

**Università degli Studi di Ferrara**



**DOTTORATO DI RICERCA IN  
"Farmacologia e Oncologia Molecolare"  
CICLO XXVI  
COORDINATORE Prof. Antonio Cuneo**

**Specifici markers di infiammazione in pazienti con Scompenso  
cardiaco e/o Broncopneumopatia cronica ostruttiva**

**Settore Scientifico Disciplinare BIO/14**

**Dottorando**

**Dott.ssa Mariarita Stendardo**

**Tutore**

**Prof.ssa Piera Boschetto**

**Anni 2011/2013**

<b>PARTE INTRODUTTIVA</b>	<b>7</b>
1.0 INTRODUZIONE	8
1.1 LO SCOMPENSO CARDIACO	11
1.2 LA BRONCOPNEUMOPATIA CRONICA OSTRUTTIVA	18
1.3 COMORBIDITÀ	23
• Scompenso cardiaco e comorbidity	24
• BPCO e comorbidity	26
1.4 BIOMARCATORI	28
• Prodotti finali di glicazione avanzata (AGE/RAGE)	29
• Pentrassine (PCR e PTX3)	31
• Citochine (IL-1beta e SIL-1RII)	34
<b>PARTE SPERIMENTALE</b>	<b>38</b>
2.0 SCOPO DELLA TESI	39
2.1 MATERIALI E METODI	40
2.3 RISULTATI	47
2.4 DISCUSSIONE	53
<b>3.0 CONCLUSIONI</b>	<b>59</b>
<b>4.0 BIBLIOGRAFIA</b>	<b>60</b>
<b>5.0 TABELLE E FIGURE</b>	<b>77</b>
<b>6.0 CURRICULUM VITAE</b>	<b>87</b>

## **ABSTRACT**

**INTRODUZIONE:** Lo scompenso cardiaco (SC) e la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) sono patologie molto diffuse e spesso associate nella popolazione anziana con significativa storia di fumo. Il basso grado d'infiammazione sistemica è considerato un possibile meccanismo patogenetico comune alle due condizioni.

**SCOPO DELLO STUDIO:** Abbiamo indagato se mediatori dell'infiammazione noti (hs-CRP e IL-1 $\beta$ ) e meno noti [forma solubile del recettore del prodotto finale di glicazione avanzata (sRAGE), il prodotto finale della glicazione avanzata (AGE), N-( carbossimetil) lisina (CML), pentraxina 3 e recettore solubile dell'IL-1 (SIL - 1RII)] fossero implicati in queste due patologie.

**MATERIALI E METODI:** Per la valutazione del sistema AGE/RAGE abbiamo reclutato pazienti di età  $\geq 50$  anni e con storia di fumo  $\geq 10$  pacchetti/anno, con diagnosi di BPCO (n=70) o SC (n=124).

Per la valutazione dell'espressione dei marcatori Hs-CRP, PTX3, IL-1 $\beta$ , SIL-1RII sono stati, invece, reclutati 143 soggetti, di età  $\geq 65$  anni, divisi in cinque gruppi: 58 con SC, 23 con BPCO, 27 con SC+BPCO e 35 controlli (17 fumatori sani e 18 non fumatori sani). Da entrambe le popolazioni in studio sono stati esclusi i soggetti diabetici. Tutti i pazienti hanno eseguito ecocardiografica di routine, dosaggio del peptide natriuretico cerebrale (NT-proBNP), test spirometrici e prelievo di sangue. I livelli plasmatici di sRAGE, CML, Hs-CRP, PTX3, IL-1 $\beta$  e SIL-1RII, sono stati determinati utilizzando un sandwich enzyme-linked test immunoenzimatico (ELISA).

**RISULTATI:** I soggetti con SC, ma non quelli con BPCO, hanno evidenziato livelli plasmatici di sRAGE e CML più alti rispetto ai

controlli [sRAGE:0,48 ( 0,37-0,83 ) vs 0,42(0,29-0,52) ng/mL, p=0.0; CML:1,95(1,58-2,38) vs 1.68 (1,43-2,00) ng/mL, p=0,01]. NT-pro-BNP, marcatore diagnostico e prognostico di SC, correlava positivamente con sRAGE , ma non con CML, in tutti i pazienti.

I soggetti con BPCO, invece, mostravano un aumento dei livelli plasmatici di Hs -CRP , IL- 1 $\beta$  , e sIL-1RII rispetto ai pazienti con SC e ai controlli(p<0.05).

**CONCLUSIONI:** Questi dati confermano l'ipotesi di un'inflammazione sistemica di basso grado alla base di SC e BPCO. I biomarkers che mediano il processo infiammatorio sono, però, diversi per le due malattie. L'inflammazione sistemica, infatti, coinvolge l'asse AGE/RAGE per i pazienti con SC, mentre per i soggetti BPCO sono interessate le citochine proinfiammatorie ed i loro recettori.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Chronic Heart failure (CHF) and Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are widespread diseases that often relate to smoking history and age. Low-grade systemic inflammation is considered a possible pathogenic mechanism common to both conditions.

**AIMS:** To investigate whether specific inflammation mediators, both known (hs-CRP and IL-1 $\beta$ ) and the less known [soluble form receptor for advanced glycation end product (sRAGE), advanced glycation end product (AGE), N-(carboxymethyl) lysine (CML), pentraxin 3 and soluble IL-1 receptor (SIL - 1RII)] are involved in these two diseases.

**MATERIALS AND METHODS:** In order to evaluate the AGE/RAGE system patients aged 50 years or older and with a  $\geq 10$  packs-years, with COPD diagnosis (n=70) or CHF (n=124) were recruited. Moreover, in order to evaluate the expression of the putative markers Hs-CRP, PTX3, IL- 1 $\beta$ , SIL-1RII, 143 patients aged 65 years or older were recruited and divided into five groups: 58 with CHF, 23 with COPD, 27 with CHF+COPD and 35 controls (17 healthy smokers and 18 healthy non-smokers). Diabetic subjects were excluded from both populations. All patients underwent routine echocardiography, brain natriuretic peptide dosage (NT-proBNP), spirometry tests and blood sampling. sRAGE, CML, Hs-CRP, PTX3, IL- 1 $\beta$  and SIL-1RII plasma levels were determined using an enzyme-linked immunosorbent assay test (ELISA).

**RESULTS:** CHF subjects, but not COPD subjects, had higher sRAGE and CML plasma levels compared to controls [sRAGE:0,48 ( 0,37-0,83) vs 0,42(0,29-0,52) ng/mL, p=0.0; CML:1,95(1,58-2,38) vs 1.68 (1,43-2,00) ng/mL, p=0,01]. NT-pro-BNP, diagnostic and prognostic CHF

marker, positively correlated to sRAGE, but not to CML, in all patients. Nevertheless COPD subjects showed increased Hs -CRP, IL- 1 $\beta$ , and sIL-1RII plasma levels compared to CHF patients and controls( $p < 0.05$ ). CONCLUSIONS: These data support the hypothesis for a low-grade systemic inflammation underlying both CHF and COPD. Nevertheless, the expression of specific inflammation-related biomarkers differs in these two conditions. In fact, systemic inflammation involves the AGE/RAGE axis for CHF patients, whereas in COPD patients, both proinflammatory cytokines and their receptors are involved.

# *Parte*

# *Introduttiva*

## 1. INTRODUZIONE

Nell'ultimo secolo le malattie croniche sono diventate il principale problema di salute pubblica per l'intera popolazione mondiale. Esse sono responsabili non solo di un aumento dei costi sociali sostenuti dai vari stati, ma anche di un aumento del tasso di mortalità nei paesi a basso e medio reddito.

Le malattie croniche di più frequente riscontro nella popolazione generale sono: patologie cardiovascolari, cancro, malattie respiratorie croniche e sindrome metabolica (ipertensione, diabete, dislipidemia). Si stima che i pazienti con due o più malattie croniche rappresentino circa il 26% della popolazione generale, mentre quasi la metà della popolazione anziana ( $\geq 65$  anni) ha almeno tre o più condizioni mediche croniche associate.

Alla base delle principali malattie croniche ci sono fattori di rischio comuni e modificabili, come alimentazione poco sana, consumo di tabacco, abuso di alcol, mancanza di attività fisica. Queste cause possono generare quelli che vengono definiti fattori di rischio intermedi, ovvero l'ipertensione, la glicemia elevata, l'eccesso di colesterolo e l'obesità. Ci sono poi fattori di rischio che non si possono modificare, come l'età e la predisposizione genetica. Nel loro insieme questi fattori di rischio sono responsabili della maggior parte dei decessi per malattie croniche in tutto il mondo e in entrambi i generi.

Le malattie croniche, però, sono legate anche a determinanti socioeconomici, culturali, politici ed ambientali: la globalizzazione,

l'urbanizzazione, l'invecchiamento progressivo della popolazione, le politiche ambientali, la povertà.

## Cause delle malattie croniche



Fonte oms (1)

Proprio il progredire dell'invecchiamento della popolazione aumenta la prevalenza delle malattie croniche quali le patologie cardiovascolari e le malattie respiratorie croniche. In specifico, tra le cardiopatie lo scompenso cardiaco (SC) rappresenta una delle principali cause di morbilità nel soggetto anziano, mentre tra i disturbi respiratori cronici la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è quella di più frequente riscontro. È quindi elevata la probabilità che le due patologie coesistano in uno stesso paziente; circa il 60 % dei soggetti di età superiore ai 65 anni, infatti, è affetto da entrambe le patologie (2)

Si rende quindi necessario comprendere i meccanismi comuni alle due patologie. Ad oggi si ritiene che i più probabili tra questi siano:

1. predisposizioni genetiche condivise,
2. stress ossidativo

3. infiammazione cronica di basso grado (chronic low-level inflammation).

L'infiammazione è il meccanismo più accreditato ed un numero sempre crescente di studi evidenzia un aumento dei livelli ematici di diverse citochine infiammatorie [interleuchina (IL)-6, CXCL8 (IL- 8), e IL-18], del fattore di necrosi tumorale-alfa (TNF $\alpha$ ) e delle proteine di fase acuta [proteina C-reattiva (CRP), siero amiloide A (SAA) e fibrinogeno] nelle patologie croniche.

Questi mediatori, però, non sono specifici di alcuna singola patologia.

Il biomarcatore ideale, infatti, dovrebbe possedere caratteristiche di elevata sensibilità e specificità per la patologia, onde consentire una diagnosi accurata e precoce, avere un prolungato tempo di permanenza in circolo per consentire una diagnosi tardiva e/o retrospettiva ed essere facilmente dosabile. Nessuno dei mediatori sopraelencati soddisfa queste condizioni per quanto riguarda la BPCO e lo SC. Ci prefiggiamo, quindi, di identificare dei biomarcatori di BPCO e SC che permettano la valutazione di iniziali alterazioni biochimiche, la diagnosi precoce della malattia e l'individuazione di fenotipi di pazienti suscettibili a trattamenti personalizzati.

## 1.1 LO SCOMPENSO CARDIACO

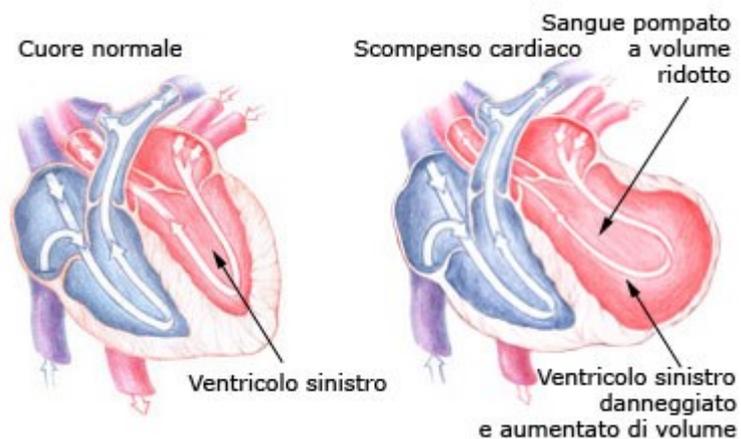
Lo scompenso cardiaco (SC) è, nel mondo occidentale, una delle patologie croniche a maggiore diffusione e a più alto impatto sulla sopravvivenza, sulla qualità di vita dei soggetti e sull'utilizzo di risorse sanitarie (3). Esso rappresenta un grande problema di sanità pubblica e, considerando il progressivo invecchiamento della popolazione generale, la sua prevalenza (attualmente del 0.4-2 %) è destinata ad aumentare nei prossimi anni: si stima che il numero di persone affette da questa patologia raddoppierà entro il 2030 (4).

In Italia (dati ISTAT) l'1-2% della popolazione è affetta da SC (asintomatico e conclamato), più dei 2/3 di questi sono soggetti in età avanzata.

Lo SC è causa, inoltre, di oltre 200 mila ricoveri per riacutizzazioni l'anno e di un'alta percentuale di mortalità: 1/3 dei pazienti muore dopo un anno dal ricovero ed uno su due a meno di 5 anni dal ricovero.

Lo SC viene definito come un'anomalia strutturale o funzionale per cui il cuore non è in grado di pompare sangue in quantità sufficiente a soddisfare le

richieste metaboliche dei tessuti periferici. L'incapacità dell'organo cardiaco a soddisfare i fabbisogni tissutali può essere dovuta ad un suo



riempimento inefficace e insufficiente e/o ad una sua anomala contrazione e svuotamento (5).

Clinicamente viene definito come una sindrome in cui i pazienti hanno sintomi tipici (dispnea, gonfiore alle caviglie ed edemi diffusi, astenia ed affaticamento) e segni (aumento della pressione venosa giugulare, rantoli polmonari, ecc.) dovuti ad un'anomala struttura o funzione cardiaca.

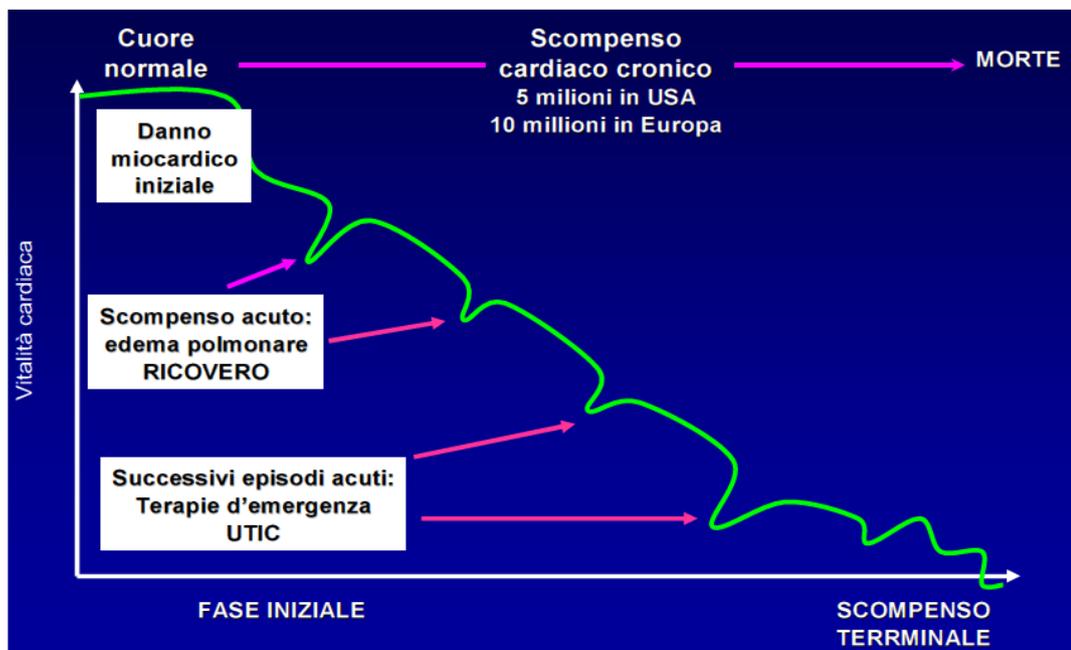
Il valore utilizzato per misurare l'efficacia di pompa del cuore è chiamato frazione di eiezione (FE). La frazione di eiezione del cuore è il rapporto tra il volume sistolico ed il volume telediastolico. Esso può essere considerato come la frazione o porzione di sangue che il cuore pompa dal ventricolo sinistro a ogni battito cardiaco. Nei soggetti con un cuore normale e sano la frazione di eiezione è pari circa al 67% . Questo significa che il 67 % del sangue che riempie il ventricolo sinistro viene pompato nel corpo ad ogni contrazione (6).

Nei pazienti affetti da scompenso cardiaco tale valore è al di sotto del 50% (6). Esistono pertanto diverse definizioni di SC che tuttavia tendono ad evidenziare aspetti specifici di questa sindrome.

Attualmente , il termine **scompenso cardiaco acuto** (SCA) è spesso utilizzato per indicare uno scompenso di nuovo riscontro manifestatosi acutamente, o un episodio di aggravamento acuto del quadro clinico nel contesto di uno scompenso cardiaco cronico, in occasione di fattori precipitanti (scarsa aderenza alla terapia, aritmie, infezioni, anemia, eccessi fisici, dietetici, ambientali ed emotivi, incremento dei valori pressori, infarto miocardico, embolia polmonare, miocardite, endocardite, tireotossicosi o gravidanza), che impongono uno sforzo aggiuntivo su di un miocardio già cronicamente sovraccaricato.

Lo **scompenso cardiaco cronico (SCC)** è invece la condizione che meglio rappresenta la storia naturale della malattia. Infatti, lo SCC è un'affezione tendenzialmente progressiva, la cui storia naturale è caratterizzata da un lento declino della funzionalità cardiaca e la cui prognosi peggiora nettamente ad ogni episodio di riacutizzazione (v. figura 1).

Figura 1 Storia naturale dello scompenso cardiaco (7)



La disfunzione ventricolare alla base dell'insorgenza dello SC è principalmente determinata da numerose patologie cardiache, quali ad esempio le cardiopatie ischemiche ed ipertensive, le anomalie della funzione diastolica ventricolare, le alterazioni della funzione delle valvole cardiache, le alterazioni del ritmo e della conduzione cardiaca .

