale (205.7±40.9 mg/dl vs 220.6±39.2 mg/dl, p<0.0004) e della colesterolemia LDL (122.3±40.2 mg/dl vs 132.2±35.4 mg/dl, p<0.002), ma anche della colesterolemia HDL (55.8±15.9 mg/dl vs 59.3±15.9 mg/dl, p<0.02). La trigliceridemia non si è modificata significativamente dopo la paratiroidectomia (135.8±65.3 mg/dl vs 136.1±71.8 mg/dl, p=0.93). I valori di colesterolemia-non-HDL sono incrementati (146.4±43.9 mg/dl vs 158.5±39.9 mg/dl, p<0.003) parallelamente ai livelli di Apolipoproteina B (1.02±0.34 g/l vs 1.15±0.30 g/l, p<0.003).

Conclusioni. In pazienti affetti da iperparatiroidismo primitivo sottoposti a paratiroidectomia l'assetto lipidico subisce delle modifiche non univoche e che sarebbero da approfondire. Saranno necessari ulteriori studi per chiarire l'impatto clinico della chirurgia risolutiva di questa patologia sul metabolismo lipidico e sul profilo di rischio cardiovascolare di questi pazienti.

PCSK9 BINDING TO APOB-CONTAINING LIPOPROTEINS - EFFECTS OF APOB TRUNCATIONS AND ANGPTL3 MUTATIONS

H. Tavori¹, I. Giunzioni¹, M. Averna², M. Arca³, S. Fazio¹
¹*Knight Cardiovascular Institute, Center of Preventive Cardiology, Oregon Health and Science University, Portland, Oregon, USA;*
²*Department of Internal Medicine and Medical Specialties, University of Palermo;*
³*Department of Internal Medicine, La Sapienza University of Rome*
E-mail: tavori@ohsu.edu

Plasma levels of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9 (PCSK9) and LDL cholesterol (LDL-C) are highly correlated because PCSK9 causes the degradation of hepatic LDL receptor (LDLR), which in turn reduces plasma LDL clearance. We have shown that between 25% and 40% of plasma PCSK9 physically asso-

ciates with LDL particles. Our hypothesis is that due to this direct association with LDL, PCSK9 levels may also be affected by changes in the production of apolipoprotein (apo) B. Moreover, PCSK9 association with LDL may influence its ability to bind LDLR. To this end, we studied subjects with hypolipidemia caused by either apoB truncations or loss-of-function mutations in the angiopoietin like 3 (ANGPTL3) gene, and found that their plasma PCSK9 levels are significantly lower (19.6% and 27.2%, respectively) compared to normolipidemic controls. Moreover, a significant correlation was found between LDL-C and PCSK9 levels in both cohorts ($r^2=0.198$, $p=0.029$ and $r^2=0.185$, $p=0.015$, respectively). Western blot analyses of hypolipidemic (apoB truncation carriers) plasma samples revealed extremely low levels of the active form of PCSK9 (the intact 62kDa protein), previously shown by us to exclusively associate with LDL. In fact, the vast majority of plasma PCSK9 in these patients was in the low-molecular weight, furin-cleaved form (55kDa). Our functional studies show that LDL-associated PCSK9 directly and competitively binds LDLR and induces LDLR-mediated degradation. Our results supports a scenario where PCSK9 and LDL-C levels are directly correlated in subjects with primary hypolipidemia, and LDL-associated PCSK9 is the active form of PCSK9 in plasma.

I PAZIENTI CON SINDROME METABOLICA RICEVONO LA MIGLIORE TERAPIA POSSIBILE? NOSTRA ESPERIENZA

S. Valentino, G. Ceccarelli, M. Pifarotti, A. Mostocotto, S. Leotta
ASL RM/B Ospedale "S. Pertini" Roma, U.O.C. di Dietologia,
Diabetologia e Malattie Metaboliche
E-mail: valentino.salvatore@email.it

Introduzione. È da tempo acclarato che il rischio cardiovascolare complessivo nel paziente affetto da Sindrome Metabolica risulti aumentato rispetto a quello presentato da ogni singolo fattore che compone la Sindrome Metabolica; ciò dovrebbe indurre ad una maggiore attenzione, non solo diagnostica ma prognostica e terapeutica, il medico curante o lo specialista.

