

INDICE

INTRODUZIONE	pag. 2
EPIDEMIOLOGIA DELLE MALATTIE CARDIOVASCOLARI	pag. 4
FATTORI DI RISCHIO DI MALATTIE CARDIOVASCOLARI.....	pag. 6
- Fattori di Rischio tradizionali non modificabili	pag. 7
- Fattori di Rischio tradizionali modificabili.....	pag. 15
- Fattori di Rischio Emergenti.....	pag. 23
ATEROSCLEROSI: MALATTIA INFIAMMATORIA	pag. 28
- Patogenesi dell'aterosclerosi.....	pag. 28
- Complicanze della lesione aterosclerotica.....	pag. 31
- Stabilità e instabilità della lesione aterosclerotica.....	pag. 32
- Classificazione della lesione aterosclerotica.....	pag. 33
QUADRI CLINICI DELL'ATEROSCLEROSI CORONARICA.....	pag. 35
- ANGINA STABILE.....	pag. 36
- SINDROMI CORONARICHE ACUTE.....	pag. 36
RUOLO DELLA LIPOPROTEINA(a) E DEI POLIMORFISMI DEL GENE LPA NELLA MALATTIA CORONARICA.....	pag. 40
POLIMORFISMI DEL CROMOSOMA 9p21 E MALATTIA CORONARICA LO STUDIO.....	pag. 49
- Scopo dello studio.....	pag. 50
- Pazienti, materiali e metodi.....	pag. 51
- Studio dei polimorfismi genetici.....	pag. 52
- Analisi statistiche.....	pag. 53
- Risultati.....	pag. 54
- Discussione.....	pag. 57
- Conclusioni.....	pag. 60
- Tabelle.....	pag. 61
- Bibliografia.....	pag. 68

Introduzione

Le malattie cardiovascolari, e in particolare la cardiopatia ischemica (Coronary Heart Disease: CHD), costituiscono la prima causa di mortalità e morbilità nel mondo ed in particolare nei paesi a medio e alto reddito (dati WHO), con notevoli ripercussioni nella spesa sanitaria.

Il substrato anatomopatologico ed etiopatogenetico della cardiopatia ischemica è rappresentato in massima parte dall'aterosclerosi coronarica.

Per quanto si sia molto dibattuto sulla sua natura, oggi si può senza dubbio affermare che l'aterosclerosi è una malattia infiammatoria che interessa le grandi e medie arterie elastiche e muscolari, iniziando a livello dell'intima e coinvolgendo successivamente anche la tonaca media¹. Le lesioni aterosclerotiche, rappresentate dall'ateroma nelle varie fasi evolutive, rappresentano infatti una serie di risposte cellulari e molecolari altamente specifiche che nell'insieme possono essere descritte come una malattia infiammatoria. Ognuna delle lesioni caratteristiche dell'aterosclerosi rappresenta uno stadio differente di un processo infiammatorio cronico dell'arteria; se questo non è controllato e procede in modo eccessivo, darà luogo a lesioni avanzate e complicate, responsabile a livello coronarico dei diversi quadri clinici della cardiopatia ischemica.

La cardiopatia ischemica rappresenta un gruppo di condizioni cliniche che comprendono:

- la cardiopatia ischemica silente;
- l'angina stabile;
- le sindromi coronariche acute (SCA).

Queste ultime comprendono:

- l'angina instabile (UA);
- l'infarto miocardico acuto senza sopraslivellamento del tratto ST (NSTEMI);
- l'infarto miocardico acuto con sopraslivellamento del tratto ST (STEMI).

La sua eziopatogenesi, che corrisponde a quella dell'aterosclerosi, è multifattoriale in quanto esistono una serie di condizioni che, sulla base dei dati forniti dagli studi epidemiologici, sono risultati essere associati più o meno strettamente ad essa

consentendo di selezionare i soggetti che presentano una maggiore probabilità di sviluppare malattia. Tali condizioni prendono il nome di Fattori di Rischio.

Accanto ai tradizionali Fattori di Rischio - modificabili (dislipidemia, diabete, ipertensione arteriosa, tabagismo) e non modificabili (età, sesso, familiarità e suscettibilità genetica) - che hanno delle evidenze solide e ben definite, ve ne sono altri per i l'evidenza scientifica ancora non è ancora chiara e definitiva, ma il cui riconoscimento apre la strada a nuove strategie terapeutiche che possono contribuire alla riduzione del "Rischio Residuo"². Tra questi citiamo la Lipoproteina(a) [Lp(a)], la Sindrome Metabolica (SM), la microalbuminuria, l'iperomocisteinemia.

Oggi abbiamo coscienza che lo sviluppo del processo aterosclerotico e la sua espressione clinica possono essere condizionati dall'interazione tra Fattori di Rischio acquisiti e Fattori genetici e che esistono tutta una serie di geni che possono rappresentare elementi causali oppure essere in grado di aumentare la suscettibilità all'aterosclerosi^{3, 4, 5}.

