

REGIONE CAMPANIA - Giunta Regionale - Seduta del 29 dicembre 2007 - Deliberazione N. 2308 - Area Generale di Coordinamento N. 20 - Assistenza Sanitaria - **Approvazione del progetto: valutazione innovativa di biomarkers implicati nella vulnerabilità tromboembolica della placca aterosclerotica - SUN Napoli.**

ATTESO

che le malattie cardiovascolari, e nella fattispecie le sindromi coronariche acute, costituiscono oggi la prima causa di morte sul territorio nazionale, con il 44% dei decessi;

che circa il 90% dei casi di infarto è in rapporto alla rottura delle cosiddette "placche instabili" e che pertanto la prevenzione di tale patologia non va rivolta esclusivamente al riconoscimento ed alla terapia chirurgica delle ostruzioni, ma soprattutto ad una precoce ed attenta strategia di attacco alle placche instabili;

che a tutt'oggi non vi sono validi marcatori biologici che possano con buona predittività stimare la stratificazione del rischio in questi pazienti, specialmente al fine di indagare le possibili relazioni tra tali patologie e l'aspetto morfologico delle lesioni coronariche che le sottendono;

che la causa di malattia coronarica è solo al 50% riconducibile ai fattori di rischio tradizionali (ipercolesterolemia, ipertensione, diabete, fumo, obesità) ma che esistono numerosi fattori di rischio emergenti che vanno indagati e di cui va verificata l'utilità ai fini di prevenzione (nuovi biomarcatori di placca aterosclerotica)

CONSIDERATO

Pertanto, che una efficace prevenzione delle sindromi acute in ambito cardiologico non può prescindere dall'acquisizione di innovativi marcatori biologici che possano dettagliare la vulnerabilità trombo embolica della placca aterosclerotica;

che apparirebbe di conseguenza importante stabilire se solo i pazienti con sindrome coronaria acuta che presentano alti livelli sierici dei markers dell'infiammazione ed immagini microstrutturali di placca, anche in assenza di stenosi significativa, vanno veramente incontro ad eventi maggiori;

VISTA:

la nota del 8.2.2007, con n. di prot. 001140/X, con cui il Direttore Generale dell'Azienda policlinica della Seconda Università di Napoli, propone il progetto dal titolo "Biomarcatori di placca aterosclerotica instabile", elaborato dal Prof Claudio Napoli responsabile del Settore di Emostasi e Coagulazione del 1° servizio di Analisi Chimico-Cliniche del Dipartimento Assistenziale di Ematologia e Medicina Trasfusionale della Seconda università di Napoli, segnalandone i possibili riflessi in ambito dell'assistenza sanitaria ;

CONSIDERATO

Che la Commissione per la valutazione dei Progetti per il miglioramento della qualità dell'assistenza sanitaria istituita con DG n, 1482 del 3.8.2007 e nominata con successivo decreto Assessorile n. 392 del 4.9.2007, nella seduta del 20.09.2007, ha sottoposto a valutazione il progetto e lo ha giudicato coerente con i criteri di cui alla richiamata deliberazione con giudizio risultante dalla allegata scheda tecnica che fa parte integrante della presente delibera ;

che detta Commissione ha valutato con particolare attenzione l'importanza della ricaduta assistenziale del progetto che, ad obiettivo raggiunto, doterebbe il clinico di un potente strumento di diagnosi rapida;

che il piano finanziario per la realizzazione del progetto prevede una spesa complessiva di € 84.000 che trova copertura al cap 7092 dell' UPB 4.15.38 esercizio finanziario 2007

Propone e la Giunta a voto unanime

DELIBERA

Per tutto quanto in premessa esposto e che si intende integralmente riportato

- Di approvare il progetto di ricerca denominato "Biomarcatori di placca aterosclerotica instabile" proposto dalla Seconda Università degli Studi di Napoli elaborato dal prof Claudio Napoli allegato alla presente deliberazione di cui è parte integrante unitamente alla scheda tecnica di valutazione riportante il giudizio dell'apposita Commissione;
- Di imputare la spesa di euro 84.000 sul capitolo di spesa 7092 UPB 4.15.38 esercizio finanziario 2007;
- Di dare mandato al Coordinatore dell'AGC Assistenza Sanitaria per l'adozione dei successivi provvedimenti diretti all'impegno e successiva liquidazione prevista nella misura del 50%, al momento della comunicazione di avvio di attività ed il restante 50% a presentazione di relazione finale e rendicontazione;
- Di trasmettere il presente atto al Settore Assistenza Sanitaria per gli adempimenti di competenza;
- Di trasmettere il presente atto al BURC per la successiva pubblicazione.