A tal proposito, l'Ambulatorio di Dislipidemie e Malattie Metaboliche dell'Ospedale S. Pertini di Roma costituisce un luogo privilegiato nell'ambito del territorio dell'ASL RM/B riguardo la diagnosi ed il trattamento di tali pazienti; dal 2008, inoltre, ha la possibilità di attivare il Pacchetto Ambulatoriale Complesso (PAC) di Sindrome Metabolica su proposta del medico curante o dello specialista, una volta appurata la presenza di Sindrome Metabolica nel paziente inviato a visita, identificata utilizzando i criteri NCEP ATP-III e cioè: circonferenza vita >102 cm nell'uomo e >88 cm della donna, trigliceridi >150 mg/dl, colesterolo HDL <40 mg/dl nell'uomo e <50 mg/dl nella donna, pressione arteriosa >130/85 mmHg, glicemia a digiuno >100 mg/dl.

Scopo. Abbiamo voluto vedere se la comunità dei pazienti a cui abbiamo attivato il PAC di Sindrome Metabolica avesse ricevuto, fino al momento della nostra presa in carico per l'eventuale attivazione del PAC, la migliore cura medica possibile nei confronti dei fattori componenti la Sindrome Metabolica.

Materiali e Metodi. Dal 2008 fino al 2013 sono stati attivati nel nostro Ambulatorio 145 PAC di Sindrome Metabolica (60 uomini e 85 donne). Ad ogni paziente è stata rilevata l'altezza, il peso, la circonferenza ombelicale, l'indice di massa corporea e la pressione arteriosa, misurata a riposo, con tre misurazioni a distanza di un minuto dall'altra. Seguiva la lettura degli esami ematochimici e di quelli strumentali in possesso del paziente, con l'annotazione della terapia farmacologica effettuata.

Risultati. 103 pazienti (71%) presentavano una CO superiore ai limiti; fino al momento della visita, solo 3 pazienti (2%) stavano effettuando un trattamento dietetico ipocalorico. Per quanto riguarda la pressione arteriosa, 95 pazienti (65%) erano in trattamento farmacologico antiipertensivo ma, tra questi, 60 (63%) non erano a target. 83 pazienti (57%) presentavano valori di glicemia al di sopra dei limiti ma solo a 6 pazienti (7%) era stato suggerito di proseguire in un ulteriore processo diagnostico, causa una familiarità diabetica. Per quanto riguarda i trigliceridi, 113 erano i pazienti (78%) che presentavano valori superiori alla norma; 13 tra questi (11%) assumevano fibrati. L'HDL, infine, era sotto i limiti inferiori in 62 pazienti (42%), con 43 pazienti (69%) che utilizzavano statine.

Conclusioni. I dati presentati suggeriscono almeno un paio di considerazioni:

1. si conferma la difficoltà del trattamento farmacologico nei pazienti affetti da Sindrome Metabolica, con obiettivi terapeutici per ogni fattore della Sindrome frequentemente non a target;
2. i pazienti affetti da sovrappeso, condizioni clinica che si presenta inevitabilmente associata ad aumento della CO e spesso con aumento dei trigliceridi e/o diminuzione dell'HDL, il più delle volte non ricevono alcun trattamento dietetico, strategia terapeutica fondamentale e, nella maggior parte dei casi, decisiva; non a caso, la quasi totalità dei nostri pazienti è stata sottoposta a trattamento dietetico o, comunque, ad un'accurata educazione alimentare. Ulteriore considerazione, ma non per questo meno importante, i valori della glicemia superiori a 100 mg/dl ricevono il più delle volte scarsa considerazione clinica e diagnostica.

ROLE OF LCAT IN BRAIN LIPOPROTEIN METABOLISM

C. Vitali, A. Ossoli, V. Viganò, G. Balzarotti, C. Parolini,
A.C. Rossetti, R. Molteni, L. Calabresi
University of Milano, Department of Pharmacological
and Biomolecular Sciences, Milano
E-mail: cecilia.vitali@unimi.it

Aim. Cholesterol is an essential component of CNS. Glial cells synthesize native HDL-like particles, which are remodeled by enzymes and lipid transfer proteins. Lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) is critical in this process since it is the only enzyme responsible for cholesterol esterification in biological fluids. In CNS, LCAT is synthesized by astrocytes and esterifies cholesterol in glia-derived lipoproteins. ApoA-I, the major activator of LCAT in plasma, is not produced in the CNS but it is selectively uptaken from the circulation. As a consequence, apoE is the major LCAT activator in CNS. In order to study the impact of LCAT deletion on brain cholesterol metabolism, we evaluated cortical and hippocampal levels of apolipoproteins, cholesterol transporters and receptors in LCAT KO and WT mice (n=6).