Attualmente gli studi sulla componente genetica dell'aterosclerosi sono in parte indirizzati all'individuazione di polimorfismi genetici che influenzano alcune funzioni biologiche, quali il metabolismo lipidico, la coagulazione, la fibrinolisi, la funzione vascolare, il sistema della flogosi e la funzione piastrinica⁴.

Questi studi, non soltanto hanno la funzione di chiarire il ruolo svolto dal Fattore genetico e la sua importanza rispetto ai Fattori di Rischio tradizionali, ma potrebbero essere utili anche nella stratificazione del Rischio coronarico e quindi negli interventi di prevenzione e di programmazione di una terapia mirata ed individualizzata. Inoltre, la conoscenza dei meccanismi genetico-molecolari può aprire la strada allo sviluppo di nuove terapie farmacologiche che potrebbero ridurre il Rischio Cardiovascolare Residuo.

E' su questa via che si colloca questo studio, condotto su un gruppo di pazienti con SCA confrontato con un gruppo di pazienti con angina stabile, nei quali è stata studiata l'influenza, in relazione alla diversa gravità del quadro clinico, dei principali Fattori di Rischio cardiovascolare tradizionali e dei polimorfismi del gene LPA che codifica per la Lp(a), annoverato tra i Fattori di Rischio emergenti, e del cromosoma 9p21, che sono stati associati in vari studi allo sviluppo e alla progressione della malattia aterosclerotica coronarica^{5, 6, 7, 8}.

Epidemiologia delle malattie cardiovascolari

Le malattie cardiovascolari nella loro globalità, e la cardiopatia ischemica in particolare, rappresentano la principale causa di morte nella maggior parte dei paesi industrializzati (Figura 1).

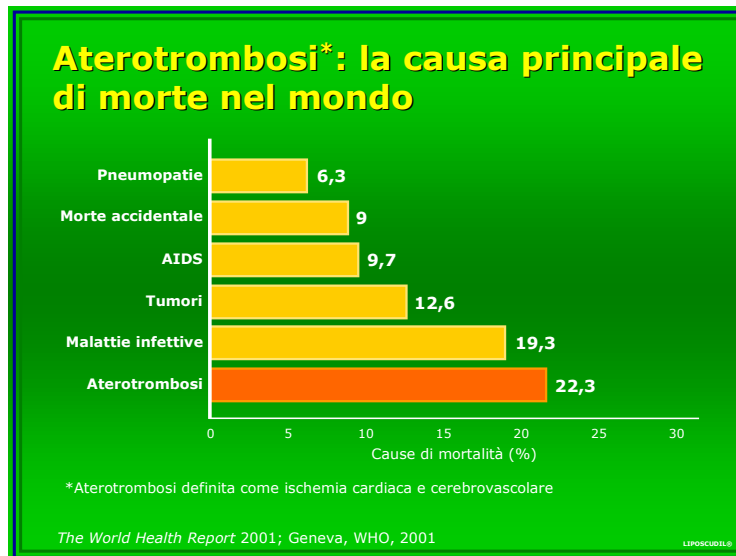


Figura 1. Prevalenza per le sei principali cause di mortalità nel mondo. Dati WHO.

Inoltre le complicanze cliniche della CHD sono uno dei principali motivi di incremento della spesa sanitaria e una delle maggiori cause di invalidità delle popolazioni occidentali. Rappresentano quindi un problema sanitario di rilevanza enorme.

Di ciò si è preso progressivamente consapevolezza per cui in molti paesi sono state adottate efficaci campagne di prevenzione, sia individuali che di popolazione, che hanno modificato il trend temporale di incidenza di tali patologie. Così si osserva che il numero di eventi coronarici è in chiara diminuzione nei paesi dell'America Settentrionale, in Australia e nell'Europa Occidentale e Settentrionale, mentre sta aumentando in maniera allarmante in Europa Centrale e Orientale ed in maniera anche nell'ex Unione Sovietica. Tali dati sono abbastanza sovrapponibili sia negli uomini che nelle donne⁹. Il diffondersi dello stile di vita occidentale anche in zone classicamente a bassa incidenza di CHD come l'Asia e l'Africa comporterà un aumento di patologie come l'obesità, il diabete e l'ipertensione arteriosa e si assocerà nel futuro a un netto aumento dell'incidenza di CHD. L'Italia ed i paesi del bacino mediterraneo sono considerati in un certo modo protetti dalle malattie cardiovascolari. Questa considerazione deriva dai classici studi osservazionali, ed in

particolare dal Seven Countries Study, e si basa su motivazioni di ordine ambientale, ma anche genetico¹⁰.

Nelle popolazioni dell'Europa del Sud ci sono sicuramente delle caratteristiche genetiche peculiari, ma soprattutto l'alimentazione tipica di queste zone (la cosiddetta dieta mediterranea) ha delle potenzialità protettive particolari, legate al basso consumo di grassi saturi e colesterolo ed all'elevato uso di cibi di origine vegetale e pesce che comportano un sufficiente apporto, tra l'altro di sostanze antiossidanti. Le caratteristiche tipiche della dieta mediterranea in realtà si stanno perdendo, almeno nei grandi centri metropolitani. Pur partendo da queste considerazioni l'analisi epidemiologica della situazione ci mostra che anche nel nostro paese le malattie cardiovascolari rappresentano la prima causa di morte, seguita dai tumori e dalle malattie respiratorie (Figura 2).