La diagnosi di SC può essere difficile, specialmente nelle fasi iniziali, molti dei sintomi non sono specifici e quelli più specifici (ad esempio ortopnea e dispnea parossistica notturna) sono meno comuni, soprattutto nei pazienti con sintomatologia lieve. La definizione diagnostica dello scompenso cardiaco si basa sulla coesistenza di tre condizioni : presenza di sintomi tipici di SC (dispnea, gonfiore alle caviglie ed edemi diffusi, astenia ed affaticamento), presenza di segni tipici di SC (aumento della pressione venosa giugulare, rantoli polmonari) e ridotta FE.

A livello clinico-diagnostico rivestono grande importanza alcuni biomarcatori utilizzati come indici delle alterazioni fisiopatologiche tipiche della sindrome: i peptidi natriuretici (PN).

Nel paziente con SCC i PN, peptide natriuretico cerebrale (BNP), frammento amino-terminale del BNP(Nt-proBNP) e fattore natriuretico atriale (ANP), forniscono preziose informazioni, oltre che per la diagnosi di riacutizzazione, anche per la valutazione di gravità dello scompenso (8). Essi vengono anche utilizzati come indicatori prognostici, di stabilità e guida al trattamento durante il follow-up. I loro valori sono fortemente predittivi sia di mortalità intraospedaliera che di decesso e riospedalizzazione a distanza. Altri biomarcatori di stress cardiomiocitario non ancora entrati nell'impiego clinico corrente, sono l'adrenomedullina (peptide di 52 aminoacidi sintetizzato in vari organi tra cui cuore, surrene, polmoni e reni, potente vasodilatatore, con effetti inotropi e natriuretici; i suoi livelli correlano con presenza e gravità dello SC) e l'ST2 (membro della famiglia di recettori per l'interleuchina-1 che ha come ligando endogeno l'interleuchina-33, rilasciata a seguito dello stress miocitario e i cui livelli correlano con severità clinica e prognosi) (8).

Questi sono alcuni dei biomarcatori utilizzati per la gestione dei pazienti affetti da SC, poco invece si conosce sull'infiammazione nello SCC.

Il ruolo dell'infiammazione nei meccanismi fisiopatologici alla base dello scompenso cardiaco è tutt'oggi molto discusso.

Alcune evidenze in letteratura dimostrano che il danno ai cardiomiociti porta ad un'eccessiva produzione di citochine e di mediatori dell'infiammazione la cui produzione compromette ulteriormente la funzione miocardica. (nex biom 5). Diversi studi riportano, inoltre, che nello SC i livelli plasmatici di TNF-  $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6 aumentano all'aumentare della gravità della patologia definita dalla classificazione funzionale New York Heart Association (NYHA) (9). Il processo infiammatorio, quindi, è verosimile possa concorrere alla patogenesi dello SC insieme a cambiamenti emodinamici e ormonali.

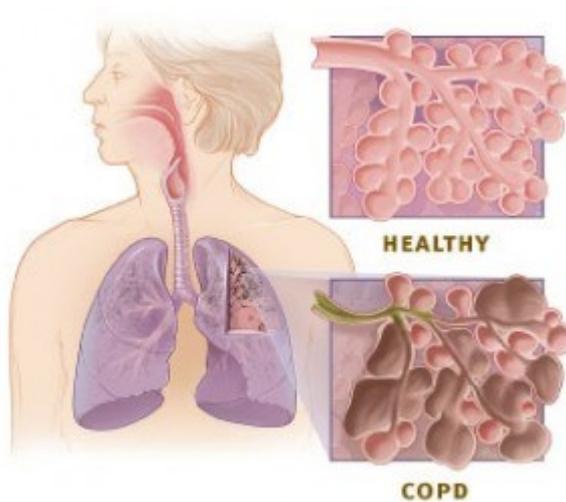
La riduzione della gittata cardiaca, infatti, determina una serie di reazioni neuroormonali finalizzate al compenso emodinamico, la cui prima conseguenza è l'attivazione del sistema nervoso simpatico, con aumento sia della frequenza che della contrattilità cardiaca. La successiva riduzione della perfusione renale porta, inoltre, all'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, con vasocostrizione ed aumento della ritenzione di sodio ed acqua. Tali meccanismi adattativi hanno però, nel lungo periodo, effetti negativi con peggioramento dell'ipoperfusione periferica ed aumento del lavoro cardiaco. Per tale motivo l'organismo attiva processi di tipo controregolatore. Uno dei più importanti è rappresentato dai peptidi natriuretici, secreti dalle cellule degli atri e dei ventricoli (BNP ed ANP) ed aventi prevalentemente effetto vasodilatatorio e natriuretico.

L'aumento nel plasma di tali molecole, più nello specifico del BNP, sembra inoltre essere correlato allo stato infiammatorio sistemico (10).

Alla luce di quanto esposto sinora sarebbe quindi utile considerare anche markers dello stato infiammatorio, ottimi candidati sia come futuri bersagli terapeutici per lo sviluppo di nuovi farmaci, sia come eventuali biomarcatori di stato di malattia.

## 1.2 LA BRONCOPNEUMOPATIA CRONICA OSTRUTTIVA (BPCO)

La Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva (BPCO) è la quarta causa di morte a livello mondiale dopo malattie cardio-vascolari, cerebrovascolari ed infezioni respiratorie (11). La BPCO è una malattia prevenibile e trattabile caratterizzata da una persistente limitazione al flusso aereo, che è solitamente evolutiva e associata ad una aumentata risposta infiammatoria cronica delle vie aeree e del polmone a particelle nocive o gas. Le riacutizzazioni e la presenza di comorbidità contribuiscono alla gravità complessiva di questi pazienti (12).



La BPCO è una delle principali cause di morbidità e mortalità nel mondo e comporta un costo economico e sociale consistente e crescente. La prevalenza, la morbilità e la mortalità della BPCO variano tra i diversi Paesi e tra diversi gruppi di popolazione nell'ambito di una stessa nazione. Essa è il risultato di una esposizione persistente ai fattori di rischio nel corso del tempo e, anche se spesso la sua prevalenza è direttamente correlata alla prevalenza dell'abitudine tabagica, oggi in molti Paesi l'inquinamento ambientale, professionale e quello degli ambienti interni (dovuto alla combustione di legna o altri biocombustibili) stanno rivestendo un ruolo importante come fattori di rischio prevalenti di malattia. Nei prossimi decenni è previsto un

aumento della prevalenza e dell'impatto della BPCO dovuto alla persistente esposizione ai fattori di rischio e al progressivo invecchiamento della popolazione mondiale, con presenza di persone che vivono più a lungo e quindi manifestano gli effetti a lungo termine dell'esposizione ai fattori di rischio della malattia. Nella popolazione generale si stima una prevalenza di circa il 5% nell'adulto, mentre nell'anziano si possono raggiungere tassi di prevalenza di circa il 20%. La morbilità per BPCO è maggiore negli uomini che nelle donne ed aumenta rapidamente con l'età. Questa differenza tra i sessi è legata alla maggior prevalenza di fumo di sigaretta nel sesso maschile e alla diversa esposizione professionale ad agenti nocivi. Dati recenti evidenziano, però, un aumento dell'abitudine al fumo di sigaretta tra le donne e ciò potrebbe influenzare i futuri quadri di morbilità per BPCO. Le donne potrebbero, infatti, essere più sensibili allo sviluppo di BPCO quando esposte ai fattori di rischio (tabacco).

La BPCO porta ad una sostanziale invalidità, alla perdita di produttività e ad una peggiore qualità della vita che aumentano con il progredire della malattia. Il suo impatto socio-economico è molto importante. Le riacutizzazioni e l'insufficienza respiratoria possono rendere necessario sia il ricovero in ospedale che terapie complesse e costose.

L'ostruzione cronica bronchiale caratteristica della BPCO è causata in parte dalle alterazioni a carico delle piccole vie aeree (bronchite ostruttiva) e in parte dalla distruzione parenchimale (enfisema); il contributo di ciascuna di queste due componenti varia da un individuo all'altro (Figura 1.1).



L'infiammazione cronica causa dei cambiamenti strutturali e il restringimento delle piccole vie aeree. La distruzione del parenchima polmonare, determinata anche dai processi infiammatori, porta alla perdita degli attacchi alveolari alle piccole vie aeree e alla riduzione della forza di retrazione elastica polmonare; queste alterazioni riducono la capacità delle vie aeree a mantenersi pervie durante la fase espiratoria.

Definizioni precedenti di BPCO hanno enfatizzato i termini “enfisema” e “bronchite cronica”, che oggi non rientrano più nella definizione utilizzata. Enfisema o distruzione delle superfici di scambio dei gas del polmone (alveoli) è un termine anatomopatologico spesso utilizzato (impropriamente) in ambito clinico, che esprime solo una delle diverse alterazioni morfologiche della BPCO. La definizione di bronchite cronica (presenza di tosse ed espettorazione per almeno tre mesi l'anno per due anni consecutivi) rimane utile in ambito clinico ed epidemiologico, tuttavia, è importante riconoscere che la tosse cronica e la produzione di espettorato rappresentano un'entità nosologica indipendente che può precedere o seguire lo sviluppo della limitazione del flusso aereo e può essere associata con la comparsa e/o la

progressione di una persistente ostruzione bronchiale. La bronchite cronica può manifestarsi anche in soggetti con spirometria normale.

Sebbene il fumo sia il fattore di rischio meglio studiato della BPCO, non è l'unico fattore; vari studi indicano in maniera evidente che anche i non fumatori possono sviluppare un'ostruzione cronica delle vie aeree (11).

La comprensione attuale dei fattori di rischio e le interazioni fra di essi nella BPCO è per molti aspetti ancora incompleta e richiede ulteriori ricerche. Tuttavia, ad oggi possiamo affermare che la BPCO derivi da un'interazione gene-ambiente. Tra le persone con la medesima storia di fumo, infatti, non tutti svilupperanno la BPCO a causa delle differenze di predisposizione genetica verso la malattia o della durata di vita. L'invecchiamento è di per sé un fattore di rischio per la BPCO e l'invecchiamento delle vie aeree e del polmone determina alcune modificazioni strutturali simili a quelle associate alla BPCO.

Recenti evidenze hanno illustrato molto chiaramente che la BPCO non è solo una malattia infiammatoria cronica delle vie aeree e dei polmoni, ma è una malattia sistemica in grado di compromettere anche il sistema immunitario, sia umorale che cellulare, con la presenza di stress ossidativo sistemico (13). Tali compromissioni sistemiche sono in grado di determinare alterazioni delle funzioni vasomotorie ed endoteliali. Gli effetti sistemici dell'abitudine tabagica nell'indurre la BPCO sono quindi implicati anche nel determinismo di patologie cardiovascolari e metaboliche.

E' ormai noto che nella BPCO è presente un'importante infiammazione sistemica associata a quella polmonare: ad esempio nel sangue periferico dei fumatori con BPCO si riscontra un aumento dei leucociti, della proteina C reattiva (PCR) (14-15). Si pensa che l'infiammazione

sistemica possa rappresentare l'anello di congiunzione tra la flogosi polmonare e numerose comorbidità della BPCO.

L'infiammazione sistemica, inoltre, rappresenta il meccanismo comune grazie al quale fattori di rischio come il fumo di sigaretta, l'iperlipidemia, l'obesità e l'ipertensione arteriosa aumentano la probabilità d'insorgenza di malattie infiammatorie croniche (16-17) e l'utilizzo della proteina C reattiva è stato proposto come marker umorale di tutti i disordini infiammatori cronici (18).

La relazione tra la patologia polmonare e l'infiammazione sistemica è invece sostenuta dal fatto che la flogosi polmonare e quella sistemica si sviluppano di pari passo. Uno studio recente, infatti, ha dimostrato che i soggetti affetti da BPCO presentano aumentati livelli di citochine appartenenti alla risposta infiammatoria di tipo Th1, sia a livello polmonare (nel liquido di lavaggio bronco-alveolare e nel brushing bronchiale), che nel sangue periferico, mentre i soggetti fumatori di controllo manifestano una risposta infiammatoria di tipo Th1 solo a livello locale polmonare (19). Tuttavia l'esatta relazione temporale tra i due fenomeni non è stata ancora determinata.

Nel paziente con BPCO è anche presente uno stress ossidativo sistemico: pazienti con riacutizzazione di BPCO mostrano un'aumentata produzione di anione superossido da parte dei neutrofili circolanti nel sangue periferico rispetto a pazienti con BPCO stabilizzata (20). Inoltre sempre nel plasma di soggetti fumatori e BPCO riacutizzati si ritrovano livelli maggiori dei prodotti della perossidazione lipidica rispetto ai soggetti di controllo non fumatori (21).

Per stress ossidativo si intende un'aumentata esposizione ad ossidanti e/o diminuita capacità antiossidante con esito in squilibrio tra ossidanti ed antiossidanti.

Gli ossidanti possono avere origine esogena o endogena. Tra i fattori esogeni abbiamo come potente ossidante il fumo di sigaretta. Considerevoli evidenze sono state finora riportate in letteratura riguardo all'aumentato carico di stress ossidativo in fumatori, specie se sviluppano BPCO, basate sull'aumento dei markers biologici di stress ossidativo negli spazi aerei, nel respiro, nel sangue e nelle urine di fumatori.

Per quanto riguarda invece gli ossidanti di origine endogena, un aspetto comune dell'infiammazione polmonare nelle broncopneumopatie in genere è lo sviluppo di una risposta infiammatorio-immunitaria da attivazione delle cellule epiteliali e dei macrofagi residenti, nonché delle cellule reclutate (neutrofili, linfociti, eosinofili). Una volta reclutate, le cellule possono essere attivate e generare metaboliti reattivi dell'O<sub>2</sub> in risposta a vari stimoli, incluse le citochine.

In conclusione flogosi e stress ossidativo a livello sia polmonare che sistemico sono due importanti meccanismi che giustificano le numerose comorbidità della BPCO e impongono una valutazione clinica globale del paziente.

### **1.3 LE COMORBIDITA'**

Il concetto di comorbidità nasce, nell'ambito della medicina generale, nel 1970 ad opera di Feisten e coll ed indica in questo contesto “ogni entità clinica che coesiste con la patologia principale, definita malattia indice, o può comparire durante il suo decorso clinico” (22).

Altre definizioni si sono succedute nel tempo e nel 1990 Klerman definì la comorbidità in senso stretto come la coesistenza di due o più patologie, di cui una rappresenti la patologia indice (23). Recentemente è stato introdotto il concetto di multimorbidità, definito come la concomitante presenza, nello stesso paziente, di due o più condizioni cliniche in assenza di una malattia principale .

Sebbene i due termini, comorbidità e multimorbidità, possano sembrare simili, vi sono in realtà delle differenze. Nel concetto di comorbidità lo stato di salute del soggetto è prevalentemente influenzato dalla patologia indice, mentre in quello di multimorbidità tutte le malattie coesistenti influenzano in maniera indipendente e variabile la condizione clinica del paziente.

Comorbidità e multimorbidità frequentemente interessano soggetti in età avanzata (più di 65 anni) che risultano essere affetti da più patologie contemporaneamente, molto spesso legate all'invecchiamento<sup>1</sup>.

È stato dimostrato, infatti, che la maggioranza delle persone tra 65 e 79 anni presenta da 4 a 9 malattie concomitanti, mentre in soggetti con più di 80 anni il numero delle patologie è tra 4 e 5(24).

L'aumento dell'età media della popolazione e quindi del numero di pazienti affetti da più patologie, mette in evidenza la necessità di approntare nuove misure per la gestione di questi soggetti che spesso

diviene problematica. La presenza di comorbidità è infatti legata, nel paziente anziano, ad una maggiore durata dell'ospedalizzazione (25) per la patologia indice, alla comparsa di complicanze ospedaliere (26) ed alla scarsa qualità di vita. La comorbidità incrementa il rischio di mortalità e di disabilità ben oltre a quello osservabile in una singola malattia specifica (27,28).

La presenza di comorbidità è inoltre da considerarsi importante per altri motivi:

- patologie associate possono influenzare la scelta della corretta terapia farmacologica (potrebbe non essere possibile utilizzare degli inibitori del sistema renina-angiotensina in pazienti con disfunzione renale).
- alcuni farmaci, utilizzati per il trattamento delle patologie associate, possono causare un peggioramento della patologia indice.
- alcuni farmaci, usati per le comorbidità, possono interagire tra loro.

Oggi le varie società scientifiche, come molte altre Organizzazioni in tutto il mondo, hanno riconosciuto la necessità di utilizzare mezzi più rigorosi per garantire una migliore informazione sulle cure disponibili per la Malattia presa in esame. In particolare, il problema delle comorbidità si sta imponendo e sta diventando una delle priorità nello sviluppo di Linee Guida per una buona pratica clinica.

### • **Scompenso Cardiaco e comorbidità**

Il problema delle comorbidità è particolarmente rilevante nei pazienti con SC. Si pensi che solamente l'11.9% dei pazienti ricoverati in

Medicina Interna ha una diagnosi isolata di SC, mentre l'89% presenta associazioni con altre malattie. La pluripatologia degli anziani affetti da SC è confermata dai dati del National Heart Failure Project: circa un terzo dei pazienti è affetto da BPCO, il 31% da diabete, il 33% da fibrillazione atriale, il 18% ha avuto un pregresso ictus; più della metà dei pazienti presenta una malattia coronarica e ipertensione arteriosa. (28).

La presenza di patologie concomitanti influenza negativamente il quadro clinico dei pazienti con SC e molto spesso anche la prognosi della malattia. Normalmente, in questa popolazione, si considerano quasi esclusivamente le altre patologie cardiovascolari, ma non si ricercano altre malattie non cardiovascolari concomitanti, come ad esempio BPCO e depressione.

La prevalenza della BPCO in pazienti affetti da SC varia a seconda della popolazione studiata e dei criteri diagnostici applicati (30). In Nord America la prevalenza di quest'ultima è compresa tra l'11% ed il 52%, mentre in Europa tra il 9% il 41%. La frequenza è più alta nei maschi rispetto alle femmine e maggiore nelle zone urbane rispetto alle rurali. Sebbene non vi sia una relazione lineare con l'età, la prevalenza di BPCO aumenta intorno ai 75 anni e declina negli anni successivi. In recente studio la prevalenza di BPCO in pazienti affetti da SC con età superiore ai 65 anni è stata del 30% (31). La relazione tra le due patologie è tuttora oggetto di studio, tuttavia alcuni autori chiamano in causa l'infiammazione sistemica di basso grado come meccanismo patogenetico alla base di entrambe queste condizioni patologiche (30).

