

## PROGETTO VINCITORE 1

### **Coordinatore scientifico:**

**Elda Favari**, Ricercatrice Universitaria, Università degli Studi di Parma; Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Biologiche e Chimiche Applicate [elda.favari@unipr.it](mailto:elda.favari@unipr.it)

### **Titolo del progetto:**

***Lupus Eritematoso Sistemico ed aterosclerosi accelerata: lipoproteine disfunzionali e proteina C reattiva, al crocevia tra infiammazione e dislipidemia, come possibili markers di rischio, mediatori di danno e targets terapeutici***

### **Elenco delle Unità di Ricerca coinvolte :**

1. Università degli Studi di Parma; Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Biologiche e Chimiche Applicate, Coordinatore scientifico Prof.ssa Elda Favari.
2. UOC Reumatologia, Istituto Gaetano Pini, Milano, Coordinatore scientifico Dott.ssa Francesca Anna Ingegnoli.
3. Istituto Auxologico Italiano-IRCCS, Laboratorio Sperimentale di Ricerche Immunologiche, Coordinatore scientifico Dott.ssa Elena Raschi.
4. Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Medicina Interna, Coordinatore scientifico Dott.ssa Maria Orietta Borghi.

### **Riassunto**

1. **Background:** L'aterosclerosi accelerata costituisce attualmente la principale causa di morbilità e mortalità nei pazienti affetti da LES. Tra i principali fattori dislipidemia e infiammazione: la composizione qualitativa di HDL ed LDL, oltre ai livelli circolanti, è importante nel determinare il loro potenziale anti- o pro-aterogeno; tra i meccanismi con i quali la flogosi condiziona la progressione della placca sembra esservi la monomerizzazione della PCR circolante che avverrebbe a livello intimale, principale sito di generazione delle HDL.
2. **Obiettivi:** i) verificare l'ipotesi che le lipoproteine circolanti in soggetti con LES veicolino proteine infiammatorie e presentino caratteristiche funzionali alterate, che contribuiscano a spiegare l'aterosclerosi accelerata e offrano nuovi spunti terapeutici; ii) analizzare la composizione delle lipoproteine circolanti in soggetti con LES e in controlli (soggetti sani e affetti da Artrite Reumatoide), soprattutto in relazione al contenuto di PCR pentamerica e monomerica; iii) studiare la funzionalità delle lipoproteine in termini di internalizzazione, regolazione dell'influsso/efflusso di colesterolo cellulare (tappa cruciale per l'accumulo delle cellule schiumose nella placca) e attivazione funzionale in macrofagi e cellule endoteliali.
3. **Metodi:** separazione delle frazioni lipoproteiche per centrifugazione differenziale di siero di pazienti e controlli; western blotting per l'analisi del contenuto proteico, anche con specifici anticorpi anti-PCR; utilizzo di colesterolo triziato per la misurazione del contenuto totale e dell'efflusso del colesterolo da macrofagi e da cellule endoteliali; microscopia confocale per lo studio dell'internalizzazione delle lipoproteine nelle stesse cellule viventi e per esperimenti di migrazione macrofagica;

ELISA per il dosaggio delle citochine infiammatorie secrete e dell'attivazione di Rac1 (via di attivazione intracellulare cruciale per la migrazione macrofagica).

4. *Risultati attesi*: conoscere aspetti della composizione e funzionalità delle lipoproteine HDL ed LDL in pazienti con LES, che potrebbero costituire parametri aggiuntivi di valutazione del rischio cardiovascolare e punti leva per nuove terapie.

#### **Breve descrizione del contributo specifico di ogni Unità di Ricerca**

U.O.1: Separazione delle lipoproteine sieriche di pazienti e controlli. Western Blotting per la ricerca di PCRm e PCRp nelle frazioni lipoproteiche. Colture cellulari di macrofagi e HUVEC. Stimolazione di macrofagi e HUVEC con le lipoproteine sieriche frazionate, per il dosaggio dei secreti pro-infiammatori (U.O. 4) e per la valutazione della migrazione macrofagica. Misurazione dell'omeostasi del colesterolo cellulare mediante dosaggio del colesterolo totale delle cellule via ABCA1 o attraverso diffusione passiva. Analisi dell'internalizzazione delle frazioni lipoproteiche dai soggetti in studio da parte di macrofagi e cellule endoteliale.

U.O. 2: Reclutamento di 20 pazienti con LES e di 20 con Artrite Reumatoide in fase attiva di malattia, secondo gli indici internazionali SLEDAI e DAS28, rispettivamente per LES e Artrite Reumatoide. Prelievo di sangue venoso periferico e separazione della frazione serica. Invio dei campioni biologici e dei dati clinici e di laboratorio, debitamente codificati e resi anonimi, all'U.O. 3.

U.O. 3: Reclutamento di 20 donatori sani omogenei per età e sesso con i gruppi dei pazienti e prelievo di sangue venoso periferico. Separazione, distribuzione in aliquote e stoccaggio di tutti i sieri, sia dei pazienti (U.O. 2) che dei soggetti sani, e successivo invio alle U.O. 1 e 4 per gli studi previsti dal progetto. Creazione e gestione di un database con i dati clinici e di laboratorio relativi a tutti i soggetti inclusi nello studio.

U.O. 4: Dosaggio di autoanticorpi anti-nucleo (ANA) e anti-beta2glicoproteinal (anti-β<sub>2</sub>GPI) nel siero di pazienti (U.O. 2) e controlli sani (U.O. 3). Western Blotting per la ricerca di PCRm e PCRp nelle frazioni lipoproteiche sieriche di pazienti e controlli (in collaborazione con l'U.O. 1). Dosaggio di citochine e chemochine pro-infiammatorie nei surnatanti di coltura da macrofagi e HUVEC stimolati con le lipoproteine sieriche (U.O. 1) mediante ELISA.

#### **Costo orientativo del Progetto**

**25.000 euro**