Methods. ABCA1, SR-BI, apoE, LDL-R and LRP1 gene and protein levels were evaluated by real-time RT-PCR and western blotting. ApoA-I levels were evaluated by western blotting.

Results. LCAT deficiency results in diminished brain apoA-I levels ($P=0.0156$ vs WT). Since apoA-I is not synthesized in the CNS, this reduction is likely a consequence of the significant plasma apoA-I decrease in LCAT KO mice ($P=0.0130$). On the contrary, hippocampal apoE protein and mRNA levels were significantly increased in LCAT KO mice ($P=0.002$ and 0.021 , respectively). Notably apoE plasma levels were comparable in the two groups, confirming a brain-specific mechanism. LDL-R protein and mRNA levels were also increased ($P=0.026$, 0.001 respectively), as well as LRP1 mRNA ($P=0.015$) and ABCA1 protein levels ($P=0.045$) No

differences in SR-BI protein levels were observed, despite an increase in gene expression.

Conclusion. These results suggest that absence of LCAT may impair the maturation and remodelling of brain lipoproteins, thus inducing a compensatory increase in nascent lipoproteins production and uptake. Further studies are required to determine whether the observed alterations are associated with alterations in brain function.

INVESTIGATING THE HYPOCHOLESTEROLEMIC ACTIVITY OF BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM PRL2010: IN VITRO AND IN VIVO APPROACHES

I. Zanotti¹, A. Piemontese, F. Turroni, F. Bernini¹, M. Ventura

¹Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Parma;

²Department of Microbiology, University College of Cork, Cork,

Ireland; ³Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Parma

E-mail: ilaria.zanotti@unipr.it

Bifidobacteria represent a group of microorganisms that colonize human gut and extensively influence the metabolism of the host. Recently, the use of probiotics as hypocholesterolemic agents has been suggested by trials reporting that short-term administration of some bifidobacteria may efficiently reduce blood lipid levels in moderately hypercholesterolemic subjects.

Here, we investigated the mechanisms accounting for the bifidobacteria hypolipidemic activity *in vitro*, by quantifying 3H-cholesterol incorporation into cells from cholesterol-taurocholate micelles. In a preliminary screening assessing various bifidobacterial strains, we demonstrated that microorganisms belonging to *B. bifidum* species displayed a higher cholesterol intake capacity (fractional uptake from 4.28% to 15.52%) compared to other bifidobacterial taxa such as *B. animalis* subsp. *lactis* (1.23%±0.15) or *B. longum* subsp. *infantis* (0.57%±0.20). Therefore, we focused on *B. bifidum* PRL2010 strain (PRL2010), which has been previously genetically and functionally characterized by the Laboratory of Probiogenomics at the University of Parma.

Incubation of living PRL2010 with 3H-cholesterol-taurocholate micelles resulted in 2 fold increase of cellular radioactivity compared to thermally inactivated microorganisms ($p < 0.05$). Once incorporated into the cells, the majority of cholesterol (98-99%) accumulated in the membrane and cytosol, whereas only traces are detected in the cell wall. We suggested the existence of a specific mechanism of cholesterol intake in PRL2010 cells that produces an assimilation of this molecule inside the cell, which might be further placed in the plasma membranes, possibly altering cholesterol and fatty acid distribution.

In a pilot experiment, the oral administration of 10⁹ cells of PRL2010 to apoE knock out mice (n=5) once a day for 4 weeks resulted in stable intestinal colonization, beginning on day 3. The probiotic reduced total cholesterol in plasma (-21% compared to baseline; $p=0.059$), without significantly affecting neither triglyceride, nor HDL levels. These results may drive further investigations in the attempt to propose probiotic formulations for clinical trials.

EFFECTS OF LOMITAPIDE TREATMENT ON EUROPEAN PATIENTS WITH FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA: FOCUS ON EFFICACY AND ON HDL FUNCTIONALITY

F. Zimetti¹, E. Favari¹, M.P. Adorni¹, N. Ronda¹, F. Bernini¹, A.B. Cefalù², M. Averna², R. Yahya³, S. Bos³, A. Verhoeven³, E. Sijbrands³, J. Roeters van Lennep³, M. Mulder³

¹Department of Pharmacy, University of Parma;

²Department of Internal Medicine and Medical Specialties,

Policlinico "Paolo Giaccone", University of Palermo;

³Department of Pharmacology, Vascular And Metabolic Diseases, Erasmus Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