Il Segretario
D'Elia

Il Presidente
Bassolino

PROPOSTA DI FINANZIAMENTO STRAORDINARIO PER LA RICERCA

ASSESSORATO DELLA SANITA', REGIONE CAMPANIA

TITOLO DELLA RICERCA:

VALUTAZIONE INNOVATIVA DI BIOMARKERS IMPLICATI NELLA VULNERABILITA' TROMBOEMBOLICA DELLA PLACCA ATEROSCLEROTICA

Prof. Claudio Napoli

Professore Ordinario di Patologia Clinica e Responsabile Assistenziale, Settore di Emostasi e Coagulazione, 1° Servizio Analisi Chimico-Cliniche, DAS di Ematologia e Medicina Trasfusionale, Facoltà di Medicina e Chirurgia, II Università di Napoli, Via Luigi De Creccchio, 7- 80138 Napoli
Tel. 081-5667560/5667567/5665686

RIASSUNTO DEL PROGETTO: Nonostante il grande passo avanti fatto sulla ricerca patogenetica della placca instabile, non vi sono ancora tangibili progressi nella gestione clinica su larga scala di biomarkers che aiutino nella stratificazione del rischio dei pazienti con sindromi acute coronariche. Questa ricerca si propone di valutare in cieco i dosaggi dei principali marker di danno miocardio e di nuovi indici di infiammazione (proteina C reattiva (PCR), Interleuchina-6, Interleuchina-10, Interleuchina-12, TNF-alfa, TNF-alfa/Interleuchina 10, troponina, LDL-ossidate, anticorpi anti heat shock protein 60, anticorpi contro la Chlamydia) al fine di indagare le possibili relazioni con l'aspetto morfologico delle lesioni coronariche. Questo al fine di stabilire una correlazione tra questi biomarkers ed evoluzione della malattia coronaria.

1. Generalità su marcatori di placca instabile

Le malattie vascolari legate all'aterosclerosi sono oggi la principale causa di morte nei Paesi occidentali. In Italia sono responsabili del 44% dei decessi. Queste malattie sono in realtà la manifestazione di un'unica malattia, l'aterosclerosi, un processo che gradualmente danneggia le pareti arteriose provocando la formazione della placca aterosclerotica che ostacola il flusso di sangue arterioso. L'aterosclerosi è un processo progressivo e inesorabile che da segni di sé solo quando la situazione precipita con l'occlusione di un vaso compromettendo il flusso di sangue ad organi vitali. Da qui la comparsa di infarto del miocardio, se si ostruisce un'arteria coronaria, o di un ictus ischemico cerebrale, se si ostruisce un'arteria che porta il sangue al cervello, o ancora di gangrena ad un arto, se si ostruisce un'arteria periferica (Libby, 1995).

Le modalità con le quali avviene questa occlusione, e le sue conseguenze, dipendono dalla tipologia della placca aterosclerotica: esistono infatti 2 tipi di placca, la placca "stabile" e la placca "instabile", entrambe formate da un core lipidico, cellule infiammatorie (linfociti, macrofagi e mastocellule) e da uno strato di tessuto fibroso (il "cappuccio fibroso") (Virmani et al., 2000). Nella placca "stabile", il cappuccio fibroso è spesso e solido, cosicché la placca continua a crescere lentamente fino a diventare occlusiva. In molti casi si crea una circolazione parallela, cosiddetta "collaterale" che, se efficace, può rendere la patologia asintomatica.

Le placche cosiddette "instabili", invece, sono delle placche relativamente di piccole dimensioni, anch'esse formate da un "core" lipidico, e sono caratterizzate da un cappuccio fibroso più sottile ed una presenza massiccia delle cellule infiammatorie, che le rendono particolarmente vulnerabili e quindi pericolose in quanto il materiale contenuto all'interno della placca entra in comunicazione con il lume del vaso e si innesca rapidamente un processo che porta alla formazione di un trombo. Se il vaso è molto piccolo o, viceversa, il trombo è di grosse dimensioni, il vaso si occlude rapidamente. Non essendoci la possibilità di compensazione mediante circolazione collaterale, il flusso di sangue arterioso in quella zona si arresta improvvisamente.