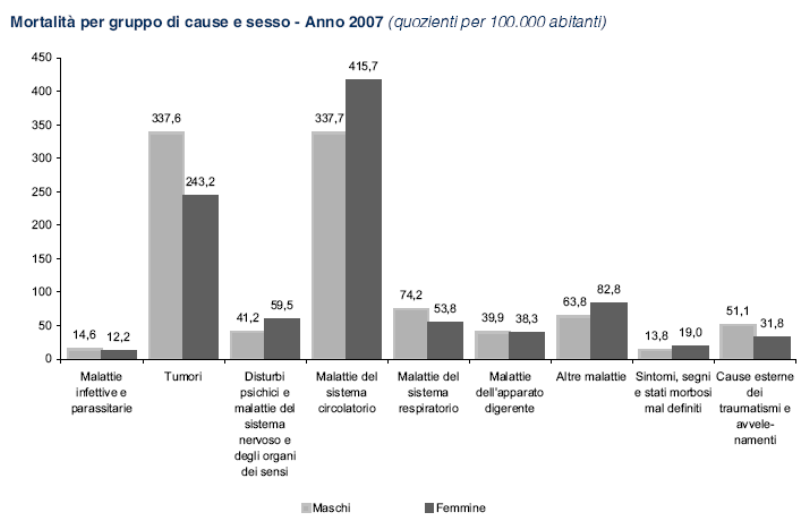


Figura 2. Mortalità per gruppo di cause e sesso in Italia nel 2007. Dati ISTAT.

Tuttavia esaminando i dati ISTAT degli ultimi decenni si osserva che, mentre c'è una stabilità di incidenza per le varie cause di morte, si è avuta una chiara riduzione della mortalità per malattie cardiovascolari ed un netto incremento dei decessi per tumore.

Questa analisi non è uniforme in tutto il territorio nazionale, poiché nel passato le popolazioni del Nord Italia avevano una mortalità per cause cardiovascolari superiore a quella delle popolazioni meridionali ed a quelle delle isole. Ora i dati dimostrano che vi è stata una maggiore riduzione della malattia cardiovascolare nelle popolazioni settentrionali, con una forte riduzione delle differenze geografiche. Questo aspetto è ancora più evidente quando si prende in considerazione soltanto la mortalità per infarto del miocardio.

Fattori di Rischio di malattie cardiovascolari

L'aterosclerosi – e le complicanze cliniche ad esse legate – è una patologia a genesi multi fattoriale, in quanto esistono una serie di condizioni che, sulla base dei dati forniti dagli studi epidemiologici, sono risultati essere associati più o meno strettamente ad essa consentendo di selezionare i soggetti che presentano una maggiore probabilità di sviluppare malattia. Tali condizioni prendono il nome di Fattori di Rischio.

Tra i fattori di Rischio per l'aterosclerosi ve ne sono alcuni che hanno delle evidenze solide e ben definite e che hanno dimostrato al di là di ogni dubbio di avere valore predittivo. Questi si possono definire fattori di Rischio classici o tradizionali, alcuni dei quali non sono modificabili (età, sesso, etnia, storia familiare di CHD precoce e geni di suscettibilità), mentre altri sono modificabili attraverso cambiamenti dello stile di vita e terapie farmacologiche (ipertensione arteriosa, ipercolesterolemia, bassi livelli di HDL-colesterolo, diabete mellito, fumo di sigarette, sovrappeso e obesità, ipertrigliceridemia, fattori psicosociali e comportamentali)¹¹.

Accanto a questi ve ne sono altri, definiti fattori di Rischio emergenti, che sono stati accostati in vario modo al Rischio cardiovascolare, ma per i quali l'evidenza scientifica ancora non è ancora chiara e definitiva; in alcuni casi sono supportati da meccanismi di plausibilità biologica più che da un'associazione statistica derivante da studi epidemiologici.

Tabella 1: I Fattori di Rischio di malattie cardiovascolari

FATTORI DI RISCHIO TRADIZIONALI	FATTORI DI RISCHIO EMERGENTI
<p><u>NON MODIFICABILI:</u></p> <p><i>Età</i> <i>Sesso</i> <i>Familiarità e predisposizione genetica</i> <i>Caratteristiche etniche</i></p> <p><u>MODIFICABILI:</u></p> <p><i>Ipertensione arteriosa</i> <i>Ipercolesterolemia</i> <i>Bassi livelli di HDL-colesterolo</i> <i>Diabete mellito</i> <i>Fumo di sigarette</i> <i>Sovrappeso-Obesità</i> <i>Inattività fisica</i> <i>Ipertrigliceridemia</i> <i>Fattori psicosociali e comportamentali</i></p>	<p><i>Sindrome Metabolica</i> <i>Lp(a)</i> <i>LDL piccole e dense</i> <i>Remnants e Lipoproteine a densità intermedia</i> <i>LDL ossidate</i> <i>Fattori infiammatori</i> <i>Iperomocisteinemia</i> <i>Microalbuminuria</i> <i>Fattori protrombotici e coagulativi</i> <i>Fattori infettivi</i> <i>Alcool</i></p>