E-mail: francesca.zimetti@unipr.it

Background and aim. Homozygous familial hypercholesterolaemia (FH) is a life-threatening disease most commonly caused by loss-of-function mutations in both alleles of the LDL receptor gene. As a consequence, untreated total plasma cholesterol levels are typically greater than 13 mmol/L, resulting in premature and progressive atherosclerosis often leading to cardiovascular disease before age 20 years and death before age 30 years. Patients with homozygous FH respond inadequately to conventional drug therapies, which generally reduce LDL cholesterol through upregulation of hepatic LDL receptors. Lomitapide has been recently approved for treatment of homozygous familial hypercholesterolemia. Lomitapide acts by inhibiting microsomal triglyceride transfer protein (MTP), which is responsible for the assembly and secretion of very low density lipoprotein (VLDL) particles from the liver. Thus, inhibition of MTP results in lowering of VLDL cholesterol levels and eventually LDL-C levels. In FH patients HDL-cholesterol (HDL-C) plasma levels are significantly lower compared with normolipidemic subjects in addition, we have found that Cholesterol Efflux Capacity (CEC), that represent a metric of HDL functionality, was significantly lower in FH patients compared with normolipidemic subjects. The aim of the present thesis was to evaluate the effects of Lomitapide, the first MTP-inhibitor recently approved for the treatment of familial hypercholesterolemia (FH) patients, in which conventional treatments are not sufficient to reduce the risk of CVD, on serum lipoprotein profile and on HDL functionality.

Methods. We evaluated the Lomitapide effects on FH patients:

1. 28-y female compound heterozygous presented with LDL-C of 14.4 mM despite treatment with atorvastatin 80mg and ezetimibe 10mg (P1);
2. 20-y female compound heterozygous suffering with xanthomas (P2);
3. 36-y male homozygous (P3) in which LDL remained high despite LDL-apheresis, simvastatin 60mg and ezetimibe 10mg;
4. 62-y female severe heterozygous.

The dosage was titrated every 2-3 weeks, from 5 mg, 10 mg to 20 mg while on a low-fat diet (20%) and vitamin supplements. Fasting blood was obtained every 3 weeks during the titration period and also prior to the Lomitapide-treatment. Lipoproteins were determined using density gradient ultracentrifugation. Serum HDL CEC was measured in cells-based models by radioisotopic techniques. Cells were exposed for 4h to 1% (v/v) serum HDL fraction from Lomitapide-treated patients. The serum HDL fraction of sera was obtained by depletion of serum apoB-containing lipoproteins.

Results. VLDL-C and VLDL-TG decreased up to 80% after Lomitapide treatment. LDL-C decreased up to almost 60% and shift to the larger buoyant (less atherogenic) LDL. HDL-C levels decreased at the beginning of treatment but possibly increased back to baseline when Lomitapide treatment is maintained. ABCG1-me-

diated cholesterol efflux significantly increased after treatment with Lomitapide in P2, P3 and P4 (in average +40%; $p < 0.05$) or not modified (P1), independently of HDL-C levels. SR-BI-mediated efflux decreased (in average -30%; $p < 0.05$) in parallel to the HDL-C and in P2 and P3 increased back with treatment continuation, in parallel with an increased in the HDL2 particles fraction. ABCA1-mediated efflux was reduced in all patients (in average -40%; $p < 0.05$), probably due to the reduction of HDL3 that was found in all sera after treatment with Lomitapide.

Conclusion. In patients with severe hypercholesterolemia Lomitapide treatment, beyond its high efficacy as cholesterol lowering agent, decreases pro-atherogenic LDL. Lomitapide treatment also induces HDL structural changes that impact on HDL functionality, independently of HDL-C plasma levels. Total efflux from macrophages, that takes into account all the contributions from all efflux pathways, results unchanged (P2, P3, P4) or reduced (P1). Although it is impossible to conclude whether Lomitapide is overall beneficial or detrimental with respect to CEC on the basis of this small case series, it appears that the efficient increase of ABCG1-mediated efflux compensates the reduction of ABCA1 process.