E' stato stimato che circa il 90% dei casi di infarto è dovuto alla rottura delle placche "instabili". Pertanto, la prevenzione dell'infarto non passa solo attraverso il riconoscimento e il trattamento chirurgico delle ostruzioni causate dalle grosse placche "stabili", ma soprattutto attraverso l'offensiva alle placche "instabili" (Fuster, 1994; Badimon et al., 1999). Questa strategia d'attacco riconosce come principale strumento l'abbassamento dei livelli di colesterolo totale e colesterolo LDL, che sono direttamente in relazione con i grassi contenuti nel "core" della placca.

Abbiamo dimostrato come la placca aterosclerotica ha già un primo sviluppo nell'infanzia (Napoli et al. 1999). È da notare come che la causa della malattia coronarica sia solo nel 50% dei casi attribuibile ai fattori di rischio tradizionali (ipercolesterolemia, ipertensione, diabete mellito, fumo di sigaretta, obesità e inattività fisica) (Napoli et al, 2006). Ciò ha spinto i ricercatori ad esaminare altri marcatori per la malattia coronarica che possono avere un legame causale con il processo aterotrombotico. Sono stati quindi valutati nuovi fattori di rischio emergenti, quali l'iperomocisteinemia, particolari parametri lipidici (lipoproteina (a), apolipoproteina A-I e apolipoproteina B-100), i fattori protrombotici (elevate concentrazioni del fibrinogeno, del fattore di von Willebrand, del fattore VII e dell'inibitore 1 dell'attivatore del plasminogeno), la sindrome metabolica, alcuni agenti infettivi (*Helicobacter pylori*, *Chlamidia pneumoniae* e *Cytomegalovirus*) e i marcatori dell'infiammazione (alcune interleuchine, la proteina sierica amiloide A, le molecole di adesione vascolare, il TNF-alfa, il fibrinogeno, la proteina C reattiva), livelli elevati del terzo componente del complemento (Ross, 1999; Kalayoglu et al., 2000; Ridker et al., 2001; Saito et al.,

2003) ed una miriade di fattori legati all'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità (LDL) (Napoli et al, 2001).

La valutazione di ciascuno di tali fattori richiede una rivisitazione delle prove epidemiologiche, un esame del meccanismo attraverso cui il fattore potrebbe partecipare all'aterotrombosi, e la valutazione dell'utilità clinica dello screening. Infatti, in alcuni casi non esiste tuttora la prova certa che una modificazione selettiva di questi nuovi fattori di rischio sia associata a un sicuro beneficio clinico. Tuttavia, l'impiego di nuovi biomarcatori di placca aterosclerotica non è ancora di largo impiego clinico.

2. Obiettivi della Ricerca

a- Valutare il valore predittivo delle caratteristiche anatomiche (diagnosticate al momento di un evento coronarico acuto) verso successivi eventi coronarici maggiori (che attualmente nonostante gli sviluppi terapeutici hanno a 12 mesi un'incidenza del 15% circa), in associazione a marker di infiammazione e ad altri marker biochimici legati al processo ateromasico (vedi successivamente nel protocollo esecutivo);

b- Approfondire le conoscenze di fisiopatologia delle sindromi coronariche acute cercando di individuare probabili correlazioni tra i marker di infiammazione e la presenza di caratteristiche anatomiche microstrutturali di vulnerabilità di placca, nell'ipotesi che l'infiammazione correli, a livello della placca, con una marcata attività dei macrofagi, facilitante la rottura e l'erosione del cappuccio fibroso;

c- Stabilire se solo i pazienti con sindrome coronarica acuta che presentano elevati livelli sierici dei marker di infiammazione ed immagini microstrutturali di vulnerabilità di placca (poco fibrosa, ricca di lipidi e con cappuccio molto sottile), anche in assenza di stenosi significativa, andranno veramente incontro ad eventi maggiori. Tale risultato potrebbe modificare drasticamente l'approccio interventistico alle lesioni aterosclerotiche, che successivamente sarebbe subordinato all'identificazione della composizione della placca;

d- Stabilire se i pazienti con sindrome coronarica acuta e placche coronariche vulnerabili abbiano un rischio di instabilità "multicentrica", ovvero che il ricorrere di eventi coronarici sia legato a rottura di differenti placche in differenti settori coronarici.