La gestione delle comorbidità è una componente chiave nella cura dei pazienti con SC, tuttavia nelle linee guida dello scompenso cardiaco non

sono presenti indicazioni sul corretto inquadramento diagnostico delle sue patologie concomitanti.

Allo stesso modo, anche dal punto di vista terapeutico, ancora non sono state definite terapie ottimizzate che tengano conto delle comorbidità.

- **BPCO e comorbidità**

La sopravvivenza e la qualità della vita dei pazienti affetti da BPCO sono certamente limitate dall'evoluzione e dalle caratteristiche della malattia stessa, ma possono essere nettamente peggiorate dalle comorbidità associate.

Sono numerosi gli studi che riportano la prevalenza delle malattie comorbide nella BPCO (32), specialmente in età geriatrica (33). Un recente lavoro europeo, basato su dati della medicina di base, ha mostrato che il 60% dei pazienti con BPCO aveva una o più malattie croniche tra loro coesistenti (34) e che l'età più avanzata e lo stato socio-economico più basso si associavano ad una maggior comorbidità.

Per quanto riguarda la ricerca italiana, invece, lo studio Sa.R.A. (Salute Respiratoria nell'Anziano) ha indicato che le patologie più comunemente associate alla BPCO, in un campione di ultrasessantacinquenni, erano: l'ipertensione (23%), l'artrosi (21%), la cardiopatia ischemica (19%), il diabete mellito (11%) e lo scompenso cardiaco (11%) (35). Il confronto dei dati di prevalenza nei soggetti anziani italiani con quelli di altri paesi è reso difficile in quanto la maggior parte degli studi internazionali non sono stati condotti specificamente nella popolazione geriatrica.

Prendendo in esame una popolazione di pazienti BPCO di ogni età, si è evidenziata una maggiore prevalenza di coronaropatie, scompenso cardiaco, neoplasie, problemi neurologici e gastroenterici rispetto a controlli arruolati casualmente nella popolazione generale. I pazienti con BPCO, inoltre, erano affetti da una media di 3.7 patologie contro 1.8 dei controlli e utilizzavano circa il doppio delle risorse sanitarie (36).

La quantificazione della comorbidità, in soggetti BPCO di recente insorgenza, ha inoltre rivelato che angina, cataratta, osteoporosi, fratture, polmoniti e altre infezioni respiratorie avevano un'incidenza >1% ad un anno dalla diagnosi della patologia indice (l'incidenza più elevata era rappresentata dall'angina con un 4%) (37). Infine, in pazienti ricoverati per BPCO riacutizzata, le comorbidità più frequentemente riscontrate erano l'ipertensione (28%), il diabete mellito (14%) e la cardiopatia ischemica (10%) (38).

Il paziente con BPCO è inoltre particolarmente esposto al rischio di patologia iatrogena, per lo più legata alla terapia steroidea, alla riduzione dell'attività fisica, agli effetti negativi dell'insufficienza respiratoria sulle funzioni cognitive e sullo stato affettivo e nutrizionale, nonché alle ripercussioni extra-respiratorie del fumo di sigaretta.

Nei BPCO, il problema della coesistenza di più patologie è una questione particolarmente rilevante. Lo studio di nuovi biomarkers specifici potrebbe fornire utili strumenti finalizzati sia ad una corretta valutazione dello stato generale di gravità e della gestione terapeutica di questi soggetti.

## 1.4 BIOMARCATORI

Un “biomarcatore” è un indicatore di un particolare stato biologico e può assumere svariati significati a seconda dell’ambito disciplinare di applicazione. In medicina, i biomarcatori possono essere costituiti da molecole che esprimono uno stato patologico in atto, come ad esempio anticorpi o specifici antigeni. In biologia cellulare, il biomarcatore è una molecola che permette di individuare ed isolare un particolare tipo di cellula, mentre in genetica (marcatore genetico) è un frammento della sequenza di DNA che è causa di malattia o di una certa predisposizione patologica. In epidemiologia e tossicologia, infine, un biomarcatore può essere utilizzato per valutare l'esposizione a tossici ambientali ed in questo caso, può essere rappresentato dalla stessa sostanza presente nell’ambiente o da un suo metabolita.

In generale, i biomarcatori costituiscono un utile strumento a disposizione del medico per migliorare la gestione clinica del paziente, dal processo diagnostico al management terapeutico.

Tuttavia, per trovare applicazione in ambito clinico, è necessario che il biomarcatore abbia:

1. Rilevanza clinica, ovvero deve essere chiara espressione di eventi patofisiologici associati causalmente a endpoints clinici
2. Sensibilità e specificità elevate
3. Affidabilità e ripetibilità, ovvero deve essere misurato in modo riproducibile e preciso.
4. Semplicità di campionamento e misurazione, ovvero le metodiche impiegate per il suo dosaggio devono essere facilmente eseguibili e più economiche possibile.

Ad oggi sono ancora pochi i biomarcatori validati e di ausilio sia nella diagnostica precoce che nel management delle patologie croniche. Tuttavia, i progressi continui nelle tecniche di estrazione ed analisi, così come la migliore comprensione della pato-biologia di molte malattie croniche, hanno portato all'attenzione della comunità scientifica un congruo numero di biomarcatori. Questa rapida proliferazione non ha però contribuito a chiarirne il valore clinico.

- **Prodotti finali di glicazione avanzata**

I prodotti finali di glicazione avanzata (advanced glycation end-product: AGE) sono un eterogeneo gruppo di molecole formatesi da reazioni chimiche successive ad una reazione di glicazione iniziale. La loro formazione deriva, infatti, dalla reazione di glicazione proteica, scoperta per la prima volta nel 1912 dal chimico francese Louis Camille Maillard. Si tratta per lo più di una reazione non enzimatica dei gruppi amminici liberi delle proteine, dei lipidi e degli acidi nucleici che riduce zuccheri e aldeidi reattive (39,40). Sebbene la reazione "Maillard" sia stata inizialmente studiata in chimica alimentare (41), ci si rese conto che lo stesso processo si verificava lentamente anche nei sistemi biologici in vivo, contribuendo ad alcune delle modificazioni tissutali che avvengono durante l'invecchiamento e in varie patologie. Attualmente, si sa che gli AGE svolgono un ruolo fondamentale nello sviluppo di malattie croniche legate all'età come il diabete, l'insufficienza renale e le malattie cardiovascolari. Il loro livello nei tessuti longevi (in studio anche nel sangue) è utilizzato come marker glico-metabolico e di stress ossidativo ed è un valido predittore di morbilità, mortalità e complicanze di patologie croniche. Nei

sistemi biologici, il processo di formazione degli AGE inizia in condizioni di stress iperglicemico e/o ossidazione. I radicali liberi e le reazioni ossidative sono in grado, come dimostrato in vitro e poi in vivo, di indurre la formazione di AGEs in presenza di glucosio. In particolare, si formano dapprima proteine tissutali glicate reversibilmente, definite basi di Schiff e prodotti di Amadori i quali, in caso di stress ossidativo prolungato, subiscono ulteriori riarrangiamenti che inducono reazioni di glicazione irreversibile, portando alla formazione degli AGEs. Ad ora ne sono stati identificati molti, tra cui l'emoglobina glicosilata, il parametro gold-standard per ottimizzare la terapia e la gestione del paziente diabetico. Tra gli AGEs dosabili in circolo abbiamo anche la N $\epsilon$ -(carbossimetil) lisina (CML), formata sia da glicosidazione di proteine che perossidazione lipidica. Un suo accumulo è stato dimostrato nel tessuto vascolare e nelle lesioni aterosclerotiche di modelli animali e umani.

Questa varietà di AGE agisce come legante specifico per un recettore di membrana, il recettore per prodotti finali di glicazione avanzata (RAGE), che è stato isolato e caratterizzato. I RAGE sono localizzati sulle membrane cellulari, tuttavia essi possono anche essere secreti nel circolo locale e sistemico, prendendo il nome di sRAGE (recettore AGE solubile).

L'interazione tra CML e RAGE si traduce in una maggiore trascrizione e produzione di vari mediatori pro-infiammatori attraverso l'attivazione del fattore nucleare (NF)- $\kappa$ B in cellule endoteliali, cellule muscolari lisce vascolari e fagociti mononucleari, sia in vitro che in vivo (42). Fra i geni proinfiammatori RAGE-dipendente abbiamo: la molecola di adesione intercellulare-1 (ICAM-1), la proteina di adesione cellulare vascolare-1 (VCAM-1), il fattore di necrosi tumorale alfa (TNF- $\alpha$ ), l'interleuchina-1 (IL-1), l'interleuchina-6 (IL-6) e la ciclo-ossigenasi-2 (COX-2). Le

proteine codificate da questi geni supportano gli effetti pato-biologici mediati dall'interazione AGE-RAGE attraverso la modulazione di processi infiammatori e di stress ossidativo. Gli sRAGE, invece, si pensa abbiano una funzione di modulazione della risposta locale e sistemica agli AGE, legando questi ultimi ed inattivandoli in circolo. Essi possono essere considerati dei decoy receptors, ovvero recettori capaci di riconoscere il ligando con alta sensibilità e specificità, ma incapaci di trasdurre il segnale generato dal legame con quest'ultimo (43).

Valori aumentati di AGE sono stati individuati nei pazienti con scompenso cardiaco (44). In questi soggetti, sia la CML che la pentosidina sono stati indicati come predittori di ospedalizzazioni e mortalità, al contrario di sRAGE (45).

Anche in campo pneumologico si è ipotizzato che il sistema RAGE-AGE possa essere coinvolto nella patogenesi della BPCO (46). Alcuni lavori hanno riportato che i valori circolanti di sRAGE sono stati trovati più bassi nei pazienti con BPCO ed inoltre è stata trovata una forte correlazione con il grado di limitazione al flusso aereo (47).

- **Pentrassine**

Le pentrassine sono una superfamiglia di proteine di fase acuta caratterizzata da una struttura ciclica multimerica e costituite da cinque subunità identiche. Sulla base della struttura primaria della subunità, le pentrassine sono divise in due gruppi:

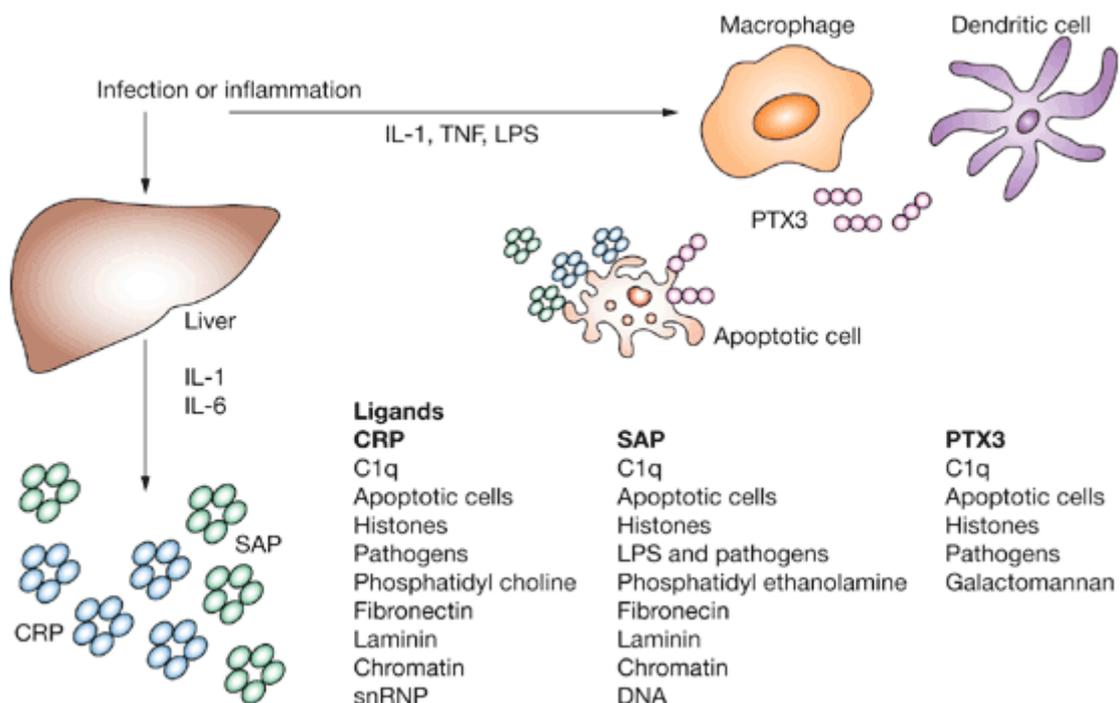
**Pentrassine brevi:** Proteina C-reattiva (PCR) e siero amiloide P-componente (SAP)

**Pentrassine lunghe: pentraxina 3 (PTX3).**

La loro funzione principale è di riconoscere una grande varietà di agenti patogeni e quindi eliminarli o neutralizzarne gli effetti nocivi. Le pentrassine legano cellule apoptotiche e detriti cellulari e sono state a lungo associate con una risposta al danno tissutale (48).

**Proteina C reattiva (PCR)**

La PCR è prodotta principalmente nel fegato dagli epatociti in risposta a mediatori pro-infiammatori (maggiormente IL-6), tuttavia, la sintesi e la secrezione di PCR si verifica anche nei tessuti infiammati (49,50) La concentrazione di PCR, un pentamero di 120 kDa, nell'uomo aumenta significativamente in circolo in seguito a segnali di fase acuta; ovvero in seguito a quella vasta e complessa serie di risposte fisiologiche aspecifiche, che iniziano immediatamente dopo che l'organismo è stato colpito da un trauma, un'infezione o qualunque causa che produca danno.

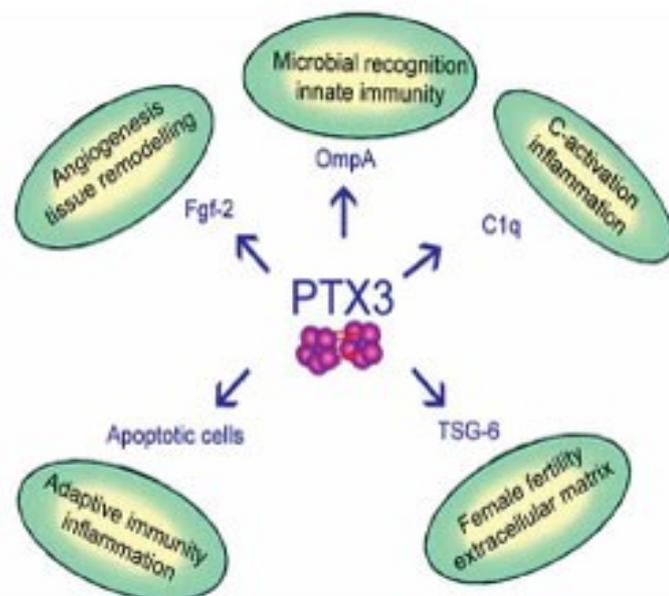


La loro sintesi epatica inizia immediatamente dopo lo stimolo e dopo circa 6 ore si registrano i primi aumenti, fino ad arrivare al picco nelle 48 ore successive.

La PCR si lega alle lipoproteine a bassa densità modificate, ai polisaccaridi batterici, alle cellule apoptotiche e ai materiali nucleari. In virtù di queste funzioni di riconoscimento i suoi livelli sono aumentati in numerose malattie cardiovascolari, infettive, autoimmuni. Nella pratica clinica la PCR è considerata il più importante indicatore di infiammazione a scopo diagnostico. È il marcatore più utilizzato per casi di infiammazione in quanto è molto più sensibile in confronto ad altri parametri classici come ad esempio la formula leucocitaria.

### Petrassina 3 (PTX3)

La Pentraxina 3 (PTX3) appartiene alla famiglia delle pentraxina lunghe con peso molecolare pari a 40.165 Da ed è costituita da 381 amminoacidi (48) Essa viene prodotta e rilasciata in diversi tessuti durante l'infiammazione interagendo con diversi ligandi (51) tra cui fattori di crescita, componenti della matrice extracellulare e agenti patogeni selezionati. Questi ultimi giocano un ruolo nell'attivazione del



complemento, facilitando il riconoscimento dei patogeni da parte dei fagociti (52, 53). PTX3 si comporta come una proteina di risposta di fase acuta, in quanto i suoi livelli ematici, normalmente bassi (<2 ng / mL nell'uomo), tendono ad aumentare rapidamente (picco a 6-8 ore dopo l'induzione) e drammaticamente (200-800 ng / mL) durante lo shock endotossico, la sepsi e altre condizioni infiammatorie e infettive. In questo contesto, PTX3 è un rapido marcatore di attivazione locale di immunità innata e di infiammazione. Recentemente sono state sviluppate delle metodiche ELISA per il suo dosaggio nel plasma umano ma si sta lavorando per poterla determinare a livello tissutale (54, 55, 56, 57)

## **CITOCINE**

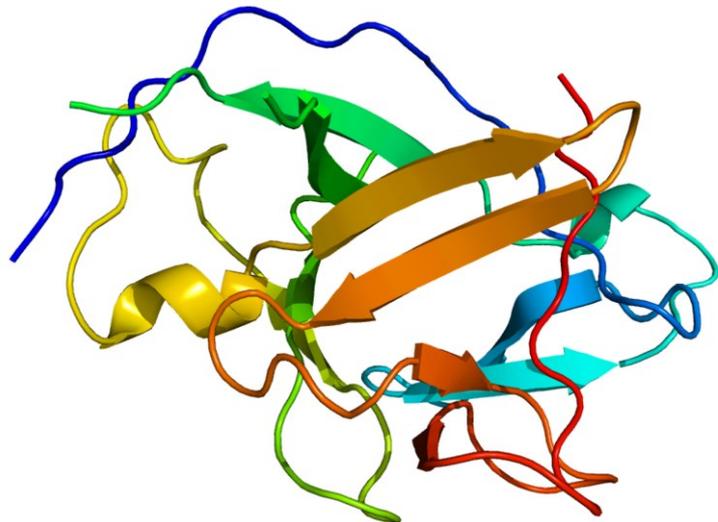
Le citochine sono mediatori polipeptidici, non antigene-specifici, che fungono da segnali di comunicazione fra le cellule del sistema immunitario e fra queste e diversi organi e tessuti. La produzione di citochine è transitoria: in genere agiscono in tempi brevi e di regola, in condizioni normali, non si ritrovano in circolo in quantità importanti. Molte di esse sono pleiotropiche, nel senso che agiscono su una grande varietà di cellule e di tessuti.