Due grandi studi recenti, in particolare, danno la misura dell'importanza delle "classiche" strategie di prevenzione. Nello studio INTERHEART (uno studio caso-controllo relativo a circa 15 000 pazienti e ad altrettanti soggetti di controllo in 52 differenti paesi), più del 90% del "rischio di popolazione" di sviluppare un infarto miocardico acuto è spiegato da nove "tradizionali" fattori di rischio: ipertensione, fumo, diabete, alterato profilo lipidico, obesità addominale, fattori psico-sociali, consumo di frutta, vegetali ed alcool, livello di attività fisica¹². Un'analisi epidemiologica statunitense mostra come il calo di mortalità coronarica verificatosi negli Stati Uniti fra il 1980 e il 2000 sia attribuibile per circa il 50% alla riduzione dei tradizionali fattori di rischio². Al meglio dell'implementazione degli interventi preventivi sui Fattori di Rischio tradizionale, esiste un Rischio cardiovascolare Residuo, parte del quale potrebbe essere legato ai Fattori di Rischio emergenti.

A) FATTORI DI RISCHIO TRADIZIONALI NON MODIFICABILI

- **Età**

E' noto che, con l'aumentare dell'età si ha un incremento progressivo del Rischio di cardiopatia ischemica negli uomini; nelle donne un comportamento simile si ha invece dopo i 50 anni di età, epoca in cui, con la menopausa, la caratteristica protezione ormonale del sesso femminile viene meno. In base alle stime Framingham Heart Study, l'incidenza media a 10 anni di CHD, minore dell'1% nelle donne tra 30 e 34 anni di età, arriva a circa al 24% negli uomini tra 70 e 74 anni di età¹³. Ciò è espressione dell'esposizione cumulativa ai fattori di Rischio, l'incidenza di molti dei quali - ipertensione, iperlipemia, diabete - aumenta con l'età. Le lesioni aterosclerotiche delle arterie coronarie possono comunque avere inizio molto precoce, addirittura fin dai primi anni di vita, ma la loro evoluzione, rottura o fessurazione è accelerata dalla presenza di altri Fattori di Rischio¹⁴.

- **Sesso**

In generale l'incidenza delle coronaropatie è più elevata negli uomini rispetto alle donne in età fertile, in quanto sembra che gli estrogeni svolgano un ruolo protettivo.

In linea di massima le malattie cardiovascolari nelle donne si manifestano con un ritardo di circa 10 anni rispetto agli uomini.

Dopo la menopausa tale differenza di incidenza si annulla, poiché la carenza di estrogeni nelle donne comporta variazioni sfavorevoli dell'assetto lipidico, con aumento del colesterolo-LDL e riduzione di quello HDL, e modificazioni dell'emostasi in senso procoagulante, nonché disfunzione endoteliale.

Tuttavia il vantaggio delle donne in età fertile negli ultimi decenni si è progressivamente ridotto in forza dell'aumentata abitudine al tabagismo e delle modifiche dello stile di vita nel sesso femminile.

- **Familiarità e predisposizione genetica**

Ci sono pochi dubbi sul fatto che una storia familiare positiva per CHD precoce conferisca un maggior Rischio a qualsiasi livello degli altri Fattori di Rischio noti.

La familiarità per malattie cardiovascolari, definita come il verificarsi di un evento coronarico entro 55 anni negli uomini o entro 65 anni nelle donne in un parente di 1° grado, è considerata un importante Fattore di Rischio indipendente, con una prevalenza tra questi pazienti che varia dal 42 al 69%^{15,16}.

A tal proposito in studi epidemiologici condotti nei gemelli si è osservato che il Rischio relativo è pari a 8 per il sesso maschile, se il gemello è deceduto entro 55 anni; mentre per il sesso femminile il Rischio relativo addirittura cresce fino a 15 se il gemello è deceduto entro 65 anni¹⁶. Sembra infatti che la familiarità pesi di più nel sesso femminile¹⁷.

Il Rischio relativo di SCA varia in rapporto al numero di parenti coinvolti, risultando pari a 2 in presenza di un solo parente coinvolto e aumenta a 3 in caso di 2 o più parenti di primo grado coinvolti¹⁸.

L'elemento "familiarità", oltre ad essere Fattore di Rischio indipendente, ha un effetto cumulativo, poiché, associato al tabagismo e all'ipercolesterolemia, determina un aumento del Rischio relativo fino a 14^{15, 16}.