3. Innovazione rispetto allo stato dell'arte nel campo

Questo progetto si propone di integrare e coordinare le conoscenze teorico-pratiche di un gruppo di ricercatori con solida competenza nella ricerca clinica con altri che hanno focalizzato la loro ricerca nelle tecniche di immagine applicate alla clinica, per affrontare uno dei problemi più complessi della medicina: stabilire il ruolo in vivo della morfologia della placca ateromatosa nel determinismo di eventi coronarici maggiori. L'aterosclerosi è un fenomeno molto diffuso. Recentemente mediante l'utilizzazione dell'ecografia intracoronarica si è potuto evidenziare che oltre l'80% delle persone dopo i 50 anni di età ha aterosclerosi coronarica. Eppure vi è chi muore di infarto, e chi vive fino a oltre 90 anni per poi morire di altra patologia. L'aterosclerosi di per sé non è il problema dominante. Tutto il mondo scientifico e tecnologico sta concentrando i suoi sforzi per capire come, perché e quando l'aterosclerosi diventi ad elevato rischio. Per la comunità scientifica, l'obiettivo della ricerca sulla cardiopatia ischemica si è spostato da "quando trattare" a "chi trattare". Le tecnologie da noi proposte rappresentano una seria sfida a queste problematiche.

4. Compito dell'Unità di ricerca e protocollo diagnostico dei biomarkers

Il ruolo principale della nostra Unità di Ricerca è quello di eseguire (su un gruppo di 20 pazienti con sindrome coronaria acuta e 20 soggetti sani di controllo) in cieco i dosaggi plasmatici dei principali marker di danno miocardio e di nuovi indici di infiammazione (proteina C reattiva (PCR), troponina, Interleuchina-6, Interleuchina-10, Interleuchina-12, TNF-alfa, TNF-alfa/Interleuchina 10, LDL-ossidate, anticorpi anti heat shock protein 60, ed anticorpi contro la Chlamydia) al fine di indagare le possibili relazioni con l'aspetto morfologico delle lesioni. Varie sono le collaborazioni su territorio con Unità Coronariche, inclusa quella dell'Ospedale dei Pellegrini Vecchio, ASLNA1 e con le Divisioni di Cardiologia dei Policlinici Universitari.

La misura delle citochine sarà effettuata mediante l'utilizzo di vari kit commerciali ad alta sensibilità per analisi ELISA. La PCR sarà misurata attraverso un dispositivo di dosaggio ultrasensibile (high sensitivity PCR) che utilizza la nefelometria (Dade-Behring, BN-100, Marburg, Germany), con un intervallo di misurazioni da 0.2 a 1000 mg/L e un coefficiente di variazione < 3% ad un intervallo di 2-4 mg/L. Inoltre sarà esplorato il comportamento combinato di alcune citochine in corso di sindrome coronarica acuta e valutare il suo significato prognostico.

5. Prospetto economico

Borsa di Studio per Personale Laureato in Scienze biologiche, o Biotecnologie, o Tecniche di laboratorio biomedico con esperienza biennale di patogenesi del danno vascolare e studio della traduzione del segnale 14.000 €

Materiale di consumo ovvero reagenti dedicati per l'individuazione di marcatori della placca instabile (materiale monouso; kit ELISA; Hystopaque; fibronectina; lectina; acLDL; mezzi e kit per colture cellulari) 40.000 €

Piccole attrezzature non inventariabili (centrifuga, rotore e adattatori per micropiastre ELISA; apparato per PCR) 20.000 €

Spese per Missioni con scopo di aggiornamento delle tematiche inerenti il progetto di ricerca e Convegno per la divulgazione delle scoperte ottenute 10.000 €

SPESA TOTALE DEL PROGETTO

84.000 €

6. Bibliografia del progetto di Ricerca

Badimon JJ, Zaman A, Helft G, et al: Acute coronary syndromes: pathophysiology and preventive priorities. *Thromb Haemost* 1999; 82:997-1004.

Fuster V. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation*. 1994; 90:2126-46.