Le citochine possono essere classificate utilizzando criteri diversi in base a caratteristiche di tipo strutturale, classe di recettori riconosciuta e caratteristiche funzionali. Ciascuno di questi criteri classificativi ha pregi e difetti. Una classificazione utile dal punto di vista operativo è quella di tipo funzionale che distingue: citochine emopoietiche (per es., i fattori di crescita dell'emopoiesi detti CSF); citochine infiammatorie primarie (per es., IL-1 e TNF); citochine antiinfiammatorie o immunosoppressive (IL-10

e TGF $\beta$ ); citochine infiammatorie secondarie (chemochine); citochine dell'immunità specifica (per es., IL-2). Di seguito ci focalizzeremo sulle citochine infiammatorie primarie.

- ***IL-1 beta e il suo recettore***

IL-1 costituisce il prototipo delle citochine infiammatorie primarie. È una famiglia costituita da due molecole distinte, codificate da geni distinti, IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Esse agiscono sullo stesso recettore e hanno attività simili ma strutture diverse; sono infatti codificate da geni diversi e mostrano un'omologia di sequenza del 30%. Entrambe sono sintetizzate a partire da precursori di 33 kDa che, in seguito a processamento, originano le forme attive di circa 17 kDa.



Oltre a queste 2 forme di interleuchine, esiste un'altra citochina strutturalmente omologa alle 2 (e quindi in grado di legarsi ai suoi stessi recettori), ma funzionalmente inattiva. Essa agisce quindi da inibitore competitivo bloccando gli effetti di IL1 $\alpha$  e IL1 $\beta$  e viene perciò chiamata IL-1 RA (cioè IL-1 Receptor Antagonist). IL-1RA è prodotta dalle stesse cellule che producono IL-1alfa e beta ed è indotto in generale dagli stessi segnali ma anche da citochine antinfiammatorie.

I principali produttori di IL-1 sono le cellule del sistema immunitario tra cui macrofagi, monociti e cellule dendritiche, ma anche fibroblasti e cellule endoteliali. Viene prodotta anche in risposta a infezioni batteriche (la sua produzione viene stimolata soprattutto dall' LPS, una endotossina dei batteri Gram negativi), alla presenza di TNF e all'interazione delle cellule produttrici con linfociti T - CD4 positivi, innescando così un meccanismo di amplificazione della risposta infiammatoria.

L'IL-1 ha molteplici effetti nell'organismo, sia a livello locale che sistemico, favorisce processi infiammatori quali vasodilatazione, crampi e febbre in risposta ad infezioni batteriche. Inoltre stimola la produzione di prostaglandine da vari tipi di cellule (muscolari, epiteliali, ecc) e la produzione di altre citochine quali IL-2.

IL-1 interagisce con un recettore costituito da due catene, IL-1RI e catena accessoria (AcP). Il risultato finale di questa interazione è l'attivazione di fattori di trascrizione, quali NF $\kappa$ B e AP-1. IL-1RA interagisce solo con la catena IL-1RI, impedendo così la formazione di un complesso recettoriale attivo da parte delle molecole con attività agonista. Esiste un secondo recettore di IL-1, detto IL-1RII o decoy receptor, che ha caratteristiche peculiari (58). Infatti, IL-1RII in forma legata alla membrana o libera nei liquidi biologici lega IL-1 ma non dà luogo ad alcuna trasduzione del segnale. Agisce come una sorta di trappola molecolare che lega le molecole con attività agonista e impedisce loro di interagire con i componenti recettoriali che attivano la risposta cellulare. Esistono, quindi, due circuiti di regolazione negativa intrinseci al sistema IL-1: 1) l'antagonista recettoriale IL-1RA 2) il falso recettore (decoy receptor). IL-1 agisce praticamente su tutte le cellule e i tessuti dell'organismo ed è sufficiente un impegno di un numero limitatissimo di recettori, forse uno per cellula, per

attivare la risposta cellulare. Molti degli effetti di IL-1 sono indiretti, nel senso che l'effetto finale dipende dalla induzione di mediatori secondari. Fra questi particolarmente importanti sono IL-6 e i fattori di crescita emopoietici (GM-CSF e M-CSF).

Uno dei bersagli principali dell'attività di IL-1 è costituito dalle cellule vascolari. IL-1 induce infatti la produzione di chemochine e di molecole di adesione dell'endotelio vascolare, amplificando il reclutamento di cellule infiammatorie a livello locale. Inoltre IL-1assieme al TNF inibisce direttamente la contrattilità cardiaca (59).

# *Parte*

# *Sperimentale*

## 2.0 SCOPO DELLO STUDIO

La finalità del presente studio è stata quella di indagare il ruolo di mediatori dell'infiammazione noti (hs-CRP e IL-1 $\beta$ ) e meno noti [il prodotto finale della glicazione avanzata (AGE), N-( carbossimetil) lisina (CML), forma solubile del recettore del prodotto finale di glicazione avanzata (sRAGE), la pentraxina 3 e recettore solubile dell'IL-1 (sIL - 1RII)] in pazienti con SC e BPCO. Lo scopo è quello di individuare quali mediatori caratterizzano lo stato infiammatorio presente in queste due patologie e la loro relazione con le caratteristiche cliniche e funzionali dei soggetti in studio.

Nello specifico si sono indagati:

- 1) I livelli plasmatici di questi mediatori nel circolo sistemico in due differenti popolazioni nel corso di due indagini distinte.

**Nella prima**, i livelli di CML e sRAGE sono stati dosati in una popolazione costituita da 58 soggetti affetti da SC, 27 da SC e BPCO, 27 affetti da BPCO e in 35 controlli sani fumatori e non fumatori.

**Nella seconda** indagine, i livelli di PTX3, IL-1 $\beta$  e sIL - 1RII sono stati invece dosati in una popolazione di 124 pazienti con SC, 70 con BPCO e 24 fumatori sani.

- 2) In entrambi gli studi i valori plasmatici dei biomarcatori sono stati correlati con le caratteristiche cliniche e funzionali delle popolazioni prese in esame

## 2.1 Materiali e Metodi

### 1<sup>a</sup> Indagine

- **Popolazione in studio**

L'espressione di CML ed sRAGE è stata valutata in una popolazione suddivisa in due gruppi:

- Gruppo 1: pazienti
- Gruppo 2: controlli

Entrambi i gruppi sono stati reclutati presso l'Unità Operativa di Cardiologia e quella di Pneumologia dell'Arcispedale Sant'Anna di Ferrara e tra i dipendenti dell'Università degli Studi di Ferrara. I potenziali partecipanti sono stati identificati utilizzando le cartelle cliniche informatizzate ospedaliere ed esaminando i registri informatizzati del servizio Medicina del Lavoro universitario.

**Per il gruppo 1**, su 200 pazienti sottoposti a screening solo 108 soddisfacevano i criteri di inclusione ed esclusione richiesti (vedi di seguito). Tutti i partecipanti hanno dato il loro consenso informato allo studio.

I pazienti reclutati sono stati suddivisi nei seguenti sottogruppi:

- **SC stabile (n=58)**: età  $\geq 65$  anni, storia di fumo maggiore di 10 pack/years; diagnosi di scompenso cardiaco da oltre 6 mesi e in terapia stabile da 3 mesi, nessuna malattia polmonare coesistente. I pazienti sono stati suddivisi nelle classi funzionali I-II e III- IV secondo la New York Heart Association (NYHA) e la diagnosi di

scompenso cardiaco è stata fatta seguendo le linee guida della Società Europea di Cardiologia (60).

- **SC Stabile e BPCO (n=27):** età  $\geq 65$  anni, presenza di scompenso cardiaco e BPCO per un periodo  $\geq 6$  mesi, storia di fumo maggiore di 10 pack/years, in terapia stabile per SC da 3 mesi, nessuna riacutizzazione di BPCO nelle 4 settimane precedenti. La diagnosi e la gravità della BPCO è stata fatta secondo le Linee Guida GOLD (61).
- **BPCO stabile (n=23):** età  $\geq 65$  anni, presenza di BPCO per un periodo  $\geq 6$  mesi, storia di fumo maggiore di 10 pack/years, nessuna riacutizzazione nelle 4 settimane precedenti, assenza di patologie cardiache co-esistenti.

I pazienti con insufficienza renale, artrite reumatoide, diabete o glicemia a digiuno  $\geq 100$  mg per dL (5.6 mm) sono stati esclusi dallo studio, così come i soggetti in terapia con corticosteroidi per via orale .

**Per il gruppo 2** sono stati reclutati 35 controlli con le seguenti caratteristiche:

- **controlli (n = 35; 17 fumatori sani e 18 non fumatori sani):** età  $\geq 65$  anni; assenza di malattie cardiache e/o respiratorie note, spirometria normale, assenza di sintomi cardiaci e/o respiratori cronici.

Per tutti i partecipanti allo studio sono stati raccolti i dati demografici e clinici, si è calcolato l'indice di massa corporea (BMI), l'indice di Charlson , sono stati effettuati spirometria, test del cammino di sei minuti (6 MWT), esami biochimici di base, PCR e NT - pro- BNP. Per il gruppo 1 è stato eseguito anche elettrocardiogramma ed

ecocardiogramma. I livelli plasmatici di CML e sRAGE sono stati determinati utilizzando un sandwich enzyme-linked test immunoenzimatico (ELISA).

## **2<sup>a</sup> Indagine**

### **• Popolazione in studio**

L'espressione dei marcatori sierici Hs-CRP, PTX3, IL-1 $\beta$ , SIL-1RII è stata valutata in una popolazione costituita da un totale di 218 soggetti divisi nei seguenti gruppi e con le seguenti caratteristiche:

- **BPCO stabile (n=70):** età  $\geq$  50 anni, storia di fumo  $\geq$  10 pack/years. Assenza di episodi di riacutizzazione nelle 4 settimane precedenti.
- **SC stabile (n=124):** età  $\geq$  50 anni, storia di fumo  $\geq$  10 pack/years, SC in fase di stabilità clinica e in terapia stabile da almeno 3 mesi.
- **Controlli fumatori sani (n=24):** età  $\geq$  50 anni, storia di fumo  $\geq$  10 pack/years, assenza di segni e sintomi cardiaci e/o respiratori noti.

I pazienti sono stati arruolati presso l'Unità operativa di Pneumologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Modena e presso il Centro dello scompenso cardiaco dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ferrara.

Tutti i partecipanti hanno fornito il consenso informato firmato prima di entrare nello studio e per ognuno di essi sono stati raccolti dati demografici e clinici, si è calcolato l'indice di massa corporea (BMI), l'indice Charlson (62), sono stati effettuati l'esame spirometrico, il test del cammino di 6 minuti (6MWT), gli esami biochimici di base, e si sono dosati l' NT-proBNP, l'hsCRP, la PTX3, l' IL-1 $\beta$  e il SIL-1RII sierici. Per i pazienti con BPCO e SC sono stati eseguiti anche elettrocardiogramma ed ecocardiogramma.

- **Raccolta dei campioni**

In entrambe le indagini, si è ottenuto un campione di sangue da tutti i soggetti per la valutazione delle concentrazioni plasmatiche dei marcatori sopra citati. I campioni di sangue sono stati centrifugati a 1500 g per 10 min a 7°C e le aliquote di plasma conservate a -80°C fino all'esecuzione del dosaggio.

- **Misure cliniche e funzionali**

La spirometria (Biomedin, Padova, Italia) e il 6MWT sono stati eseguiti secondo le attuali Linee Guida internazionali (63, 64). La Modified Medical Research Council (MMRC) scale è stata utilizzata per valutare la dispnea (65) e si è stimata la velocità di filtrazione glomerulare (GFR) mediante la determinazione della creatinina sierica utilizzando l'equazione di Cockcroft-Gault (66).

La valutazione ecocardiografica ha impiegato metodiche mono e bidimensionali standard e Doppler. Abbiamo calcolato la frazione di eiezione ventricolare sinistra (LVEF) utilizzando la formula  $(EDV-ESV) / EDV \times 100\%$  e considerando indicativi di disfunzione sistolica ventricolare valori di LVEF  $\leq 40\%$  (67, 68).

- **Misure di CML e sRAGE**

Per la determinazione della N-(carbossimetil)lisina (CML) nel plasma si è utilizzato uno specifico kit ELISA per CML seguendo le istruzioni del produttore. I campioni sono stati diluiti 1:4 in tampone di diluizione, la reazione enzimatica interrotta dopo 5 min e la lettura effettuata dal lettore ELISA Modello 680 (Biorad) a doppia lunghezza d'onda di 450/550 nm.

I livelli plasmatici di sRAGE sono stati dosati utilizzando un altro specifico kit ELISA per sRAGE (B-Bridge International, Inc.) secondo il protocollo consigliato dal produttore. La reazione enzimatica è stata interrotta dopo 30 min e la lettura eseguita dal Modello 680 lettore ELISA (Biorad) alla lunghezza d'onda 450 nm.

La curva standard di ogni ELISA è stata costruita riportando valori di assorbanza contro le concentrazioni dei calibratori (in duplicato).

- **Misure di PTX3, IL-1  $\beta$ , e sIL-1RII**

I livelli plasmatici di PTX3 e sIL-1RII sono stati determinati mediante sandwich ELISA. Il limite di rilevazione era di 100 pg/ml per PTX3 e

20pg/ml per sIL-1RII. Non si è osservata nessuna reazione crociata tra PCR, componente P siero-amilode e gli anticorpi utilizzati per la rilevazione PTX3.

I livelli plasmatici di IL-1 $\beta$  sono stati dosati utilizzando i kit disponibili in commercio (Quantikine HS High Sensitive ELISA [R&D Systems, Minneapolis, MN]). La sensibilità era 0,057 pg/ML.

La concentrazione di tutte le citochine è stata calcolata mediante confronto con curva standard, seguendo le istruzioni del produttore.

- **L'analisi statistica**

Il test di Shapiro-Wilk è stato utilizzato per valutare la distribuzione normale delle variabili continue. Quando le variabili continue erano normalmente distribuite, abbiamo espresso i risultati come valori medi e di deviazione standard. In caso di distribuzione non normale, abbiamo utilizzato i valori della mediana e del range interquartile (IQR, 25°-75° percentile). Le variabili categoriali sono state riportate in conteggi e percentuali. Variabili qualitative sono state confrontate tra gruppi utilizzando il test chi-quadro o il test esatto di Fisher, a seconda dei casi, mentre il confronto tra gruppi di variabili continue è stato effettuato utilizzando il test ANOVA per distribuzioni normali e i test Mann-Whitney e Kruskal-Wallis con correzioni di Bonferroni per test multipli in caso di distribuzione non normale.

Si è testata la correlazione tra due variabili continue utilizzando i coefficienti di correlazione di Pearson o di Spearman.

Il test di regressione quantile è stato utilizzato per la costruzione del modello di analisi multivariata impiegato per valutare l'associazione tra

i livelli sRAGE e NT-pro BNP. Data la ridotta dimensione campionaria di ciascun sottogruppo specifico per malattia, questa analisi è stata effettuata in tutti i pazienti (gruppo 1).

Il test ANOVA su ranghi è stato invece impiegato per confrontare i livelli di IL-1 $\beta$  e sIL-1RII tra i gruppi pesando i potenziali fattori confondenti. Abbiamo considerato significativi valori di  $p < 0.05$  (test a due code). L'analisi dei dati è stata eseguita con pacchetto statistico STATA (versione 11.1, 2010, Stata Corporation).

## 2.2 Risultati

### **CML e sRAGE: caratteristiche cliniche e funzionali dei gruppi di studio**

I livelli di CML e sRAGE sono stati determinati in 143 soggetti suddivisi in due gruppi. Il gruppo 1 era composto da tre sottogruppi, costituiti rispettivamente da 58 pazienti con SC stabile, 27 pazienti con SC e BPCO e 23 pazienti con BPCO stabile. Il gruppo 2 era composto da due sottogruppi costituiti da 17 fumatori sani e 18 non fumatori sani (Tabelle 1 e 2).

I pazienti con SC e i pazienti con SC e BPCO erano più anziani rispetto ai controlli e ai soggetti con BPCO. La percentuale di maschi e i valori di BMI non erano significativamente diversi nei cinque sottogruppi, così come il numero di pack-years nei quattro sottogruppi con storia di fumo. La maggior parte dei pazienti con SC, con o senza BPCO, sono stati classificati come NYHA I e II (89%), mentre i pazienti con BPCO, con o senza SC, come GOLD I e II (94%) (Tabella 1)

Nel gruppo 1, la velocità di filtrazione glomerulare (GFR) era significativamente più bassa sia nei pazienti con SC che con SC e BPCO (rispettivamente  $P=0,002$  e  $P<0.001$ ) rispetto ai pazienti BPCO. La percentuale di pazienti con disfunzione ventricolare sinistra ( $LVEF \leq 40\%$ ), era simile tra gli affetti da SC e da SC e BPCO (41% e 39%, rispettivamente), mentre i pazienti con SC, con o senza BPCO, hanno mostrato livelli di NT-pro-BNP più elevati rispetto ai BPCO ( $P<0.001$ ).

I valori di FEV1 e FEV1/FVC erano simili tra i soggetti BPCO con o senza SC (Tabella 2).

### **CML ed sRAGE plasmatici**

I livelli di CML ed sRAGE erano più alti nei pazienti con SC rispetto a quelli misurati nella totalità dei controlli sani [CML: 1,95 (1,58–2,38) vs. 1,68 (1,43–2,00) ng/mL,  $P = 0,01$ ; sRAGE: 0,48 (0,37–0,83) vs 0,42 (0,29–0,52) ng/mL,  $P = 0,01$ ]. Nei soggetti con SC, inoltre, non vi erano differenze significative nei livelli dei due mediatori in pazienti con cardiopatia ischemica e non ischemica [CML: 1,99 (1,51–2,49) vs. 1,89 (1,56–2,24) ng/mL,  $P = 0,42$ ; sRAGE: 0,47 (0,36–0,76) vs. 0,49 (0,33–0,83) ng/mL,  $P = 0,88$ ].