EFFETTI DELL'ESERCIZIO FISICO SULLA FUNZIONE ENDOTELIALE DI SOGGETTI AFFETTI DA SINDROME METABOLICA

L. Pasqualini¹, C. Leli², P.G. Mariani¹, P. De Feo³, R. Pippi³, M. Scavizzi¹, V. Bianconi¹, R. Lombardini¹, G. Ciuffetti¹, E. Mannarino¹

¹*Internal Medicina, Angiologia e Malattie Arteriosclerosi, Università degli Studi di Perugia;*

²*Dipartimento di Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, Università degli Studi di Perugia;*

³*Centro Universitario Ricerca Interdipartimentale Attività Motoria, Università degli Studi di Perugia*

Obiettivi. La sindrome metabolica (SM) è costituita da un'associazione di fattori di rischio cardiovascolare in grado di condizionare la comparsa precoce e l'evoluzione della malattia arteriosclerotica. La SM è associata a disfunzione della vasoattività arteriosa, generalmente riconosciuta come marcatore pre-clinico di aterosclerosi e l'esercizio fisico (EF) è stato dimostrato essere in grado di agire positivamente sui fattori di rischio della SM e ridurre la mortalità cardiovascolare.

Metodi. Venti pazienti, affetti da SM, sono stati sottoposti per 3 mesi (2 sedute/settimana), a sedute di EF misto (aerobico-resistenza). Al tempo 0 e dopo 3 mesi sono state valutate la vaso attività flusso-mediata (VFM), con ecografia bidimensionale, la reattività cutanea microcircolatoria, con flussimetria laser-Doppler, e la rigidità arteriosa aortica con Sphygmocor.

Risultati. Dopo EF è stata riscontrata una riduzione del BMI (da $34,8 \pm 4,7$ a $33,9 \pm 5$ kg/m², $p = 0.02$) e della massa grassa (da $41,6 \pm 5,2$ a $38,7 \pm 6,4$ %, $p = 0,002$) e un incremento delle capacità aerobiche (VO₂max da $18,7 \pm 8,0$ a $29,7 \pm 8,8$ mL/kg-1x min⁻¹, $p = 0.001$). È stato inoltre riscontrato un incremento statisticamente significativo dell'area iperemica post-ischemica (da 1593 ± 665 a 2661 ± 1270 U/s, $p = 0,01$). L'EF ha migliorato, anche se non significativamente, la VFM e la stiffness arteriosa.

Conclusioni. I nostri risultati indicano che una attività fisica moderata migliora la risposta iperemica post-ischemica a livello microcircolatorio in pazienti con SM. La misurazione dell'iperemia reattiva cutanea può rappresentare un metodo semplice, non-invasivo, per studiare la funzione micro-vascolare in pazienti affetti da sindrome metabolica e può essere una tecnica promettente per valutare l'efficacia del trattamento non farmacologico in questo tipo di pazienti.

INDICE DEGLI AUTORI

A

Abbate R., 78, 85, 86, 89, 104, 105, 106, 107, 108
Adorni M.P., 66, 90, 96, 111
ADSL (DiAL-ER) Group, 87
Alaeddin A., 87
Alemanno N., 86
Alessandro Liotta A., 105
Altieri G.I., 91, 108
Altieri I., 66, 91, 98, 108
Amar M., 97
Ancarani E., 67
Andolina G., 108
Andria G., 89
Angelico F., 69, 99, 101
Anichini R., 85
Antonucci D., 89, 104
Aragona C.O., 67, 75, 93
Arca M., 72, 98, 109
Arnaboldi F., 73
Arnaboldi L., 68
Arnese M., 79
Arosio E., 81
Artom N., 71
Assennato P., 108
Attisani G., 68
Auricchio R., 102
Averna M.R., 66, 91, 98, 108, 109, 111

B

Baffoni C., 109
Baldassarre D., 74
Ballanti M., 76
Balzarotti G., 110
Barabesi E., 74
Baragetti A., 68, 69, 72, 84, 87, 106
Barakian B., 97
Barale C., 69
Baratta F., 69, 101
Barbagallo C., 77
Barbagallo C.M., 66, 91, 108
Barbieri S.S., 77
Baricchi R., 85, 96
Bartimoccia S., 101
Barzacchi M., 73
Basta G., 83
Battaglia D., 83
Becatti M., 93, 107
Becker S., 101

Bellosta S., 77
Bendettelli S., 107
Berni A., 93
Bernini F., 66, 87, 90, 95, 96, 111
Berteotti M., 70
Bertolini L., 100
Bertolini S., 71
Beshiri K., 71
Bianchi L., 83, 91
Bianconi V., 112
Bigazzi F., 66, 104
Boarini S., 87, 88
Boddi M., 78, 93
Boger R., 76
Bolognino R., 94
Bonacina F., 72
Bonapace S., 100
Bonari E., 106
Bonora E., 85, 100
Borghi C., 67, 77, 78, 80
Borretta G., 109
Bosi C., 87
Bosio A., 72
Bos S., 111
Bosso A., 72
Bove M., 88
Brocco E., 85
Brombo G., 75, 85, 107
Brunero M.G., 79
Bruno R.M., 73
Bucci M., 94, 95, 98, 103
Bugianesi E., 86
Buonuomo P.S., 102
Busnelli M., 73, 82