Per quanto ancora oggi una corretta anamnesi familiare rappresenta il modo migliore per una valutazione del "Rischio genetico" di malattie cardiovascolari, un problema che va acquisendo sempre maggiore rilevanza riguarda il problema della diagnosi genetica. Oggi abbiamo coscienza che esistono tutta una serie di geni che possono rappresentare elementi causali oppure essere in grado di aumentare la suscettibilità all'aterosclerosi come conseguenza di interazione tra Fattori genetici ed ambientali. Tali Fattori genetici sono costituiti da mutazioni e da semplici polimorfismi, cioè alterazioni che generano singole anomalie della sequenza del DNA senza modificazioni del gene, di cui però possono o meno modificare la funzione. Tali Fattori sono stati solo parzialmente identificati e sono generalmente relativamente frequenti. Ciò implica che un individuo spesso porta più markers che predispongono al Rischio cardiovascolare. Sono poi le caratteristiche di vita e comportamento e/o i fattori ambientali, e quindi l'interazione con gli altri Fattori di Rischio, che modulano il Rischio globale.

Il contributo di anomalie genetiche è ben documentato nelle patologie monogeniche¹⁹. Molti Fattori di Rischio inoltre sottostanno ad influenze poligeniche³. L'influenza dei fattori genetici spiegherebbe inoltre il fatto che, a parità di Fattori di Rischio alcuni soggetti sviluppano l'evento clinico e altri no.

E' stato dimostrato che la genetica interviene anche sulla progressione della malattia aterosclerotica, rendendo estremamente variabile, da un individuo all'altro, la velocità con cui la lesione aterosclerotica evolve a partire dalla semplice stria lipidica per finire alla placca conclamata.

Molteplici sono i tratti genetici che potrebbero influenzare la patogenesi della cardiopatia ischemica e la suscettibilità all'aterosclerosi o all'infarto miocardico presente in alcuni nuclei familiari⁵.

L'analisi e lo studio dell'infarto miocardico e della malattia aterosclerotica risultano molto complessi da affrontare poiché dal punto di vista genetico è più semplice indagare sulle malattie monogeniche nelle quali ad un genotipo corrisponde un solo fenotipo.

L'indagine sull'aterosclerosi infatti, risulta più complessa dal momento che le alterazioni sono poligeniche e possono dar luogo a diversi fenotipi di cardiopatia ischemica, dalla ischemia silente, all'angina pectoris, all'infarto miocardico.

E' possibile inoltre che le complicità della placca ateromasica possano anch'esse sottostare al controllo genetico: un soggetto che ha una forte predisposizione genetica alla

trombosi o alla vasocostrizione, diventa un soggetto in cui i fattori scatenanti aumentano notevolmente l'incidenza di malattia aterosclerotica complicata.

Attualmente gli studi sulla componente genetica dell'aterosclerosi sono in parte indirizzati all'individuazione di polimorfismi genetici che influenzano alcune funzioni biologiche, quali il metabolismo lipidico, la coagulazione, la fibrinolisi, la funzione vascolare, il sistema della flogosi e la funzione piastrinica⁴.

Questi studi, non soltanto hanno la funzione di chiarire il ruolo svolto dal Fattore genetico e la sua importanza rispetto ai Fattori di Rischio tradizionali, ma potrebbero essere utili anche nella stratificazione del Rischio coronarico e quindi negli interventi di prevenzione e di programmazione di una terapia mirata ed individualizzata.

Analizziamo i polimorfismi delle varie funzioni biologiche prese in esame:

- Metabolismo lipidico:

Particolare interesse è stato rivolto alla apolipoproteina B (Apo B), alla apolipoproteina E (Apo E), all'enzima lipoprotein-lipasi (LPL).

Vant'Hoff et Al. hanno eseguito uno studio sulle varianti del promoter del gene per l'Apo B in grado di influenzare l'attività di trascrizione del gene stesso individuando un polimorfismo dato dalla sostituzione di una C (citosina) con una G (guanina) in posizione 516, in grado di aumentare del 12% il tasso di lipoproteine contenenti l'Apo B, tra cui le LDL²⁰.

Brisic et Al. hanno valutato il ruolo prognostico dell'Apo E, individuando come la variante $\epsilon 4$ sia associata ad un Rischio maggiore di sviluppare un evento coronarico (OR=6.8) indipendentemente dai livelli in circolo di HDL-colesterolo e di LDL-colesterolo²¹. Tuttavia il modo in cui il polimorfismo $\epsilon 4$ aumenti la suscettibilità per IMA e CHD non è del tutto chiaro⁵.

Il gene che codifica per la LPL è mappato sul cromosoma 8; tra i polimorfismi del frammento di restrizione di tale gene sono stati studiati l'RFLPPvII, l'RFLPHindIII e SERINA 477stop. Il ruolo del polimorfismo HindIII è stato indagato e valutato da Gambino et Al²². In una popolazione di 87 giovani, con età ≤ 45 anni, con pregresso IMA, è stata valutata la frequenza di vari alleli di tale polimorfismo ed è stata riscontrata una maggiore associazione tra il polimorfismo HindIII (+/+) sviluppano con maggiore probabilità malattia di 2 o 3 vasi. Questa associazione risulta essere indipendente dal Fattore "familiarità", dall'ipertensione, nonché dal tabagismo.