In soggetti affetti da SC e BPCO e da BPCO non sono stati osservati significativi aumenti di CML ed sRAGE plasmatici rispetto ai controlli (Fig.1 e 2), allo stesso modo, nel gruppo 2, i livelli di CML ed sRAGE non presentavano differenze statisticamente significative tra i controlli fumatori e non fumatori [CML: 1,76 (1,59–2,08) vs. 1,63 (1,37–1,75) ng/mL,  $P = 0,12$ ; sRAGE: 0,43 (0,28–0,57) vs. 0,41 (0,30–0,48) ng/mL;  $P = 0,77$ ].

### **Associazione dei livelli di CML ed sRAGE con le variabili cliniche dei gruppi in studio**

Sono state esaminate le potenziali correlazioni tra CML ed sRAGE con le principali variabili cliniche (età, BMI, pack-years, classe NYHA, Indice di Charlson, 6MWT, GFR, NT-pro BNP, HsCRP, FEV1% predetto,

FEV1/FVC,) . I livelli di CML non erano associati ad alcuna delle variabili sopra menzionate, così come buona parte di esse, incluso l' Hs-CRP, non si associavano ai livelli di sRAGE. Le uniche variabili che correlavano significativamente con sRAGE erano l'età e l' NT-pro BNP. l' NT-pro BNP correlava positivamente con sRAGE nei pazienti affetti da SC ( $r = 0,44$   $P < 0,001$ ), da SC e BPCO ( $r = 0,43$   $P = 0,003$ ) ed in quelli con BPCO ( $r = 0,77$   $P < 0,0001$ ) (Fig. 3). Tale correlazione diveniva non significativa nei controlli ( $r = 0,16$   $P = 0,51$ ) . L'età, invece, correlava positivamente con sRAGE solo nel gruppo 2 ( $r = 0,39$   $P = 0,01$ ) dei controlli e non nel gruppo 1 ( $r = 0,09$   $P = 0,32$ )

Nel gruppo 1, il modello di analisi di regressione quantile ha evidenziato che i livelli di NT-pro BNP erano indipendentemente associati con quelli di sRAGE: per un aumento di concentrazione plasmatica di NT-pro BNP pari a 1 ng/ml, i livelli di sRAGE aumentavano di 0,071 ng/ml (95% CI: 0,03–0,11;  $P = 0,001$ ).

## **PTX3, IL-1 $\beta$ e sIL-1RII: caratteristiche cliniche e funzionali dei gruppi dello studio**

La popolazione in studio era composta da 124 pazienti con SC, 70 pazienti con BPCO e 24 fumatori sani (Tabella 3 e 4). I pazienti con SC erano leggermente ma significativamente più anziani rispetto ai controlli e ai pazienti BPCO. Le percentuali di maschi, dei valori di BMI e del numero di pack/years erano simili nei tre gruppi. L'86% dei soggetti con SC è stato classificato in classe NYHA I o II, mentre il 63% dei pazienti con BPCO negli stadi I o II delle GOLD (Tabella 3). Inoltre, il 34% dei pazienti con SC aveva una limitazione del flusso aereo e in base alle linee guida GOLD sono stati suddivisi in classe I (52%), classe II (40%) e classe III (8%).

I pazienti con BPCO avevano valori di Hs-CRP più alti e presentavano risultati migliori al 6MWT rispetto a tutti i pazienti con SC. I valori dell'indice di Charlson e di NT-proBNP erano invece più bassi rispetto a questi ultimi (Tabella 4). Nessuno dei pazienti con BPCO presentava disfunzione sistolica o disfunzione diastolica ventricolare sinistra o ipertensione polmonare individuata ecocardiograficamente. La pressione arteriosa parziale di ossigeno (PaO<sub>2</sub>) risultava più alta e la pressione parziale arteriosa di anidride carbonica (PaCO<sub>2</sub>) più bassa nei pazienti con SC rispetto ai BPCO (82,7  $\pm$  10,9 vs 75,1 $\pm$ 9,3 millimetri Hg, p<0,001, e 38,8  $\pm$  3,7 vs 40,9  $\pm$  4,5 millimetri Hg, p=0,004, rispettivamente). È interessante notare che tutti i pazienti BPCO si sono sottoposti alla determinazione dei gas arteriosi, mentre circa il 40 % dei pazienti con SC ha rifiutato di eseguirla.

Nei pazienti con SC le comorbidità maggiormente riscontrate sono state l'ipertensione (98%), l'infarto del miocardio (58%) e l'ipercolesterolemia

(35%), mentre nei BPCO le più comuni sono state l'ipertensione (50%), l'osteoporosi (14%) e il diabete (13%).

### **PTX3, IL-1 $\beta$ e sIL-1RII plasmatici**

I livelli plasmatici di PTX3 erano simili nei tre gruppi studiati, al contrario, i valori circolanti di IL-1 $\beta$  erano più alti nei BPCO rispetto sia ai pazienti con SC che ai fumatori sani ( $p < 0.001$ ). I livelli di IL-1 $\beta$  non differivano invece tra i pazienti con SC e i soggetti di controllo (Figura 4). Le concentrazioni di sIL-1RII erano significativamente più elevate nei BPCO rispetto sia ai pazienti con SC che ai controlli (rispettivamente  $p < 0,05$  e  $p < 0.01$ ) (Figura 4).

Il modello di analisi statistica ANOVA a ranghi ha evidenziato che, dopo correzione per fattori confondenti (età, pack-years, NT-proBNP, Hs-CRP, FEV1% del predetto, FEV1 / FVC, assunzione di statine, broncodilatatori per via inalatoria e steroidi inalatori), solo i valori di IL-1 $\beta$  e non quelli di sIL-1RII rimanevano significativamente più elevati nei pazienti BPCO rispetto ai pazienti con SC e ai fumatori sani [1,43(0,57-2,16) vs 0,48 (0,34-0,88) e 0,47 (0,40-0,89) rispettivamente,  $p < 0,0006$ ]

### **Associazione dei livelli di PTX3, IL-1 $\beta$ e SIL-1RII con le variabili cliniche dei gruppi in studio**

Sono state valutate le potenziali correlazioni tra PTX3, IL-1 $\beta$  e sIL-1RII con variabili cliniche quali l'età, il BMI, i pack/years, la classe GOLD, la classe NYHA, l'indice di Charlson, il 6MWT, la LVEF, l' NT-proBNP, l'

Hs-CRP, il FEV1 % predetto, il FEV1/FVC e la terapia (statine, broncodilatatori per via inalatoria e steroidi per via inalatoria). PTX3 e sIL-1RII non hanno mostrato associazioni significative con nessuno di questi parametri clinici. IL-1 $\beta$ , invece, correlava negativamente con l'NT-proBNP ( $r=-0.34$ ,  $p< 0.001$ ), il FEV1 % del predetto ( $r=-0.29$ ,  $p<0.01$ ), il FEV1/FVC ( $r =-0.35$ ,  $p<0.001$  ) e positivamente con Hs-CRP ( $r = 0,30$ ,  $p< 0,01$ ).

## 2.3 Discussione

Nel nostro lavoro si è ipotizzato che l'infiammazione sistemica cronica di basso grado sia un "terreno comune" per le malattie croniche cardiovascolari e polmonari, in particolar modo SC e BPCO, i cui fattori di rischio comuni sono l'invecchiamento, il fumo e l'obesità.

Il presente studio dimostra che le concentrazioni plasmatiche di CML e sRAGE sono aumentate nei pazienti anziani fumatori con SC stabile rispetto ai controlli. Al contrario, sia nei pazienti con SC e BPCO che nei pazienti con BPCO, i livelli di CML e sRAGE non differiscono rispetto ai soggetti di controllo.

Concentrazioni plasmatiche di sRAGE correlano positivamente con NT-proBNP in ciascuno dei tre gruppi di pazienti. Tale correlazione è stata confermata mediante analisi di regressione quantile multipla, la quale ha dimostrato che NT-pro BNP è indipendentemente associato ad sRAGE.

Si è scelto di misurare il ligando del recettore RAGE in quanto si pensa che sia coinvolto nello sviluppo e nella progressione dello scompenso cardiaco(69).

Gli AGE circolanti, in letteratura, sono stati trovati diminuiti o aumentati in pazienti con SC; ed in particolare la CML plasmatica, in un certo numero di studi, è risultata diminuita nei soggetti con SC(70, 71). Il nostro risultato di aumentato livello di CML nei pazienti con SC è dunque in contrasto con quello riportato da Heidland et al. (71). La sostanziale differenza tra i due lavori sta nella scelta della popolazione. Noi ci siamo focalizzati su pazienti con SC stabile di grado lieve-moderato, mentre Heidland et al hanno studiato pazienti con SC grave. La riduzione dei livelli di CML nei pazienti di Heidland è definita 'inaspettata' dagli stessi autori che hanno spiegato il

dato come probabile conseguenza di una diluizione dovuta a uno stato ipervolemico. D'altra parte, l'aumentata concentrazione plasmatica di AGEs, nel nostro lavoro, è coerente con un loro probabile ruolo nello sviluppo dello SC (72).

sRAGE plasmatico è aumentato nel plasma di soggetti con SC in relazione sia all'eziologia ischemica che all'estensione della malattia coronarica. E', inoltre, associato alla gravità clinica dello SC e ai livelli di NT-proBNP (73, 74).

Nel nostro studio abbiamo quindi confermato non solo l'aumento di sRAGE a livello sistemico e la sua associazione con i valori di NT-proBNP in pazienti con SC, ma abbiamo anche esteso questi risultati ai pazienti affetti da BPCO, sia sola che associata a SC.

Nei nostri pazienti, né CML né sRAGE sono aumentati in presenza di BPCO, sia come comorbilità sia come malattia primaria, mentre sRAGE è stato trovato ridotto, in alcuni studi, nel plasma dei pazienti con BPCO (75). In particolare, nei campioni di espettorato di soggetti con BPCO neutrofila (con presenza di neutrofili  $\geq 65\%$  delle cellule totali nelle vie aeree) i valori di sRAGE erano significativamente più bassi rispetto a quelli di soggetti con BPCO non-neutrofila (76). La nostra incapacità di trovare una diminuzione di sRAGE nel plasma di pazienti BPCO potrebbe essere spiegata dalle caratteristiche della nostra popolazione. Infatti, la maggior parte dei pazienti in studio presentava ostruzione di grado lieve-moderato e quindi la possibilità di sviluppare BPCO neutrofila, era molto meno probabile rispetto ai soggetti con BPCO grave, dell'indagine sopracitata.

A quanto pare, quindi, la BPCO potrebbe impedire l'atteso aumento di sRAGE normalmente associato a SC ed una possibile giustificazione di

questo risultato sarebbe legata al fatto che i pazienti affetti dalle due malattie croniche, potrebbero essere esposti a più alti livelli di mediatori infiammatori rispetto ai soggetti con solo SC. Gli sRAGE, quindi, potrebbero essere ‘consumati’ dall’alta concentrazione di ligandi infiammatori con cui si trovano ad interagire nei polmoni o nel circolo sistemico. Tale ipotesi, tuttavia, necessita di ulteriori indagini.

I livelli di sRAGE circolante sono stati trovati fortemente associati a quelli di NT-pro-BNP non solo nei pazienti con SC e SC e BPCO, ma anche nei soggetti con solo BPCO, suggerendo che il rapporto tra questi due marcatori non è esclusivamente una questione di correlazione tra sRAGE e gravità dello SC.

I nostri dati sull’NT-pro-BNP indicano, inoltre, questo marcatore come possibile predittore indipendente di aumentati livelli di sRAGE e non viceversa, come suggerito da studi precedenti (70, 73). Per tentare una spiegazione del nostro risultato, possiamo ipotizzare la seguente sequenza di eventi: il BNP potrebbe indurre un aumento della produzione di specie reattive dell’ossigeno e dell’azoto (ROS e RNS) e potrebbe attivare il rilascio di mediatori infiammatori (77). Lo stress ossidativo, così come i prodotti infiammatori, portano ad un aumento della formazione di AGEs e di conseguenza di sRAGE. Il legame RAGE-AGE non accelera il degrado dei mediatori infiammatori, ma piuttosto da inizio ad un lungo periodo di attivazione cellulare (78, 73, 79) che perpetua ed incrementa la produzione di AGE/RAGE.

Il fatto che NT-pro BNP sia predittore di un aumento di sRAGE rafforza l’ipotesi che esso sia in grado di indurre e/o potenziare la risposta infiammatoria anche agendo sull’asse AGE/RAGE. Infatti, NT-pro BNP potrebbe essere considerato come marcatore collettivo o totale di

infiammazione sistemica e non semplicemente un marker di disfunzione cardiaca in pazienti con malattie cardiovascolari (77, 80). Da questo punto di vista, la misura di sRAGE potrebbe contribuire a individuare un possibile fenotipo di SC in cui l'infiammazione sistemica sottostante sia particolarmente significativa.

Nella seconda indagine abbiamo riscontrato livelli sierici di Hs-PCR significativamente più alti nei pazienti BPCO rispetto ai pazienti con SC e ai soggetti di controllo. L'associazione tra BPCO stabile e aumentata PCR nel sangue mette in evidenza la relazione tra l'infiammazione sistemica e la malattia polmonare cronica (81). Al contrario, il ruolo dell'infiammazione nella patogenesi dello SC è meno ben definita. Ci sono prove di elevati livelli di PCR nei pazienti con SC nelle classi funzionali NYHA più alte, con alti tassi di riacutizzazione e mortalità (82). La scoperta di una simile concentrazione di PCR, in pazienti con SC e soggetti di controllo potrebbe essere spiegato, almeno in parte, dal fatto che la quasi totalità dei nostri pazienti aveva uno SC stabile e di grado lieve (classi NYHA I e II).

La PCR è un membro della famiglia delle pentrassine e negli ultimi anni, un'altra pentrassina, la PTX3, è stata studiata sia in pazienti BPCO che con SC.

Nei soggetti con SC, alti livelli plasmatici di PTX3 sono indicativi di gravità della patologia e prognosi peggiore, con aumentata mortalità per tutte le cause, per cause cardiovascolari ed aumentata frequenza di ospedalizzazione per riacutizzazione (83). I dati del nostro studio vanno ad integrare le informazioni fino ad ora disponibili, in quanto dimostrano che i livelli plasmatici di PTX3, in una coorte di pazienti con SC di grado lieve

(classe NYHA I e II) e clinicamente stabile, sono simili a quelli dei soggetti sani con pari età e storia di fumo.

Per quanto riguarda la BPCO, abbiamo confermato i dati già presenti in letteratura, dove i livelli di PTX3 circolanti sono stati trovati normali (84).

L'altro marcatore valutato nello studio è IL-1 $\beta$ , una citochina proinfiammatoria, aumentata nella BPCO sia in fase di stabilità clinica che in corso di riacutizzazione (85, 86, 87). I nostri dati sull'incremento di IL-1  $\beta$  nel plasma dei BPCO rispetto ai soggetti di controllo (fumatori sani) sono in accordo con i risultati di alcuni studi precedentemente pubblicati (88). Fa eccezione il lavoro di Sapey et al. (89), nel quale non sono state trovate differenze nei valori circolanti di IL-1  $\beta$  tra BPCO e soggetti sani. Tuttavia, essi hanno esaminato pochissimi pazienti (n = 15) e li hanno confrontati con soggetti di controllo che non avevano mai fumato, rendendo impossibile distinguere l'effetto del fumo da quello della BPCO.

Recentemente stanno riscuotendo molto interesse studi sull'azione dei recettori decoy.

Il recettore decoy descrive un recettore che è capace di riconoscere il suo ligando con elevata affinità e specificità, ma che è strutturalmente incapace di inviare un segnale (58). Il recettore solubile dell'IL-1, l'IL-1RII, è stato il primo recettore decoy puro ad essere identificato. Nel nostro studio abbiamo dimostrato che i suoi livelli sistemici sono più alti nei pazienti BPCO rispetto ai soggetti di controllo e ai pazienti con SC. Questo aumento può indicare un tentativo di prevenire gli effetti biologici mediati da elevati livelli di IL-1 $\beta$  nei pazienti BPCO. Tuttavia, sono necessarie ulteriori indagini per chiarire il ruolo di sIL-1RII in questa patologia (90, 9).

Livelli circolanti di IL-1 $\beta$  e di sIL-1RII non differivano tra i nostri pazienti con SC e i soggetti di controllo, questo dato non è del tutto inaspettato, in quanto, la rete infiammatoria nello SC non è ancora chiara. In particolare, studi precedenti hanno riportato che livelli sistemici di IL-1 $\beta$  in soggetti con SC potevano rimanere invariate (91), aumentare (9), o diminuire (92) rispetto ai controlli.

### 3.0 Conclusioni

In conclusione, abbiamo dimostrato che i valori circolanti di CML e sRAGE sono significativamente aumentati nei pazienti con SC in fase di stabilità clinica rispetto ai controlli. Nei pazienti con BPCO lieve-moderata, sia essa presente come comorbilità o malattia primaria, i livelli di CML e sRAGE non differiscono da quelli dei soggetti sani. Inoltre, l'sRAGE è risultato significativamente e positivamente associato a valori di NT-pro-BNP in pazienti con SC, SC e BPCO e pazienti con BPCO, essendo l'NT-pro-BNP un predittore indipendente di una maggiore concentrazione di sRAGE. Questi risultati possono suggerire un possibile ruolo di BNP nella via infiammatoria regolata dal complesso AGE/RAGE.

Abbiamo inoltre messo in evidenza che a differenza di pazienti con SC, i pazienti BPCO presentano un'infiammazione sistemica caratterizzata dall'aumento di CRP, IL-1  $\beta$  e sIL-1RII.

In conclusione, i biomarkers che mediano il processo infiammatorio nello SC e nella BPCO sono diversi. L'infiammazione sistemica, infatti, coinvolge l'asse AGE/RAGE nei pazienti con SC, mentre per i soggetti BPCO sono interessate le citochine proinfiammatorie ed i loro recettori.

Una migliore caratterizzazione clinica e funzionale dei fumatori anziani con malattie croniche e l'identificazione dei mediatori d'infiammazione coinvolti nei vari processi, può contribuire a migliorare il trattamento e la gestione di questi pazienti, il cui numero è destinato ad aumentare nei prossimi anni dato l'invecchiamento della popolazione.



# *Bibliografia*

## 4.0 Bibliografia

1. <http://www.epicentro.iss.it/default.asp>
2. Sin DD, Anthonisen NR, Soriano JB, Agusti AG. Mortality in COPD: Role of comorbidities. *Eur Respir J* 2006;28:1245-5.
3. Stewart S, Jenkins A, Buchan S, McGuire A, Capewell S, McMurray JJ; The Current Cost of Heart Failure to the National Health Service in the UK. *European Journal Heart Failure* 2002;4:316-371.
4. P.A. McKee, W.P. Castelli, P.M. McNamara et al. The Natural History of Congestive Heart Failure: the Framingham study. *New England Journal of Medicine* 1971;285:1441-1446.
5. D.L. Kasper, E. Braunwald, A.S. Fauci, S.L. Hauser, D.L. Longo, J.L. Jameson. *MC Graw-Hill, Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16/e, 2005;2:1543.
6. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL Longo DL, Jameson JL. *Principi di Medicina Interna*. In: Harrison, Milano 2002. 15a Edizione. Vol 1
7. Yanavitski M, Givertz MM. Novel biomarkers in acute heart failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2011;8(3):206-11.
8. Gheorghide M, Mebazaa A. Introduction to acute heart failure syndromes. *Am J Cardiol*. 2005;96(6A):1G-4G.

9. Testa M, Yeh M, Lee P, et al. Circulating levels of cytokines and their endogenous modulators in patients with mild to severe congestive heart failure due to coronary artery disease or hypertension. *Journal of the American College of Cardiology* 1996;28(4):964–971.
10. Ogawa T1, de Bold AJ.Ogawa. Brain natriuretic Peptide production and secretion in inflammation. *J Transplant.* 2012;2012:962347.
11. World Health Report. Geneva: World Health Organization. Available from URL: <http://www.who.int/whr/2000/en/statistics.htm>; 2000.
12. [www.goldcopd.it](http://www.goldcopd.it)
13. Fabbri LM, Rabe KF. From COPD to chronic systemic inflammatory syndrome? *Lancet.* 2007;370:797-9.
14. Vestbo J. Systemic inflammation and progression of COPD. The role of Creactive protein.*Thorax* 2007;62:469-470.
15. Dahl M, Vestbo J, Lange P, Bojesen SE, Tybjærg-Hansen A and Nordestgaard BG. Creactive protein as a predictor of prognosis in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175(3):250-255.

16. Sevenoaks M, Stockley R. Chronic obstructive pulmonary disease, inflammation and comorbidity: a common inflammatory phenotype? *Respir Res* 2006;7:70.
17. MacNee W. Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2005;2:50-60.
18. Broekhuizen R, Wouters EF, Creutzberg EC, Schols AM. Raised CRP levels mark metabolic and functional impairment in advanced COPD. *Thorax* 2006;61:17-22.
19. Hodge G, Nairn J, Holmes M, Reynolds PN, Hodge S. Increased intracellular T helper 1 proinflammatory cytokine production in peripheral blood, bronchoalveolar lavage and intraepithelial T cells of COPD subjects. *Clin Exp Immunol* 2007;150:22-9.
20. Morrison D, Rahman I, Lannan S, MacNee W. Epithelial permeability, inflammation and oxidant stress in the air spaces of smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:473-479.
21. Feinstein, A. R. The pre-therapeutic classification of co-morbidity in chronic disease. *Journal of Chronic Disease* 1970;23:455-468.
22. Klerman GL. Approaches to the phenomena of comorbidity. In: Maser JD, Cloninger CR, eds. *Comorbidity of mood and anxiety disorders*. Washington DC:APP 1990;13-40

23. Bocognano A, Durnesni JS, Frerot L, Sermet C. Santé, soins et protection sociale en 1998. CREDES Edition 1999.
24. Librero J, Peiro S, Ordinana R. Chronic comorbidity and outcomes of hospital care: length of stay, mortality and readmission at 30 and 365 days. *J Clin Epidemiol* 1999;52:172-9.
25. Greenfield S, Apolone G, McNeil BJ, Cleary PD. The importance of co-existent disease in the occurrence of postoperative complications and one-year recovery in patients undergoing total hip replacement. *Med Care* 1993;31:141-54.
26. Fried LP, Guralnik JM. Disability in older adults: evidence regarding significant etiology and risk. *J Am Geriatr Soc* 1997;45:92-100.
27. Stuck AF, Walthert JM, Nikolaus T, Bula CJ, Hohmann C, Beck JC. Risk factors for functional status decline in community-living elderly people: a systematic literature review. *Soc Sci Med* 1999;48:445-69
28. J. Cleland, H. Dargie, S. Hardman, T. McDonagh, P. Mitchell. NATIONAL HEART FAILURE AUDIT 2012 - 2013
29. Hawkins NM<sup>1</sup>, Petrie MC, Jhund PS, Chalmers GW, Dunn FG, McMurray JJ. Heart failure and chronic obstructive pulmonary disease: diagnostic pitfalls and epidemiology. *Eur J Heart Fail.* 2009;11:130-9.

30. Boschetto P, Fucili A, Stendardo M, Malagù M, Parrinello G, Casimirri E, Potena A, Ballerin L, Fabbri LM, Ferrari R, Ceconi C. Occurrence and impact of chronic obstructive pulmonary disease in elderly patients with stable heart failure. *Respirology*. 2013;18:125-30.
31. Sin DD, Anthonisen NR, Soriano JB, Agusti AG. Mortality in COPD: role of comorbidities. *Eur Respir J* 2006;28(6):1245-1257
32. Wensing M, Vingerhoets E, Grol R: Functional status, health problems, age and comorbidity in primary care patients. *Qual Life Res* 2001;10:141-148.
33. O'Kelly S, Smith SM, Lane S, Teljeur C, O'Dowd T. Chronic respiratory disease and multimorbidity: prevalence and impact in a general practice setting. *Respir Med* 2011;105:236-242.
34. Antonelli Incalzi R, Bellia V, Catalano F et al: Evaluation of health outcomes in elderly patients with asthma and COPD by using disease-specific and generic instruments: the Sa.R.A. study. *Chest* 2001;120:734-742.
35. Mapel DW, Hurley JS, Frost FJ, Petersen HV, Picchi MA, Coultas DB. Health care utilization in chronic obstructive pulmonary disease. A case-control study in a health maintenance organization. *Arch Intern Med* 2000;160(17):2653-2658.

36. Soriano JB, Visick GT, Muellerova H, Payvandi N, Hansell AL. Patterns of comorbidities in newly diagnosed COPD and asthma in the primary care. *Chest* 2005; 128(4):2099-2107.
37. Antonelli Incalzi R, Fuso L, De Rosa M, et al. Co-morbidity contributes to predict mortality of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1997;10(12): 2794-2800.
38. Schmidt AM, Hori O, Brett J, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Cellular receptors for advanced glycation end products: implications for induction of oxidant stress and cellular dysfunction in the pathogenesis of vascular lesions. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1521–1528.
39. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001;44:129–146.
40. Chichester, C. O. *Advances in Food Research (Advances in Food and Nutrition Research)*. Boston: Academic Press, 1986.
41. Schmidt AM, Hori O, Chen JX, Li JF, Crandall J, Zhang J, Cao R, Yan SD, Brett J, Stern D. Advanced glycation end products interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J Clin Invest* 1995; 96: 1395-403.

42. Mantovani A, Locati M, Vecchi A, Sozzani S, Allavena P. Decoy receptors: a strategy to regulate inflammatory cytokines and chemokines. *Trends Immunol.* 2001;22(6):328-36.
43. Boschetto P, Campo I, Stendardo M, Casimirri E, Tinelli C, Gorrini M, Ceconi C, Fucili A, Potena A, Papi A, Ballerin L, Fabbri LM, Luisetti M. Plasma sRAGE and N-(carboxymethyl) lysine in patients with CHF and/or COPD. *Eur J Clin Invest.* 2013;43(6):562-9.
44. Willemsen S, Hartog JW, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Roze JF, Jaarsma T, Schalkwijk C, van der Horst IC, Hillege HL, Voors A. The role of advanced glycation end-products and their receptor on outcome in heart failure patients with preserved and reduced ejection fraction. *Am Heart J* 2012 164(5):742-749.
45. Wu L, Ma L, Nicholson LF, Black PN. Advanced glycation end products and its receptor (RAGE) are increased in patients with COPD. *Respir Med.* 2011;105(3):329-36.
46. D.J. Smith, S.T. Yerkovich, M.A. Towers, M.L. Carroll, R. Thomas, J.W. Upham. Reduced soluble receptor for advanced glycation end-products in COPD. *Eur Respir J* 2011;37(3):516-22.
47. Cheng DT, Kim DK, Cockayne DA, Belousov A, Bitter H, Cho MH, Duvoix A, Edwards LD, Lomas DA, Miller BE, Reynaert N, Tal-Singer R, Wouters EF, Agustí A, Fabbri LM, Rames A, Visvanathan S, Rennard SI, Jones P, Parmar H, MacNee W, Wolff G, Silverman EK, Mayer RJ, Pillai

SG; TESRA and ECLIPSE Investigators. Systemic soluble receptor for advanced glycation endproducts is a biomarker of emphysema and associated with AGER genetic variants in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;188(8):948-57.

48. C. Garlanda, B. Bottazzi, A. Bastone, A. Mantovani. Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annu Rev Immunol* 2005;23:337–366.

49. M.B. Pepys, G.M. Hirschfield. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003;111:1805–1812.

50. Bottazzi B, Vouret-Craviari V, Bastone A, De Gioia L, Matteucci C, Peri G, Spreafico F, Pausa M, D'Ettorre C, Gianazza E, Tagliabue A, Salmona M, Tedesco F, Inrona M, Mantovani A. Multimer formation and ligand recognition by the long pentraxin PTX3. Similarities and differences with the short pentraxins C-reactive protein and serum amyloid P component. *J. Biol. Chem* 1997;272(52):32817–23.

51. Garlanda C, Hirsch E, Bozza S, Salustri A, De Acetis M, Nota R, Maccagno A, Riva F, Bottazzi B, Peri G, Doni A, Vago L, Botto M, De Santis R, Carminati P, Siracusa G, Altruda F, Vecchi A, Romani L, Mantovani A. Non-redundant role of the long pentraxin PTX3 in anti-fungal innate immune response. *Nature* 2002;420:182–186.

52. Reading PC, Bozza S, Gilbertson B, Tate M, Moretti S, Job ER, Crouch EC, Brooks AG, Brown LE, Bottazzi B, Romani L, Mantovani A.

Antiviral Activity of the Long Chain Pentraxin PTX3 against Influenza Viruses. *J Immunol* 2008;180:3391–3398.

53. Muller B, Peri G, Doni A, Torri V, Landmann R, Bottazzi B, Mantovani A. Circulating levels of the long pentraxin PTX3 correlate with severity of infection in critically ill patients. *Crit Care Med* 2001;29(7):1404–7.

54. Fazzini F, Peri G, Doni A, Dell'Antonio G, Dal Cin E, Bozzolo E, D'Auria F, Praderio L, Ciboddo G, Sabbadini MG, Manfredi AA, Mantovani A, Querini PR. PTX3 in small-vessel vasculitides: an independent indicator of disease activity produced at sites of inflammation. *Arthritis Rheum* 2001;44(12):2841–50.

55. Mairuhu AT, Peri G, Setiati TE, Hack CE, Koraka P, Soemantri A, Osterhaus AD, Brandjes DP, van der Meer JW, Mantovani A, van Gorp EC. Elevated plasma levels of the long pentraxin, pentraxin 3, in severe dengue virus infections. *J Med Virol* 2005;76(4):547–52.

56. Azzurri A, Sow OY, Amedei A, Bah B, Diallo S, Peri G, Benagiano M, D'Elios MM, Mantovani A, Del Prete G. IFN-gamma-inducible protein 10 and pentraxin 3 plasma levels are tools for monitoring inflammation and disease activity in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Microbes Infect* 2005;7(1):1–8.

57. Latini R, Maggioni AP, Peri G, Gonzini L, Lucci D, Mocarelli P, Vago L, Pasqualini F, Signorini S, Soldateschi D, Tarli L, Schweiger C, Fresco

C, Cecere R, Tognoni G, Mantovani A. Prognostic significance of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;110(16):2349–54.

58. Mantovani A, Locati M, Vecchi A, Sozzani S, Allavena P. Decoy receptors: a strategy to regulate inflammatory cytokines and chemokines. *Trends Immunol* 2001;22(6):328-36.

59. Niebauer J. Effects of exercise training on inflammatory makers in patients with heart failure. *Heart Fail Rev* 2008;13:39-49

60. Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJ, Ponikowski P, Poole-Wilson PA, et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur J Heart Fail* 2008;10:933–89.

61. Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, Calverley P, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;176:532–55.

62. Charlson ME, Sax FL. The therapeutic efficacy of critical care units from two perspectives: a traditional cohort approach vs a new case-control methodology. *J. Chronic Dis* 1987;40:31–9.

63. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26:319–38.

64. ATS Committee on Proficiency Standards for Clinical Pulmonary Function Laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:111–7.

65. Mahler DA, Wells CK. Evaluation of clinical methods for rating dyspnea. *Chest* 1988;93:580–6.

66. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39:S1–266.

67. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005;18:1440–63.

68. Quiñones MA, Otto CM, Stoddard M, Waggoner A, Zoghbi WA, Doppler Quantification Task Force of the Nomenclature and Standards Committee of the American Society of Echocardiography. Recommendations for quantification of Doppler echocardiography: a report

from the Doppler Quantification Task Force of the Nomenclature and Standards Committee of the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2002; 15:167–84.

69. Hartog JW, Voors AA, Bakker SJ, Smit AJ, Van Veldhuisen DJ. Advanced glycation end-products (AGEs) and heart failure: pathophysiology and clinical implications. *Eur J Heart Fail* 2007;9:1146–55.

70. Wang LJ, Lu L, Zhang FR, Chen QJ, De Caterina R, Shen WF. Increased serum high-mobility group box-1 and cleaved receptor for advanced glycation endproducts levels and decreased endogenous secretory receptor for advanced glycation endproducts levels in diabetic and non-diabetic patients with heart failure. *Eur J Heart Fail* 2011;13:440–9.

71. Heidland A, Sebeková K, Frangiosa A, De Santo LS, Cirillo M, Rossi F, et al. Paradox of circulating advanced glycation end product concentrations in patients with congestive heart failure and after heart transplantation. *Heart* 2004;90:1269–74.

72. Hartog JW, Voors AA, Schalkwijk CG, Scheijen J, Smilde TD, Damman K, et al. Clinical and prognostic value of advanced glycation end-products in chronic heart failure. *Eur Heart J* 2007;28:2879–85.

73. Raposeiras-Roubín S, Rodiño-Janeiro BK, Grigorian-Shamagian L, Moure-González M, Seoane-Blanco A, Varela-Román A, et al. Soluble receptor of advanced glycation end products levels are related to ischaemic

aetiology and extent of coronary disease in chronic heart failure patients, independent of advanced glycation end products levels: New Roles for Soluble RAGE. *Eur J Heart Fail* 2010;12:1092–100.

74. Koyama Y, Takeishi Y, Niizeki T, Suzuki S, Kitahara T, Sasaki T, et al. Soluble Receptor for advanced glycation end products (RAGE) is a prognostic factor for heart failure. *J Card Fail* 2008;14:133–9.

75. Smith DJ, Yerkovich ST, Towers MA, Carroll ML, Thomas R, Upham JW. Reduced soluble receptor for advanced glycation end-products in COPD. *Eur Respir J* 2011;37:516–22.

76. Sukkar MB, Wood LG, Tooze M, Simpson JL, McDonald VM, Gibson PG, et al. Soluble RAGE is deficient in neutrophilic asthma and COPD. *Eur Respir J* 2012;39:721–9.

77. Chiurchiù V, Izzi V, D'Aquilio F, Carotenuto F, Di Nardo P, Baldini PM. Brain Natriuretic Peptide (BNP) regulates the production of inflammatory mediators in human THP-1 macrophages. *Regul Pept* 2008;148:26–32.

78. Basta G, Lazzerini G, Massaro M, Simoncini T, Tanganelli P, Fu C, et al. Advanced glycation end products activate endothelium through signal-transduction receptor RAGE: a mechanism for amplification of inflammatory responses. *Circulation* 2002;105:816–22.

79. Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, Wendt T, Chavakis T, Arnold B, et al. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Mol Med* 2005;83:876–86.
80. Inoue T, Kawai M, Nakane T, Nojiri A, Minai K, Komukai K, et al. Influence of low-grade inflammation on plasma B-type natriuretic peptide levels. *Intern Med* 2010;49:2659–68.
81. Ukena C, Mahfoud F, Kindermann M, Kindermann I, Bals R et al. (2010) The cardiopulmonary continuum systemic inflammation as 'common soil' of heart and lung disease. *Int J Cardiol* 145: 172-176.
82. Alonso-Martínez JL, Llorente-Diez B, Echegaray-Agara M, Olaz-Preciado F, Urbieto-Echezarreta M et al. (2002) C-reactive protein as a predictor of improvement and readmission in heart failure. *Eur J Heart Fail* 4: 331-336.
83. Latini R, Gullestad L, Masson S, Nymo SH, Ueland T et al. (2012) Pentraxin-3 in chronic heart failure: the CORONA and GISSI-HF trials. *Eur J Heart Fail* 14: 992-999.
84. Van Pottelberge GR, Bracke KR, Pauwels NS, Vermassen FE, Joos GF et al. (2012) COPD is associated with reduced pulmonary interstitial expression of pentraxin-3. *Eur Respir J* 39: 830-838.
85. Aaron SD, Angel JB, Lunau M, Wright K, Fex C et al. (2001) Granulocyte inflammatory markers and airway infection during acute

exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 163: 349-355.

86. Chung KF (2001) Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J Suppl* 34: 50s-59s.

87. Sapey E, Bayley D, Ahmad A, Newbold P, Snell N et al. (2008) Interrelationships between inflammatory markers in patients with stable COPD with bronchitis: intra-patient and inter-patient variability. *Thorax* 63: 493-499.

88. Pinto-Plata V, Toso J, Lee K, Park D, Bilello J et al. (2007) Profiling serum biomarkers in patients with COPD: associations with clinical parameters. *Thorax* 62: 595-601.