C

Caffarelli C., 109
Cagliero P., 74
Cagnati M., 77
Cairo V., 67, 75, 93
Calabrese G., 97
Calabresi L., 71, 90, 97, 99, 106, 110
Calandra S., 87, 96, 102
Calanna S., 104
Capatti E., 75, 85, 107
Capucci F., 109
Capuzzo E., 85
Carbone I., 72

- Cardellini M., 76
Cardolini I., 76
Carnevale R., 101
Casagrande V., 76
Casini A., 85, 106, 107
Cassader M., 86
Castagna A., 68
Castellano E., 109
Castiglioni S., 77
Catalano C., 72
Catapano A.L., 68, 69, 72, 84, 87, 106
Cavalot F., 69
Cavicchioli L., 68
Ceccarelli G., 110
Cefalù A.B., 66, 91, 98, 108, 111
Ceglarek U., 101
Cellai A.P., 105
Ceriotti C., 88
Cesari F., 104
Chiappino D., 105
Chiesa G., 73, 82
Cianflone D., 70
Cicero A., 77
Cicero A.F.G., 77, 78, 80, 87
Cigni G., 83
Cinquegrani A., 67, 75, 93
Cinquegrani M., 67, 75, 93
Cioni G., 78
Cipollone F., 94, 95, 98, 103
Ciuffetti G., 112
Cocco A., 98
Colovic M., 68
Coppola G., 95, 108
Coppola M.F., 79, 98
Coppola M.G., 79
Cornaghi L., 73
Coronelli I., 80
Coronelli M., 79, 80
Corrado E., 95, 108
Corsini A., 68, 77, 103
Cotarelli V., 97, 98
Covetti G., 91
Curatola C., 92
- D**
D'Addato S., 67, 77, 80
D'Agostino M.N., 79, 89
D'Alessandri G., 85
Dalla Nora E., 75, 85, 107
Dal Pino B., 66, 104
D'Angelillo A., 99
D'Angelo A., 79, 83, 91, 103
Dani C., 89
Da Settimo F., 83
Davato F., 76
Davididi G., 87
De Cario R., 86, 105
De Felice F., 97
De Feo P., 112
De Flaviis C., 94, 95
De Giorgi A., 88
De Iaco G., 81
Del Ben M., 69, 99, 101
D'Elia R., 94
D'Elios M.M., 78
Dell'Agnello U., 102
Della Latta D., 105
Dellera F., 73, 82
Del Rio D., 95
Del Turco S., 83
De Marchi S., 81
De Pascale T., 82
Derosa G., 77, 83, 91
De Serio L., 99
De Simone C., 103
De Vuono S., 87
Dhyani A., 84
Di Costanzo A., 98
Di Donna V., 79
Di Filippo F., 87
Di Gaudio F., 66
Di Lanzo M., 98
Di Leo E., 84, 92, 98
Di Marco D., 103
Di Matteo F., 79
Dinu M.R., 85
Di Pino A., 104
Di Renzo A., 92
Di Santo S., 69
Di Taranto M.D., 89, 102
Donetti E., 73
Donini D., 85
D'Onofrio G., 82
Duranti E., 102

E

Ekroos K., 82
Emmi G., 78
Emmi L., 78
Evola S., 108

F

Fargion S., 68
Fasano T., 81, 96
Fasbender Iacovitti M., 91
Favari E., 66, 71, 74, 87, 90, 96, 111
Fayer F., 66, 91, 98, 108
Fazio S., 109
Federici M., 76
Ferri N., 77, 103
Fiorenza M., 89
Fiorillo C., 93, 107
Foracchia M., 81
Fortunato G., 79, 89, 102
Fracanzani A.L., 68
Framarin M., 79, 80
Franceschini G., 90, 106
Francesconi D., 75, 85, 107
Franchi M., 109
Franchini M., 85
Franzini L., 87
Fresa R., 71
Frigerio B., 74