Tra i diversi polimorfismi genetici, lo studio di Hans et Al. ha approfondito quelli riguardanti il gene dell'Apo(a); tra tutti il più interessante è risultato essere l'rs10455872 in quanto potenziale strumento per una migliore comprensione del ruolo della Lp(a) nella genesi e progressione della patologia coronaria²³.

E' stato messo in evidenza, da parte di uno studio genetico, che un cluster di geni allocati sul cromosoma 6q 26-27 sono fortemente associati a patologia coronarica; tra questi il gene LPA il quale codifica per l'apoproteina (a) presente nella LP(a)⁸.

La determinazione del genotipo dell'Apo(a) e della Lp(a) potrebbe aiutare i clinici attraverso informazioni supplementari per la valutazione del Rischio aterotrombotico²⁴.

- Coagulazione e fibrinolisi:

Gli studi più recenti si sono occupati della protrombina.

Le indagini di Roseendaale et Al. incentrate sulla transizione G (guanina) -> A (adenina) nella posizione 20210, svolte sul gene che codifica la protrombina, riscontrano un OR per IMA pari a 4, un Rischio particolarmente elevato che cresce fino ad un valore di 34 in presenza di altri fattori di Rischio metabolici per raggiungere quota 43 nel caso di concomitante tabagismo²⁵.

Un deficit di attività fibrinolitica, risultato dell'incremento dei livelli in circolo dell'inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1), è stato associato ad IMA e considerato un Fattore di Rischio di reinfarto soprattutto nelle donne che fanno uso di contraccettivo orale, responsabile di uno stato di ipercoagulabilità²⁶.

- Funzione vascolare:

Gli studi condotti si sono occupati principalmente del sistema Renina-Angiotensina (SRA) e del metabolismo dell'omocisteina.

Cambien et Al.²⁷, insieme ad uno studio giapponese²⁸, hanno preso in considerazione le varianti alleliche del gene che codifica per l'ACE (angiotensin converting enzyme) ed in particolare le varianti I e D. e' stato dimostrato che l'allele D, associato ad elevati livelli ematici di ACE, sia più frequente nei pazienti con IMA (42%) rispetto ai controlli (16%).

I livelli di omocisteina in circolo sono strettamente correlati e influenzati dai folati, rispetto ai quali sono inversamente proporzionali.

Mager et Al. hanno condotto studi sulla variante allelica 677T del gene che codifica per l'enzima MTHFR (metil-tetra-idro-folato reduttasi) responsabile di una ridotta attività enzimatica²⁹. I loro risultati dimostrano che nei soggetti affetti da iperomocisteinemia e portatori del genotipo T/T, le due condizioni, qualora associate, hanno effetti più rilevanti

sulla patogenesi delle coronaropatie, e che in questi individui la presenza di un aumento marcato dell'omocisteina nel plasma, a digiuno, rappresenta un Fattore di Rischio per la cardiopatia ischemica.

Relativamente ai folati il Rischio si riduce al crescere della loro concentrazione in circolo.

- **Sistema dell'infiammazione:**

Negli ultimi anni sempre più interesse è stato rivolto al probabile ruolo etiologico della flogosi nella CHD.

In passato si riteneva che, in presenza di aterosclerosi il processo infiammatorio fosse secondario al danno tissutale; oggi invece si ritiene che questo abbia un ruolo primario nella genesi della lesione aterosclerotica.

Gli studi condotti in vitro sono stati successivamente confermati dal riscontro clinico dove i markers di flogosi risultano essere incrementati sia nei pazienti con angina stabile, che in quelli con angina instabile³⁰ e IMA³¹. Sebbene si tratti di studi e dati preliminari, sembra che anche le alterazioni genetiche del sistema infiammatorio possano modificare il Rischio di cardiopatia ischemica. In questa direzione sono stati condotti interessanti studi sulla E-selectina e sulla PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecole). Il polimorfismo della E-selectina, è stato oggetto di indagine e valutazione da parte di Wenzel ed Altri, i quali studiando la Traslocazione A516C (Ser 128 Arg), hanno concluso che questa modificasse l'interazione della molecola con il proprio ligando. Nella ricerca iniziale è stata riscontrata una più alta prevalenza dell'allele Arg128 tra 97 pazienti di età inferiore a 50 anni con significativa aterosclerosi coronarica o periferica rispetto ai controlli. In una seconda ricerca sono stati valutati alcuni polimorfismi che codificano per le selectine E, P, L nonché per le molecole ICAM-1 VCAM-1 in 99 pazienti e in 100 volontari sani appaiati ai primi per età. Tre polimorfismi della E-selectina (arg 128, 98T Phe 554) sono stati associati ad aterosclerosi. Il gene che codifica per PECAM-1 mappa sul cromosoma 17. Due polimorfismi a suo carico Leu 125 Val e Ser 563 Asp sono stati studiati e valutati da Wenzel et Al. su 98 pazienti con un range d'età compreso tra 25 e 50 anni, con stenosi coronarica superiore al 50% ed in controlli sani. Entrambe le varianti relative ai polimorfismi risultavano più comuni nei 98 pazienti rispetto ai controlli, così come lo era la combinazione dell'omozigosi Val 125/ Asp 563³². Si può ipotizzare che i due alleli incrementino il Rischio aterosclerotico, specialmente nei pazienti con un profilo a basso Rischio.