89. Sapey E, Ahmad A, Bayley D, Newbold P, Snell N et al. (2009) Imbalances between interleukin-1 and tumor necrosis factor agonists and antagonists in stable COPD. *J Clin Immunol* 29: 508-516.

90. Dentener MA, Creutzberg EC, Schols AM, Mantovani A, van't Veer C et al. (2001) Systemic anti-inflammatory mediators in COPD: increase in soluble interleukin 1 receptor II during treatment of exacerbations. *Thorax* 56: 721-726.

91. Munger MA, Johnson B, Amber IJ, Callahan KS, Gilbert EM (1996) Circulating concentrations of proinflammatory cytokines in mild or

moderate heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 77: 723-727.

92. Cappuzzello C, Di Vito L, Melchionna R, Melillo G, Silvestri L et al. (2011) Increase of plasma IL-9 and decrease of plasma IL-5, IL-7, and IFN-gamma in patients with chronic heart failure. *J Transl Med* 9: 28.



# **Tabelle**

# **e**

# **Figure**

**Tabella 1: Caratteristiche cliniche di pazienti con SC, SC+BPCO, BPCO e controlli**

	Gruppo 1			Gruppo 2	
	SC (N=58)	BPCO (N=23)	SC+BPCO (N=27)	Controlli fumatori(N=17)	Controlli Non fumatori(N=18)
<b>Età (a)*</b>	72.7 ± 6.2	68.5 ± 3.7	73.7 ± 6.3	68.6 ± 2.8	68.1 ± 4.1
<b>Maschi (n[%])</b>	49(84.4)	18(78.3)	23(85.2)	13(76.5)	10(55.5)
<b>BMI</b>	27.6 (25.5-29)	28.6 (25-31)	26.3(25.1-28.9)	25.3(22.9-27.9)	27.1(24.3-29.3)
<b>Pack/years</b>	34.0 ± 21	34.0 ± 16	50.1 ± 34.7	33.0 ± 16	0
<b>Eziologia dello SC (n[%])</b>					
<i>Ischemica</i>	34(58.6)	-	14(53.8)	-	-
<i>Non- Ischemica</i>	24(41.4)	-	12(46.2)	-	-
<b>Classe NYHA (n[%])</b>					
<i>I and II</i>	53(91.4)	-	23(85.2)	-	-
<i>III and IV</i>	5(8.6)	-	4(14.8)	-	-
<b>GOLD stage (n[%])</b>					
<i>I</i>	-	9(39.1)	19(70.4)	-	-
<i>II</i>	-	12(52.2)	7(25.9)	-	-
<i>III</i>	-	2(8.7)	1(3.7)	-	-
<b>Terapia seguita (n[%])</b>					
<i>Beta- bloccanti</i>	50(86)	3(13)	22(81)	0	0
<i>ACE Inibitori/AR</i>					
<i>Bs</i>	56(96)	14(61)	26(96)	0	0
<i>Statine</i>	31(53)	7(30)	17(63.0)	0	0
<i>Steroidi inalatori</i>	0	14(61)	7(26)	0	0

## **Legenda tabella 1**

I dati sono il numero di soggetti (%) o la media  $\pm$  deviazione standard o mediana (interquartile ranges: 25th – 75th percentile).

BMI, indice di massa corporea; NYHA, classificazione funzionale New York Heart Association; GOLD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease; ACE, enzima di conversione dell'angiotensina; ARBs, antagonisti del recettore dell'angiotensina.

\*confronti significativi: SC vs BPCO ( $p=0.01$ ), SC vs Controlli (tra fumatori e non fumatori;  $p=0.04$  and  $p=0.01$ , rispettivamente); SC+BPCO vs BPCO ( $p=0.003$ ), SC+BPCO vs Controlli (tra fumatori e non fumatori;  $p=0.008$  and  $p=0.003$ , rispettivamente).

**Tabella 2: Caratteristiche funzionali di pazienti con SC, SC+BPCO, BPCO e controlli**

	Gruppo 1			Gruppo 2	
	SC (N=58)	BPCO (N=23)	SC+BPCO (N=27)	Controlli fumatori (N=17)	Controlli Non fumatori (N=18)
<b>Indice di Charlson</b>	2(1-2)	1(1-2)	3 (2 - 3)	0	0
<b>6MWD (mt)</b>	409.3 ± 146.8	387.4 ± 127.1	340.3 ± 143.2	431.0 ± 68.6	551.0 ± 29.7
<b>GFR (mL/min/1,73m<sup>2</sup>)*</b>	52.7 ± 13.2	65.5 ± 14.3	44.5 ± 12.8	63.0 ± 6.1	74.0 ± 9.8
<b>HsCRP (mg/mL)</b>	0.3(0.1-0.5)	0.4(0.3-0.5)	0.3 (0.2-0.74)	0.1(0.08 0.3)	0.2(0.09-0.4)
<b>LVEF (%)</b>	38(32-51)	NA	38(27-44)	NA	NA
<b>NT-pro BNP (pg/ml)^</b>	984(294-2049)	121(59-227)	1647(546-5360)	50(43-51)	45(23-68)
<b>FEV<sub>1</sub> post-bronchodilator (% predicted)</b>	97.5 ± 18.7	77.5 ± 22.2	84.3 ± 17.5	114.0 ± 17.8	115.3 ± 14.2
<b>FEV<sub>1</sub>/FCV post bronchodilator ‡ (%)</b>	76.3(73.7-80.6)	58.3(54.2-65.7)	64.0(62.0-67.5)	77.2(73.5-81.9)	78.1(75.7- 80.9)

## **Legenda tabella 2**

I dati sono il numero di soggetti (%) o la media  $\pm$  deviazione standard o mediana (interquartile ranges: 25th – 75th percentile).

6MWD, test del cammino dei sei minuti; GFR, velocità di filtrazione glomerulare; HsCRP, proteina C reattiva ad alta sensibilità; LVEF, frazione di eiezione ventricolare sinistra; NT-pro BNP, (BNP), frammento amino-terminale del peptide natriuretico cerebrale; FEV<sub>1</sub>, volume espiratorio forzato in un secondo; FVC, capacità vitale forzata; NA, non valutabile.

\* Confronti significativi: SC vs BPCO (p = 0,002); SC + BPCO vs BPCO (p <0.001), SC+BPCO vs controlli non fumatori (p = 0,02).

^ Confronti significativi: SC vs BPCO e SC vs controlli (fumatori e non fumatori), p <0,001; SC+BPCO vs SC, SC+BPCO vs BPCO, SC+BPCO vs controlli (fumatori e non fumatori), p <0.001 .

‡ confronti significativi: BPCO vs SC+BPCO (p = 0,03)

**Figura 1**

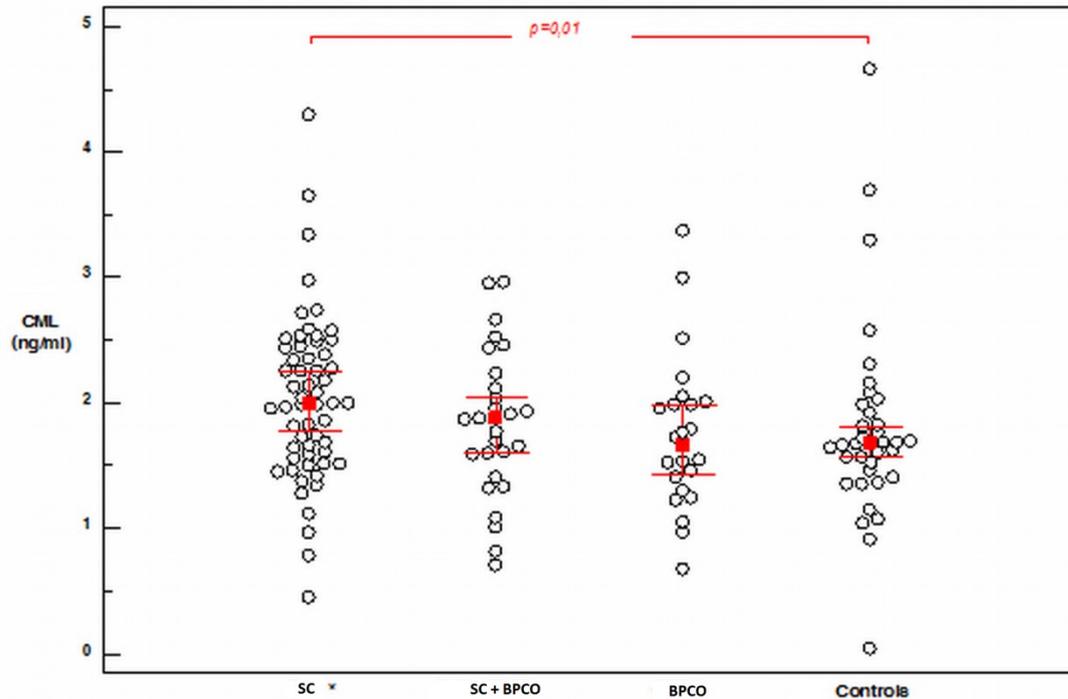


Figure 1. Livelli plasmatici di N-(carbossimetil) lisina (CML) in pazienti con SC, SC+BPCO, BPCO e controlli. Concentrazione plasmatica di CML sono state trovate significativamente più alta nei pazienti con SC rispetto ai controlli ( $P < 0.01$ ). Il punto indica il valore mediano e le linee indicano i limiti superiore e inferiore del 95% CI.\*n=57, 1 valore mancante.

**Figura 2:**

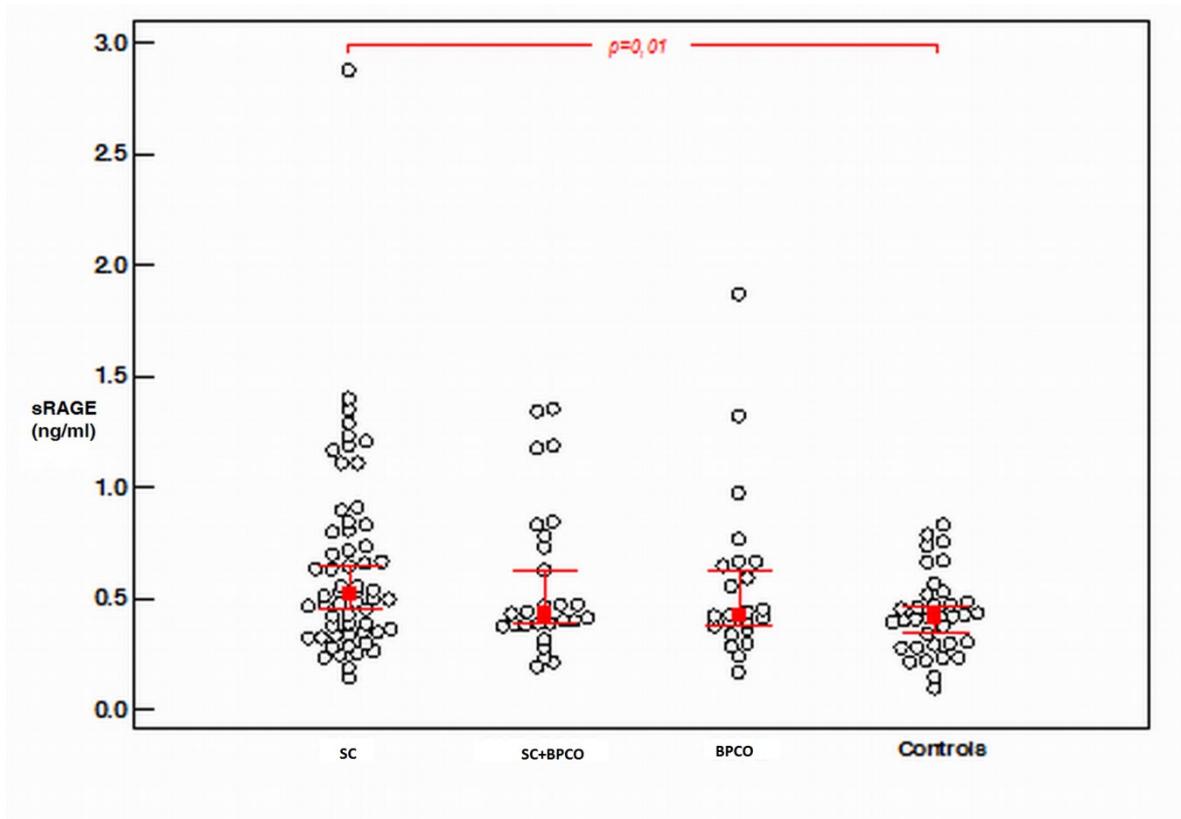


Figura 2. I livelli plasmatici del recettore solubile per i prodotti finali di glicazione avanzata (sRAGE) in pazienti con scompenso cardiaco cronico SC, SC+BPCO, BPCO e controlli. Le concentrazioni di sRAGE sono state trovate significativamente più alta nei pazienti con SC rispetto ai controlli ( $P < 0 \cdot 01$ ). Il punto indica il valore medio e le linee indicano i limiti superiore e inferiore del 95% CI.

Figura 3:

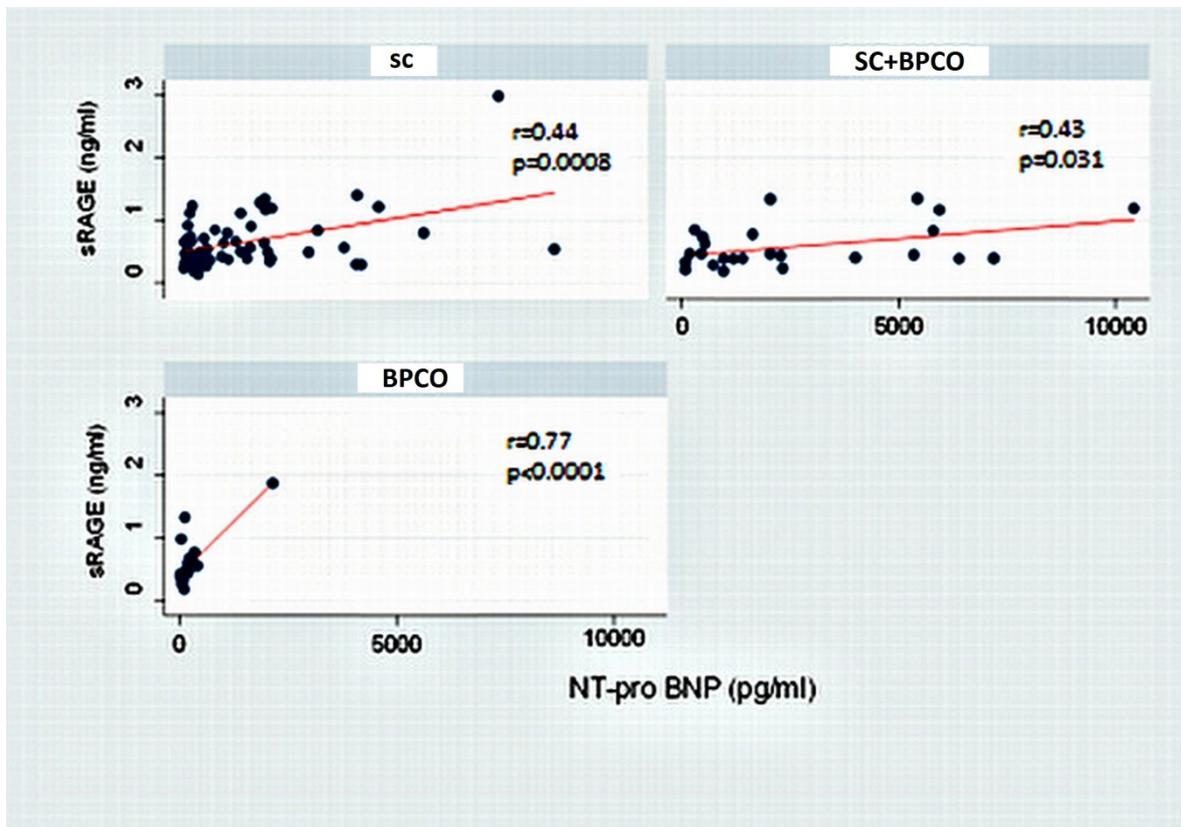


Figura 3. Le correlazioni tra il frammento amino-terminale del peptide natriuretico cerebrale (NT-pro-BNP) e il recettore solubile dei i prodotti finali della glicazione avanzata (sRAGE) nei pazienti con scompenso cardiaco cronico (SC), BPCOe SC+BPCO. Una correlazione positiva significativa è stata trovata in ciascun gruppo di pazienti. r=coefficiente di correlazione di Pearson.

**Tabella 3: caratteristiche cliniche dei pazienti BPCO, con SC e dei fumatori sani (sogetti di controllo)**

	<b>BPCO</b> (n=70)	<b>SC</b> (n=124)	<b>Fumatori sani</b> (n=24)
Età, a*	68.7 ± 7.8	71.6 ± 6.9	67 ± 7.7
Maschi, n (%)	52 (74)	106 (86)	15 (62.5)
BMI, kg/m <sup>2</sup>	27.6 ± 4.6	28.1 ± 3.6	27 ± 5
Pack/years	45.3 ± 27.1	41.8 ± 25.2	35.8 ± 15.4
GOLD stage, n (%)			
I	10 (14)	-	-
II	34 (49)	-	-
III	26 (37)	-	-
Classe NYHA, n (%)			
I	-	26 (21)	-
II	-	81 (65)	-
III	-	15 (12)	-
IV	-	2 (2)	-
Terapia, n (%)			
ACE inibitori	19 (27.5)	85 (68.5)	0
Beta bloccanti	14 (20)	103 (83)	0
Statine	20 (30)	79 (64)	0
Boncodilatatori inalatori (LABA and/or LAMA)	57 (81)	13(11)	0
Steroidi inalatori	43 (61)	10 (8)	0

**Legenda tabella 3:** I dati sono espressi come numero di soggetti (%) o media ± deviazione standard (SD).

BMI, indice di massa corporea, NYHA, New York Heart Association, GOLD, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, ACE, enzima di conversione dell'angiotensina, LABA, beta-2 agonisti a lunga durata d'azione, LAMA, agenti antimuscarinici a lunga durata d'azione.

\* Significativo (p <0.05): BPCO vs SC e SC vs fumatori sani.