G

Galora S., 86, 89, 104, 105
Gambino R., 86
Ganzetti G.S., 73, 82
Garbin U., 81
Gareri P., 68
Garlaschelli K., 68, 69, 84, 87, 106
Gatti R., 90
Gazzola K., 87, 88
Gensin G.F., 106
Gensini G.F., 78, 85, 86, 89, 104, 105, 107
Gentile M., 79, 91, 97, 98
Gentileschi P., 76
Gentili A., 87
Ghiadoni L., 73
Ghirardello O., 88
Giacobbe C., 89, 102
Giambelluca A., 109
Giammichele G., 103

Giunzioni I., 109
Giusti B., 86, 89, 104, 105, 108
Gomaschi M., 90
Gonnelli S., 109
Gori A.M., 89, 104, 105, 106, 107
Gozzini E., 89
Granata A., 68
Grandi E., 77, 78
Greco D., 90
Grigore L., 68, 69, 72, 84, 87, 106
Grimaldi N., 82
Guardamagna O., 74
Guarino M., 80
Guerrasio A., 69
Guiducci V., 81

H

Hurme R., 82

I

Iannucci F., 82
Iannuzzi A., 91, 99
Iannuzzi M.R., 99
Iannuzzo G., 91, 97
Indelicato S., 66
Ingrassia V., 66, 91, 98, 108
Ippoliti A., 76

J

Jänis M., 82
Jossa F., 79, 97, 98

K

Kamstrup P.R., 108
Knop K.F., 104
Kura A., 89, 105

L

Laaksonen R., 82
La Fata E., 91
La Motta C., 83
La Pegna M., 82
La Spada M.P., 91, 108
Leli C., 112
Leone M.C., 96
Leotta S., 110
Librandi E., 101
Licata V., 91, 108

Limite L.R., 70
Lionetti V., 66
Loffredo L., 99
Lombardini R., 112
Luciani R., 104
Luisi M.L.E., 107
Lupattelli G., 87

M

Macchi C., 103
Maffioli P., 83, 91
Maggini N., 104
Magi A., 108
Magni P., 103
Magnolo L., 84, 92, 98
Magnoni M., 70
Magro V.M., 92
Maione R., 98
Malamisura M., 102
Mamone F., 67, 75, 93
Manari A., 81
Mandraffino G., 67, 75, 93
Manicardi E., 85
Mannarino E., 112
Mannarino M.R., 87
Mannucci P.M., 108
Mantovani A., 100
Mantovani V., 67
Manzini S., 73, 82
Marcucci R., 78, 89, 104, 105
Mariani P.G., 112
Marino A., 76
Marotta G., 79, 97, 98, 102
Martellini A., 93
Martinelli I., 108
Mastrilli V., 94
Mattiello A., 97, 98
Mattiello L., 69
Mattiello S., 91
Mauriello A., 76
Mazzocchetti C., 94, 95, 98, 103
Mele L., 95
Melis D., 89
Menghini R., 76
Messa M., 85
Mezzabotta L., 86
Mignano A., 95
Minicocci I., 98

Minopoli G., 89
Miselli M.A., 75, 85, 107
Misiano G., 66, 91, 98, 108
Molteni R., 110
Mombelli G., 99
Monaco G., 72
Montali A., 98
Morbini M., 77, 78
Morelli M., 76
Morieri M.L., 75, 85, 107
Moro A., 96
Mostocotto A., 110
Mulder M., 111
Muoio A., 96
Muratori I., 95

N

Negri E., 96
Negri S., 88
Nocella S., 101
Nofer J.-R., 101
Norata G.D., 68, 70, 72, 84, 106
Noto A., 101
Noto D., 66, 91, 98, 108
Novo G., 108
Novo S., 95, 108
Nunziata M., 79, 97, 98
Nuti R., 109

O

Oberkersch R., 97
Ossoli A., 90, 97, 110

P

Pacilio M., 82
Paganelli C., 94, 95, 98, 103
Pagano C., 97, 98, 102
Pagnottella M., 103
Palesano O., 66, 91, 98, 108
Palmisano S., 80
PANGeA Group, 75, 85, 107
Panico S., 91, 97, 98
Papa A., 83
Paparcone C., 88
Parenti G., 89
Parini A., 78
Parodi G., 89, 104
Parolini C., 73, 82, 110