Kalayoglu MV, Indrawati, Morrison RP, Morrison SG, Yuan Y, Byrne GI. Chlamydial virulence determinants in atherogenesis: the role of chlamydial lipopolysaccharide and heat shock protein 60 in macrophage-lipoprotein interactions. *J Infect Dis.*, 2000; 181:S483-9.

Libby P: Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*, 1995; 91: 2844-50.

Napoli C, Glass CK, Witztum JL, Deutsch R, D'Armiento FP, Palinski W. Influence of maternal hypercholesterolaemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesions in childhood: Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. *Lancet*, 1999; 354:1234-41.

Napoli C, Lerman LO. Involvement of oxidation-sensitive mechanisms in the cardiovascular effects of hypercholesterolemia. *Mayo Clin Proc.*, 2001; 76:619-31.

Napoli C, Lerman LO, de Nigris F, Gossel M, Balestrieri ML, Lerman A. Rethinking primary prevention of atherosclerosis-related diseases. *Circulation*, 2006; 114:2517-27.

Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA*, 2001; 285: 2481-2485.

Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med.*, 1999; 340:115-26.

Saito M, Toshihiko I, Minami J, Ono H, Ohruji M, Matsuoka H. Relations of plasma high-sensitivity C-reactive protein to traditional cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis*, 2003; 167,73-79.

Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Lessons from sudden coronary death: A comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 2000; 20:1262-1275.

Assistenza Sanitaria Area Generale di Coordinamento 20

*Commissione per la valutazione dei progetti
Delibera n° 1482 /07 - Decreto Assessorile n°392/07*

Progetto: ...

VALUTAZIONE INNOVATIVA DI BIOMARKERS IMPLICATI NELLA VULNERABILITA' TROMBOEMBOLICA DELLA PLACCA ATEROSCLEROTICA

N° Protocollo del/..../....

Ente proponente: Seconda Università degli Studi di Napoli.....

Responsabile scientifico: Prof Napoli Claudio.....

Criteria di valutazione

- | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 1. Coerenza con gli obiettivi strategici nazionali e regionali. | X <i>Si</i> <i>No</i> |
| | |
| 2. Coerenza tra obiettivi, contenuti e strutturazione dell' intervento. | X <i>Si</i> <i>No</i> |
| | |
| 3. Integrazione interna tra i vari operatori partecipanti al progetto (interdisciplinarietà/intersettorialità) . | X <i>Si</i> <i>No</i> |
| | |
| 4. Integrazione esterna con tutti gli operatori afferenti al progetto di strutture diverse da quelle dell'Ente proponente, ove previsto. | <i>Si</i> X <i>No</i> |
| | |
| 5. Consistenza del personale assegnato al progetto ed adeguata corrispondenza tra le risorse umane, le attività previste ed i risultati attesi. | X <i>Si</i> <i>No</i> |
| | |
| 6. Definizione degli indicatori e procedure per la verifica del raggiungimento degli obiettivi (di processo, di risultato e di gradimento). | X <i>Si</i> <i>No</i> |
| | |
| 7. Dimostrazione dei caratteri di appropriatezza, efficacia ed efficienza del progetto. | X <i>Si</i> <i>No</i> |

-
8. Congruità della durata del progetto rispetto agli obiettivi del progetto stesso. *X Si No*
-

9. Dichiarazione delle risorse impiegate dalla struttura proponente il progetto per l'attuazione dello stesso. *X Si No*
-

Valutazione sulla qualità del progetto

1. Livello di dettaglio. *Ottimo X Buono Suff. Insuff.*
-

2. Progettazione partecipata per il coinvolgimento di più strutture – interne o esterne all'Ente proponente. *Alta X Media Bassa Nulla*
-

3. Monitoraggio del progetto attraverso la definizione di strumenti e modalità di osservazione. *X Chiaro Suff. Insuff.*
-

4. Fattibilità *X Alta Media Bassa*
-

5. Coinvolgimento diretto di più operatori. *Buono X Discreto Suff.*
-

6. Benefici potenziali per l'intera collettività. *X Alta Media Bassa*
-

7. Riproducibilità del progetto sull'intero territorio regionale. *X Alta Media Bassa*
-

8. Analisi dei costi.

Buono X Suff. Insuff.

.....

La commissione: