

## L'ESPRESSIONE SREGOLATA DEL GENE "ANKYRIN REPEAT DOMAIN 1" DURANTE LO SVILUPPO MIocardICO CAUSA RITORNO VENOSO POLMONARE ANOMALO E DIFETTI MORFOGENETICI ATTRAVERSO UNA COMPROMISSIONE DEL RIMODELLAMENTO CARDIACO

M. Campione<sup>1</sup>, G.S. Ganzetti<sup>2</sup>, S. Manzini<sup>2</sup>, L. Monti<sup>3</sup>, G. Chiesa<sup>2</sup>, M. Busnelli<sup>2</sup>, F. Dellerà<sup>2</sup>, I. Badi<sup>4</sup>, F. Acquati<sup>3</sup>, C. Parolini<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>CNR - Istituto di Neuroscienze, Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Padova; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Teoriche e Applicate, Università degli Studi dell'Insubria, Varese; <sup>4</sup>Experimental Cardio-Oncology and Cardiovascular Aging Unit, Centro Cardiologico Monzino-IRCCS, Milano

La proteina CARP (Cardiac Ankyrin Repeat Protein 1), codificata dal gene *Ankyrin repeat domain 1 (Ankrd1)*, è stata identificata nelle cellule endoteliali dei vasi, nei cardiomiociti, nel muscolo scheletrico e nelle cellule muscolari lisce. Studi di embriogenesi hanno evidenziato come CARP mRNA sia espresso nel miocardio di embrioni a partire da 8,5 giorni di gestazione per poi gradualmente diminuire nei neonati e nell'adulto. Questo pattern di espressione suggerisce che CARP possa funzionare come un inibitore dell'espressione genica cardiaca e possa svolgere un ruolo fondamentale nella morfogenesi cardiaca. Risultati ottenuti dal nostro gruppo di ricerca hanno portato all'identificazione del gene *Ankrd1* come uno dei geni responsabili del ritorno venoso anomalo polmonare totale (TAPVR). Il TAPVR è una malattia cardiaca congenita in cui le vene polmonari non confluiscono nell'atrio sinistro ma in una struttura venosa sistemica. In particolare, due pazienti affetti da TAPVR presentavano una sovraespressione della proteina CARP: a livello di trascritto, nel portatore della traslocazione 10;21, mentre nel portatore della mutazione missense T116M (sostituzione di una treonina con una metionina) a livello di una maggior stabilità della proteina. Questi dati suggeriscono che la sovraespressione di CARP durante la morfogenesi cardiaca possa essere associata a una connessione anomala delle vene polmonari. Per questo motivo sono state generate due linee transgeniche murine che sovraesprimono rispettivamente la proteina CARP wild-type (WT-CARP) e la proteina mutata (T116M-CARP) sotto il controllo del promotore del gene murino per la catena pesante della miosina, al fine di ottenere un'espressione del transgene esclusivamente a livello del miocardio. Embrioni da topi WT-CARP e T116M-CARP sono stati prelevati 10,5 e 14,5 giorni dopo l'accoppiamento e processati per analisi morfologiche e di espressione. In parallelo sono stati prelevati anche embrioni da topi non transgenici. Rispetto ai cuori di embrioni controllo, i cuori di embrioni WT-CARP e T116M-CARP presentavano difetti morfogenetici e connessioni anomale delle vene polmonari, associati a marcate alterazioni strutturali tipiche di TAPVR. Inoltre, il cuore degli embrioni transgenici presentava atri di dimensioni anomale con alterazioni del setto interatriale. Infine, la trabecolazione delle camere cardiache era significativamente maggiore rispetto a quanto osservato nelle camere dei cuori controllo. In conclusione, possiamo definire CARP come una "critical sensor-signaling molecule" in grado di modulare le proprietà dei cardiomiociti

ti durante lo sviluppo neonatale. I nostri risultati aggiungono nuovi livelli di complessità nella regolazione genetica dello sviluppo cardiaco.

## IL PARADOSSO DELLE STATINE IN CELLULE VALVOLARI TRICUSPIDI E BICUSPIDI

P. Songia, E. Tremoli, P. Poggio  
 Centro Cardiologico Monzino, IRCCS

**Introduzione.** Le statine sono prescritte principalmente per la loro capacità di abbassare il colesterolo, ma hanno anche effetti benefici non correlati al metabolismo del colesterolo. Negli ultimi dieci anni, diversi studi clinici sono stati eseguiti per arrestare la progressione della calcificazione della valvola aortica (AV), mostrando sostanziale equivalenza tra trattamenti e placebo. È stato ipotizzato che la terapia fosse stata iniziata troppo tardi per essere efficace. Infatti, in letteratura è stato descritto il "paradosso delle statine", in cui il trattamento con statine ha portato alla diminuzione di marcatori osteoblastici in miofibroblasti valvolari, aumentando però gli stessi in osteoblasti valvolari. Le cellule interstiziali valvolari (VIC) sono plastiche, nella valvola sana sono in uno stato quiescente e durante lo sviluppo della patologia dell'AV si differenziano prima in miofibroblasti e infine in osteoblasti.

**Metodi.** Abbiamo isolato VIC da AV tricuspidi (TAV; n=5) e da AV bicuspidi (BAV; n=5). Abbiamo utilizzato basse concentrazioni di fosfato-inorganico (lowPi; 2 mM) per simulare lo stadio iniziale della patologia e alte concentrazioni (highPi; 5 mM) per gli stadi avanzati. Le cellule sono state trattate per 7 giorni in presenza di statine (pravastatina, simvastatina e atorvastatina) a diverse concentrazioni per valutarne l'effetto sulla calcificazione delle VIC.

**Risultati.** Il trattamento con lowPi ha portato alla calcificazione sia di TAV-VIC che di BAV-VIC senza differenze ( $121 \pm 14,0$  vs  $167 \pm 21,9$  ng). Il trattamento con highPi ha mostrato differenze significative ( $p < 0,001$ ) tra le due popolazioni, dove BAV-VIC hanno prodotto più depositi di calcio ( $390 \pm 41,6$  ng) rispetto a TAV-VIC ( $97 \pm 23,0$  ng). I trattamenti con pravastatina+lowPi, hanno mostrato un netto aumento delle calcificazioni in TAV-VIC ( $p < 0,01$ ), mentre hanno portato a una significativa riduzione in BAV-VIC ( $p < 0,05$ ). La simvastatina ha diminuito le calcificazioni in entrambe le popolazioni ( $p < 0,001$ ) e l'atorvastatina le ha aumentate in entrambe ( $p < 0,05$ ). In presenza di highPi, tutte e tre le statine hanno aumentato significativamente le calcificazioni in TAV-VIC ( $p < 0,001$ ), mentre solo la pravastatina le ha aumentate in BAV-VIC ( $p < 0,05$ ).

**Conclusioni.** I nostri esperimenti mostrano che la simvastatina può avere un effetto benefico nelle fasi iniziali della calcificazione della valvola aortica, mentre gli effetti della pravastatina sono legati alla morfologia della valvola stessa.