Pascale C., 72
Pasini A., 81
Pasqualini L., 112
Pasquini E., 89
Passaro A., 75, 85, 107
Pastori D., 69, 99, 101
Pavanello C., 99
Pazzano D., 99
Pazzi M., 78
Pellegatta F., 68, 69, 72, 87
Pellegrino E., 106
Penco S., 99
Peretto G., 70
Perri L., 69, 99
Persiani S., 68
Pianelli M., 104
Pichiri I., 100
Piemontese A., 111
Pifarotti M., 110
Pigna G., 72
Pignatelli P., 99
Pinach S., 86
Pippi R., 112
Pirillo A., 87
Piro S., 104
Pisano P., 68
Pisanti P., 94
Pisciotta L., 71, 77
Plicato G., 79
Poggesi L., 93
Poggi C., 89
Polimeni L., 69, 101
Poma S., 75, 85, 107
Pondrelli C., 109
Porzio O., 76
Poti F., 101
Pratesi C., 86
Pratesi G., 86
Priore Oliva C., 92
Prior M., 81
Prisco D., 78, 108
Pryor M., 97
Pugni V., 85
Pulicanò M., 101
Pulli R., 86
Puntoni M., 66, 104
Purrello F., 104

R

Rabacchi C., 88, 96, 102
Rafanelli E., 107
Raimo K., 73
Rasente Y., 97
Recchia F.A., 66
Redaelli L., 69
Remaley A.T., 90, 97
Ricci C., 103
Ricci M.A., 87
Rigoni A., 81
Rinaldi R., 67
Ripoli A., 104
Roeters van Lennep J., 111
Rogolino A., 105
Romagnuolo I., 89
Roman D., 83
Romano D., 91
Romano N., 96
Ronda N., 90, 96, 111
Rossetti A.C., 110
Rossi C., 102
Rosso C., 86
Rosticci M., 67, 77, 78
Rovito C., 109
Rubba F., 82
Rubba P., 79, 91, 97, 98, 102
Ruberto C., 68
Rulfo F., 81
Ruotolo A., 102
Ruscica M., 103
Russo I., 69

S

Saba F., 86
Saggiani F., 85
Saitta A., 67, 75, 93
Sala F., 72
Sala R., 68
Salvati A., 73
Salvotelli L., 85
Salzano D., 69
Sampietro T., 66, 104
Sansone A., 108
Santini E., 102
Santovito D., 94, 95, 98, 103
Sanz J., 87
Saracini C., 86, 89, 104, 105

Sardo M.A., 67, 75, 93
Sartini S., 83
Sbraccia P., 76
Sbrana F., 66, 104
Sbrana S., 83
Scalera G., 94
Scanziani E., 73
Scavizzi M., 87, 112
Schiavone D., 82
Scicali R., 104
Scrimali C., 91, 108
Sentieri C., 83
Sereni A., 89, 105, 106
Sijbrands E., 111
Silvestri E., 78
Simonelli S., 106
Simone M.L., 84, 92
Simoni M., 101
Sirtori C.R., 73, 99
Situlin R., 85, 107
Soavi C., 75, 85, 107
Sodano M., 91
Sofi F., 85, 105, 106, 107
Solani E., 81
Solini A., 73, 102
Spagnuolo V., 101
Spina R., 66, 91, 98, 108
Spizzichino L., 94
Sticchi E., 108
Stoico V., 85
Stranieri C., 81
Strazzullo A., 79
Sucato V., 108

T

Taddei S., 73
Tafa A., 109
Taglioni M., 80
Tarasov K., 82
Targher G., 100
Tarlalini C., 99
Tarugi P., 84, 92, 98
Tassone F., 109
Tavori H., 109
Tedeschi A., 85
Thacker S., 97
Tibolla G., 84

Tidone C., 69
Tinelli A., 81
Tortori A., 99
Toscano G., 82
Trabucco S., 68
Trenti C., 96
Triassi M., 82
Turrone F., 111

U

Urso R., 77, 78

V

Valentino S., 110
Valenti R., 89, 104
Valenti V., 66, 91, 98, 108
Vaudo G., 87
Vecchia L., 81, 96
Ventura M., 111
Verhoeven A., 111
Viganò V., 110
Vigna G.B., 87, 88
Vignati V., 68
Villa A., 77
Violi F., 89, 99
Viridis A., 102
Vitali C., 110
Volpi N., 97

W

Whittaker A., 107

Y

Yahya R., 111
Yuschak S., 97

Z

Zaccagna F., 72
Zanotti I., 95, 111
Zavaroni I., 87
Zenari L., 100
Zenti M.G., 85
Zimmet F., 90
Zimetti F., 74, 87, 96, 111
Zoppini G., 100
Zuliani G., 75, 85, 107