**Tabella 4: Caratteristiche funzionali dei pazienti COPD, con SC e fumatori sani (sogetti di controllo)**

	<b>BPCO</b> (n=70)	<b>SC</b> (n=124)	<b>Fumatori sani</b> (n=24)	<b>p value</b>
Indice di Charlson	1 (1–2)	3 (2–4)	-	< 0.001
6MWT, m	490 ± 131	378 ± 163	N.A.	< 0.001
LVEF (%)	69.83 ± 7.04	40.45 ± 11.59	N.A.	< 0.001
NT-proBNP, pg/ml	115 (50–364)	984 (450–2095)	50 (43–51)	< 0.001*
Hs-CRP, mg/L	2.17 (0.93–4.62)	0.32 (0.20–0.70)	0.3 (0.17–0.55)	< 0.001**
Post-BD FEV1% predicted	60.48 ± 18.39	88.55 ± 20.26	115.77 ± 15.83	< 0.001***
Post-BD FVC % predicted	86.23 ± 20.85	94.04 ± 18.81	117.17 ± 16.11	< 0.001****
Post-BD FEV1/FVC ratio	0.54 (0.47–0.61)	0.74 (0.67–0.78)	0.77 (0.74–0.81)	< 0.001*****

**Legenda tabella 4:** I dati sono espressi come media  $\pm$  SD o mediana (interquartile ranges: 25th – 75th percentile).

6MWT, test del cammino dei 6 minuti, LVEF, frazione di eiezione ventricolare sinistra; NT-proBNP, N-terminale pro-ormone del cervello peptide natriuretic; Hs-CRP, proteina C-reattiva ad alta sensibilità, BD, broncodilatatori, FEV1, volume espiratorio forzato in 1 s; FVC, capacità vitale forzata, NA, non disponibile.

\* Significativo ( $p < 0,05$ ) test post-hoc: BPCO vs SC; BPCO vs fumatori sani; SC vs fumatori sani.

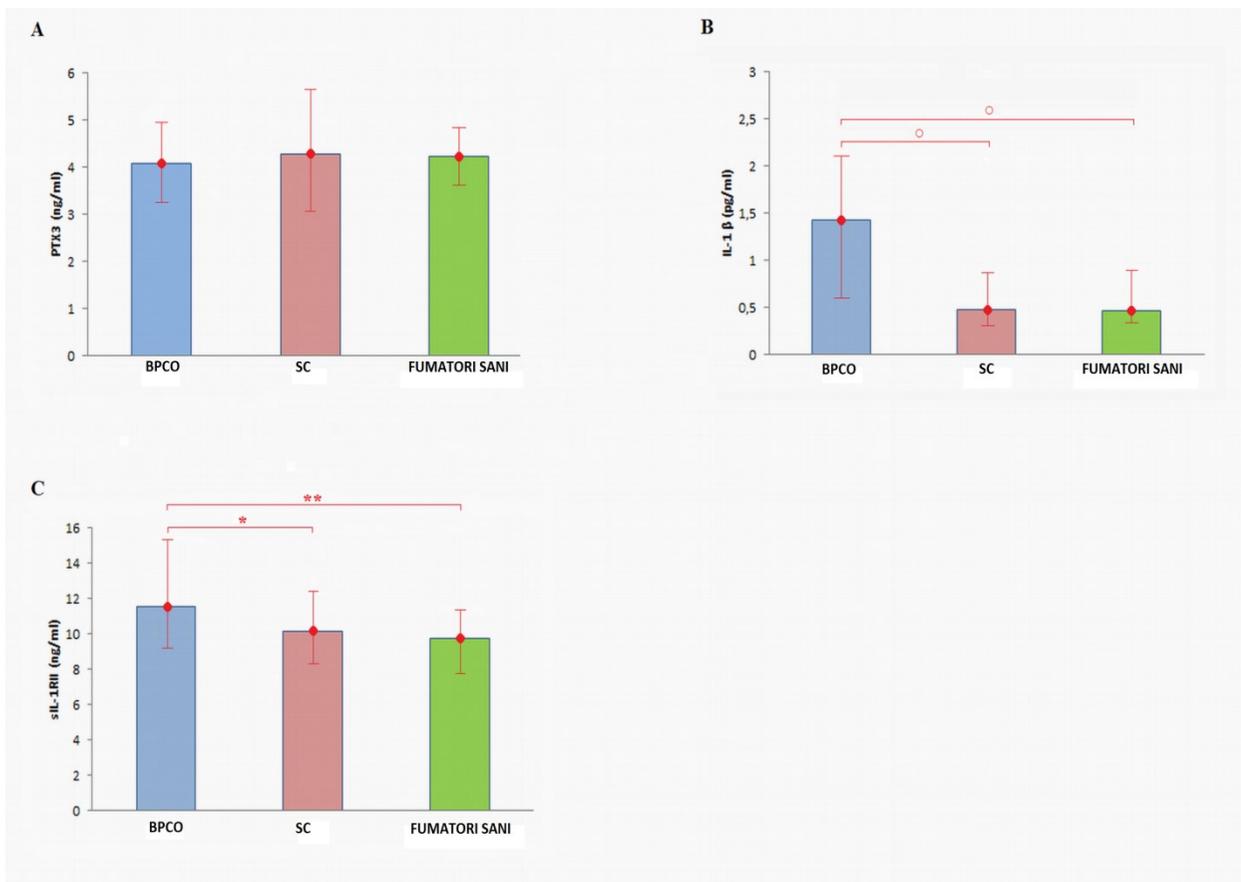
\*\* Significativo ( $p < 0,05$ ) test post-hoc: BPCO vs SC; BPCO vs fumatori sani.

\*\*\* Significativo ( $p < 0,05$ ) test post-hoc: BPCO vs SC; BPCO vs fumatori sani; SC vs fumatori sani.

\*\*\*\* Significativo ( $p < 0,05$ ) test post-hoc: BPCO vs SC; BPCO vs fumatori sani; SC vs fumatori sani.

\*\*\*\*\* Significativo ( $p < 0,05$ ) test post-hoc: BPCO vs SC; BPCO vs fumatori sani; SC vs fumatori sani.

**Figura 4:**



**Legenda figura 4:** Livelli plasmatici di PTX3 (A), IL-1 $\beta$  (B) e SIL-1RII (C) nei soggetti BPCO, con SC e fumatori sani.

I livelli plasmatici di IL-1 $\beta$  e SIL-1 RII sono significativamente più alti nei pazienti con BPCO rispetto sia ai pazienti con SC che ai soggetti di controllo (fumatori sani). I livelli plasmatici di PTX3 non differivano nei tre gruppi.

I dati sono espressi come media; le barre indicano il 75 ° e 25 ° percentile.

○ p <0.001, BPCO vs SC, e fumatori sani vs BPCO.

\* P <0.05, BPCO vs SC; \*\* p <0.01, BPCO vs fumatori sani.

## 6.0 Curriculum Vitae

Formato europeo per il curriculum vitae



Informazioni personali  
03 Marzo 2014

Nome  
Indirizzo  
Telefono

Mariarita Stendardo  
Via Leone XIII, 15- 73039, Tricase (LE), Italia  
Abitazione: +39 0532-470960  
ufficio: +39 0532-455591  
cell: +39 320-7903066;  
+39 0532-205066  
m.stendardo@hotmail.it

Fax  
E-mail

Nazionalità

Italiana

Data di nascita  
CF

18 Febbraio 1984  
STNMRT84B58D851I

### ESPERIENZA LAVORATIVA

- Date (da - a)  
• Nome e indirizzo del datore di lavoro  
• Tipo di azienda o settore  
• Tipo di impiego

Dal 1/01/2011 ad oggi  
Università degli Studi di Ferrara – Via Fossato di Mortara, 64B–44121 Ferrara

Università degli Studi di Ferrara  
DOTTORATO DI RICERCA IN FARMACOLOGIA E ONCOLOGIA MOLECOLARE

- Date (da - a)  
• Nome e indirizzo del datore di lavoro  
• Tipo di azienda o settore  
• Tipo di impiego

Dal 1-09-2010 al 31-08-2013  
Università degli Studi di Ferrara – Via Fossato di Mortara, 64B–44121 Ferrara

Università degli Studi di Ferrara  
ASSEGNO DI RICERCA

- Date (da - a)  
• Nome e indirizzo del datore di lavoro  
• Tipo di azienda o settore  
• Tipo di impiego

Dal 19-01-2010 al 19-10-2010  
Università degli Studi di Ferrara – Via Fossato di Mortara, 64B–44121 Ferrara

Università degli Studi di Ferrara  
CONTRATTO DI COLLABORAZIONE COORDINATA E CONTINUATIVA

- Date (da - a)  
• Nome e indirizzo del datore di lavoro  
• Tipo di azienda o settore  
• Tipo di impiego

Dal 04-11-2008 al 02-10-2009  
Università degli Studi di Ferrara – Via Fossato di Mortara, 64B–44121 Ferrara

Università degli Studi di Ferrara  
BORSA DI STUDIO

• Qualifica conseguita	Laurea in Biotecnologie Medico-Farmaceutiche, 110/110
Curriculum post laurea	- Dottorato di ricerca in Farmacologia e Oncologia Molecolare, Università degli Studi di Ferrara, 2011
• Abilitazione e votazione conseguita	- Prima sessione 2010 c/o universita' del salento con esito positivo
Madrelingua	Italiano
Altra lingua	Inglese
• Capacità di lettura	Ottima
• Capacità di scrittura	Buona
• Capacità di espressione orale	Buona
Società scientifiche	Federazione Italiana Biotecnologi
Capacità e competenze relazionali	ottime capacità relazionali sia con i superiori che con i colleghi. attitudine a gestire situazioni complesse che richiedono organizzazione e rapida risoluzione.
Capacità e competenze organizzative	ottime competenze organizzative
Capacità e competenze tecniche	ESPERIENZA DI LABORATORIO BIOMEDICO e GESTIONE DI DATABASE OTTIMA CONOSCENZA E USO DEI PRINCIPALI APPLICATIVI DI OFFICE AUTOMATION . Ottima conoscenza dei programmi per il computer Microsoft Office Word e PowerPoint . Ottima conoscenza del programma per il computer Microsoft Office Excel . Sufficiente conoscenza del programma per il computer Microsoft Office Access

#### PARTECIPAZIONE A CONVEGNI:

Partecipazione al seminario promosso da RIS Reparto Investigazione Scientifica Carabinieri – Parma: LE APPLICAZIONI PRATICHE DELLA CHIMICA FORENSE

Partecipazione al congresso promosso dal Medical Science Expo 2007: “MOLECULAR MEDICINE AND GENOMICS” e “MOLECULAR IMAGING AND BIOMEDICAL TECHNOLOGY”

Partecipazione al congresso 2009 Global Initiatives a Modena dal 1 al 4 Marzo 2009

Partecipazione al congresso European Respiratory Society (ERS) a Vienna dal 12 al 16 Settembre 2009

Partecipazione al congresso “Phenotyping and management of asthma” a Modena il 2 Ottobre 2009

Partecipazione al congresso 2010 Global Initiatives a Modena dal 4 al 7 Marzo 2010

Partecipazione al congresso European Respiratory Society (ERS) a Barcellona dal 18 al 22 Settembre 2010

Partecipazione al congresso 2011 Global Initiatives a Modena dal 1-3 marzo

Partecipazione al congresso European Respiratory Society (ERS) ad Amsterdam dal 24 al 28 Settembre 2011

Partecipazione al congresso 2012 Global Initiatives a Modena dal 28-2 marzo

Partecipazione al congresso European Respiratory Society (ERS) a Vienna dal 1 al 5 Settembre 2012

Partecipazione al congresso 2013 Global Initiatives a San Servolo dal 28-2 marzo

Partecipazione al congresso European Respiratory Society (ERS) a Barcellona dal 7 al 11 Settembre 2013

#### PUBBLICAZIONI

##### CAPITOLI DI LIBRI:

G. Russo– B. Russo– M. Stendardo– S. Colazzo. Nozioni di chimica e biochimica. Appunti di lezioni di chimica e biochimica per gli allievi del corso di laurea in Scienze Infermieristiche dell'Università degli Studi di Bari. Esculapio. ISBN: 978-88-7488-288-5

##### C) PUBBLICAZIONI SU RIVISTE RECENSITE DAI CURRENT CONTENTS

- 1) Miotto D, Cascio NL, Stendardo M, Querzoli P, Pedriali M, De Rosa E, Fabbri LM, Mapp CE, Boschetto P. CD8+ T cells expressing IL-10 are associated with a favourable prognosis in lung cancer. *Lung Cancer* 2010; 69: 355-60
- 2) Boschetto P, Stendardo M. Scopenso cardiaco e BPCO: dispnea e diagnosi differenziale. 2010; [www.moving.bpcO.it](http://www.moving.bpcO.it)
- 3) Boschetto P, Stendardo M. Linee Guida: il paziente con BPCO e comorbidità. 2011; [www.moving.bpcO.it](http://www.moving.bpcO.it)
- 4) Boschetto P, Stendardo M. ERS 2011: sempre maggiore l'impatto socio-economico delle patologie respiratorie ostruttive. Evidenziata la necessità di campagne di prevenzione, diagnosi precoce e di una migliore gestione della malattia. 2011; [www.moving.bpcO.it](http://www.moving.bpcO.it)
- 5) Stefanati A, De Paris P, Nardini M, Casimirri E, Stendardo M, Boschetto P. Incidenza degli infortuni a rischio biologico del personale medico in formazione specialistica nell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ferrara: possibili strumenti preventivi. *Med Lav.* (Submitte)
- 6) Ziegler-Heitbrock L, Frankenberger M, Heimbeck I, Burggraf D, Wjst M, Häussinger K, Brightling C, Gupta S, Parr D, Subramanian D, Singh D, Kolsum U, Boschetto P, Potena A, Gorecka D, Nowinski A, Barta I, Döme B, Strausz J, Greulich T, Vogelmeier C, Bals R, Hohlfeld JM, Welte T, Venge P, Gut I, Boland A, Olaso R, Hager J, Hiemstra P, Rabe KF, Unmüßig M, Müller-Quernheim J, Prasse A. The EvA study: aims and strategy *Eur Respir J.* 2012;40(4):823-9.
- 7) Boschetto P, Stendardo M. La nutrizione del paziente con BPCO: L'importanza della corretta nutrizione nei pazienti con BPCO e i rischi dovuti alla malnutrizione. 2012; [www.moving.bpcO.it](http://www.moving.bpcO.it)
- 8) Boschetto P, Fucili A, Stendardo M, Malagù M, Parrinello G, Casimirri E, Potena A, Ballerin L, Fabbri LM, Ferrari R, Ceconi C. Occurrence and impact of chronic obstructive pulmonary disease in elderly patients with stable heart failure. *Respirology* 2013;18:125-30.
- 9) Boschetto P, Campo I, Stendardo M, Casimirri E, Tinelli C, Gorrini M, Ceconi C, Fucili A, Potena A, Papi A, Ballerin L, Fabbri LM, Luisetti M. Plasma sRAGE and N-(carboxymethyl) lysine in patients with CHF and/or COPD. *Eur J Clin Invest.* 2013;43(6):562-9.
- 10) Beghé B, Verduri A, Bottazzi B, Stendardo M, Fucili A, Balduzzi S, Leuzzi C, Papi A, Mantovani A, Fabbri LM, Ceconi C, Boschetto P. Echocardiography, spirometry, and systemic acute-phase inflammatory proteins in smokers with COPD or CHF: an observational study. *PLoS One.* 2013;8(11)

##### ABSTRACTS

- 1) Boschetto P, Fucili A, Potena A, Ballerin L, Stendardo M, Simoni M, Parrinello G, Fabbri LM, Ceconi C, Ferrari R. The prospective impact of chronic obstructive pulmonary disease on short-term prognosis of patients with chronic heart failure. *Eur. Resp. J* 2010; 457: E5204
- 2) Subramanian, S. Gupta, L. Ziegler-Heitbrock, C. Brightling, D. Parr, Coventry, Leicester, Manchester, United Kingdom, Munich, Hannover, Freiburg, Marburg, Germany, Budapest, Hungary, Warsaw, Poland, Ferrara, Italy. The Influence Of Scanner Manufacturer On Lung Densitometry In A Multicentre Study/D. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; p.A5204
- 3) Subramanian, S. Gupta, L. Ziegler-Heitbrock, C.E. Brightling, D. Parr, Coventry, Leicester, Manchester, United Kingdom, Munich, Hannover, Marburg, Freiburg, Germany, Warsaw, Poland, Budapest, Hungary, Ferrara, Italy. Assessing The Relationship Between Standardized CT Lung Densitometry And Airways Disease/D. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; p.A5222
- 4) Boschetto P., Bottazzi B., Fucili A., Potena A., Ballerin L., Stendardo M., Piva S., Verduri A., Begh  B., Mantovani A., Fabbri L.M., Ferrari R., Ceconi C. Interleukin-6, but not pentraxin 3, predicts adverse clinical outcomes on short-term prognosis of patients with incipient heart failure. *Eur. Resp. J* 2011; 574: P574
- 5) A.Vaccari, A.Concordia, E.Casimirri, M.Stendardo, A.Stefanati, A.Medici, P.Boschetto. Prevalenza delle malattie non-professionali nei lavoratori a tempo determinato dell'Universit  degli Studi di Ferrara. *G Ital Med Lav Ergon* 2011; 33: 410-411.
- 6) A.Concordia, A.Vaccari, E.Casimirri, M.Stendardo, R.Ferroni, G.Tonetto, M.Nardini, P.Boschetto. Riduzione degli infortuni relativi alla movimentazione carichi/pazienti in un'Azienda Sanitaria Locale: analisi degli interventi preventivi prima e dopo.. *G Ital Med Lav Ergon* 2011; 33: 269-270.
- 7) P. Boschetto, I. Campo, M. Stendardo, E. Casimirri, C. Tinelli, C. Ceconi, A. Fucili, A. Potena, L. Ballerin, L. M. Fabbri, M. Luisetti. Advanced glycation end products and its soluble receptor (sRAGE) are increased in chronic heart failure but not in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Resp J* 2012; 181: P213

Autorizzo il trattamento dei dati personali con le modalit  e per le finalit  previste dall'art 13 D.lgs.196/2003