Altro gene che sembrerebbe essere associato allo sviluppo di IMA è quello codificante per la trombospondina (TSP): dei vari polimorfismi, l'allele TSP4 sembrerebbe conferire un Rischio doppio di IMA. La mutazione riguardante la TSP, agirebbe riducendo la proliferazione endoteliale o rendendo l'endotelio incapace di reagire ad un danno lesionale o rafforzando l'attività dei neutrofili⁵.

Ozaki et Al.³³ hanno analizzato più di 65000 polimorfismi in 13738 geni soffermandosi su 2 appartenenti all'esone 3 del gene che codifica per la linfotossina α (LT α). Questi polimorfismi aumenterebbero la suscettibilità all'IMA, aumentando l'attività pro infiammatoria attraverso l'aumento di molecole di adesione vascolare.

Il DeCode Genetics Group in Islanda ha mappato il locus del cromosoma 13q 12-13, il quale potrebbe essere implicato nello sviluppo di IMA e stroke. Nel locus analizzato è stato identificato il gene FLAP (5-lipoxigenase activating protein), i cui polimorfismi, messi in evidenza in circa il 10% dei pazienti con IMA ne raddoppierebbero il Rischio. Il gene in questione ha un ruolo critico nella conversione della 5-lipossigenasi (LOX) in leucotriene B₄, uno dei più potenti mediatori dell'attivazione dei neutrofili. Il *Pathway* d'attivazione della 5-LOX è fortemente implicata nell'aterosclerosi umana e la presenza di un polimorfismo di FLAP ha una correlazione con la rottura della placca.

Recentemente il gruppo DeCode ha sperimentato un trial di farmaci FLAP-bloccanti, in più di 200 pazienti che mostravano un polimorfismo a carico di FLAP. Il farmaco utilizzato, paragonato al placebo, ha prodotto una significativa riduzione dell'espressione del leucotriene B₄, dell'attivazione dei neutrofili e quindi dei livelli sierici della PCR. Questa sperimentazione rappresenta il primo esempio di terapia genetica specifica nell'ambito dell'IMA e poiché utilizza un approccio individualizzato e personalizzato, apre le porte a nuove importanti prospettive terapeutiche alternative, avvalorando ancor di più il ruolo dei fattori genetici nello sviluppo delle SCA⁵.

- Funzione piastrinica

Gli studi condotti sulla funzione piastrinica hanno riguardato diverse molecole coinvolte nel processo della funzione piastrinica.

Sono stati indagati i geni che codificano per le lipoproteine IIb e IIIa (GpIIb e Gp IIIa).

Per la GpIIb è stato studiato il polimorfismo Ile 843 Ser la sua possibile associazione con un maggior Rischio di IMA. Reiner ha condotto uno studio su 68 donne con IMA rispetto a 346 controlli sani. I risultati hanno dimostrato un incremento significativo del

Rischio di IMA tra le donne con allele Ser843 in omozigosi (Ser843/Ser843) o i eterozigosi (Ile843/Ser843) rispetto alle donne in omozigosi Ile843/Ile843 (OR =1.85)³⁴.

L'aumento del Rischio di IMA si evidenzia soltanto nei sottogruppi di donne che presentavano anche altri fattori di Rischio quali il tabagismo, l'ipercolesterolemia, nonché la familiarità per malattie cardiovascolari. L'interazione con il fumo di sigaretta appariva assai significativa: le donne fumatrici che possedevano tale allele, rispetto alle non fumatrici, presentavano infatti il Rischio di IMA 10 volte superiore. In altro studio in vitro è stato dimostrato che la variante Ser 843 é associata ad un'aumentata aggregazione piastrinica, nonché ad una ridotta retrazione del coagulo se paragonata con la variante Ile 843³⁵. Di contro altri studi che coinvolgevano prevalentemente individui di sesso maschile, non hanno rilevato relazione alcuna tra la variante Ser 843 e il Rischio di IMA 843³⁶.

Per quanto riguarda il GpIIIa, il polimorfismo indagato è il P1A1/A2 dato dalla sostituzione della leucina (A1) con una prolina (A2) in posizione 33 di questa glicoproteina. Numerosi lavori mostrano che il polimorfismo P1A1/P1A2 sembra non associarsi a un Rischio aumentato di CHD³⁷.

Nonostante le evidenze della componente genetica della CHD siano assai significativa, la natura complessa del fenotipo CHD rende le conoscenze di questo fenomeno assai complesse a causa della natura poligenica della CHD e dell'interazione con i fattori ambientali. Tuttavia se la maggior parte dei soggetti che mostrano suscettibilità genetica alle SCA potesse essere riconosciuta in epoca precoce, si potrebbe ottenere un marcato decremento dell'incidenza di SCA operando preventivamente attraverso cambiamenti dello stile di vita e terapia farmacologica individualizzata.

- **Fattori etnici**

Evidenze disponibili suggeriscono che il Rischio assoluto varia fra le differenti popolazioni indipendentemente dai Fattori di Rischio maggiori. Ciò deve essere tenuto in considerazione anche nella nostra società che si avvia ad essere sempre più una società multietnica. Per esempio nel Seven Countries Study¹⁰, la popolazione giapponese aveva un rischi di CHD molto più basso delle altre popolazioni. Ma come è noto anche l'area mediterranea, con alcune differenze, sembra essere una zona protetta in termini di Rischio coronarico e questo sia per ragioni ambientali (es. dieta), che per fattori di tipo genetico.

B) FATTORI DI RISCHIO TRADIZIONALI MODIFICABILI

- **Ipertensione arteriosa**

I grandi studi epidemiologici degli ultimi decenni hanno dimostrato in modo inequivocabile che il Rischio cardiovascolare cresce progressivamente con l'aumentare della pressione arteriosa. Tale associazione è valida per entrambi i sessi e copre un'ampia fascia di età³⁸.

Altrettanto copiosi studi di intervento hanno dimostrato chiaramente il beneficio, in termini di riduzione del Rischio, ottenuto con il trattamento farmacologico dell'ipertensione³⁹.

E' stato calcolato un Rischio cardiovascolare incrementato del 20% per ogni aumento di 10 mmHg di pressione arteriosa.

L'ipertensione arteriosa agisce determinando un aumento della tensione di parete (shear stress) provocata dal flusso sanguigno, con danno endoteliale organico, ma soprattutto funzionale, e conseguente aumento della permeabilità cellulare, primi moventi del processo aterosclerotico. Queste alterazioni sono prevalenti là dove si viene a creare un flusso turbolento, per esempio in corrispondenza delle biforcazioni.

La stimolazione meccanica rappresenta inoltre lo stimolo alla mobilizzazione e alla differenziazione delle cellule muscolari lisce (SMC) della tonaca media e intima, con incremento delle richieste energetiche a causa dell'ipertrofia e conseguente sofferenza ischemica della parte vascolare.

Inoltre l'aumento della pressione arteriosa si associa spesso ad elevati livelli di Angiotensina II, la quale esercita un'azione vasocostrittrice, pro infiammatoria e stimolante delle SMC.

L'associazione dell'ipertensione arteriosa ad ipercolesterolemia aumenta in modo esponenziale il Rischio di cardiopatia ischemica⁴⁰.

- **Ipercolesterolemia**

L'ipercolesterolemia va considerata l'elemento centrale nell'ambito del Rischio cardiovascolare. Il ruolo etiologico del colesterolo nel processo aterosclerotico è attualmente ben definito. Le evidenze che si sono accumulate nell'arco degli anni sono sia epidemiologiche che sperimentali.

Nel corso degli anni si è inequivocabilmente dimostrata una forte correlazione tra livelli di colesterolemia e il Rischio di coronaropatia. Nel Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT), un campione di 360.000 uomini tra 35 e 57 anni è stato sottoposto a valutazione dell'assetto lipidico e seguito per 12 anni: tale studio ha mostrato un'impennata delle malattie cardiovascolari per valori di colesterolo superiori a 200 mg/dl⁴¹ (figura 3).

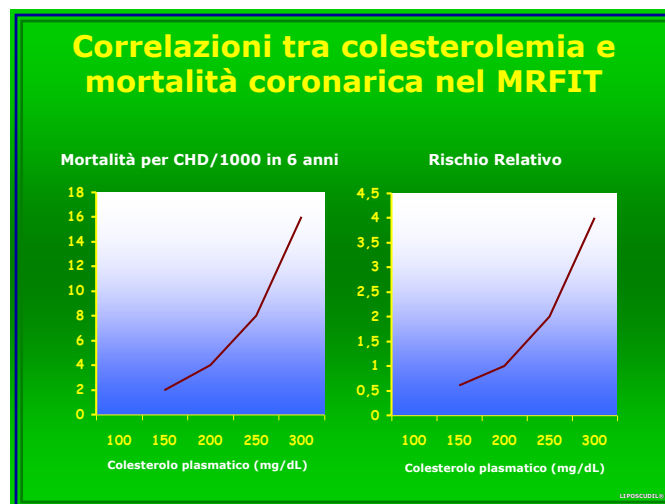


Figura 3. MRFIT trial: La mortalità coronarica aumenta progressivamente all'aumentare della colesterolemia, con un'aumento ripido della pendenza della curva dopo i 200 mg/dl.

La stessa correlazione è stata riscontrata anche per popolazioni diverse sebbene con curve non sempre sovrapponibili.

Anche trials clinici di intervento effettuati in pazienti in prevenzione primaria e prevenzione secondaria, hanno fornito un contributo determinante (figura 4).

Tali studi hanno documentato in modo definitivo che la riduzione drastica dei livelli di colesterolo è in grado di prevenire le malattie cardiovascolari in toto e di ridurre la mortalità, a prescindere dalla tipologia dei pazienti trattati.

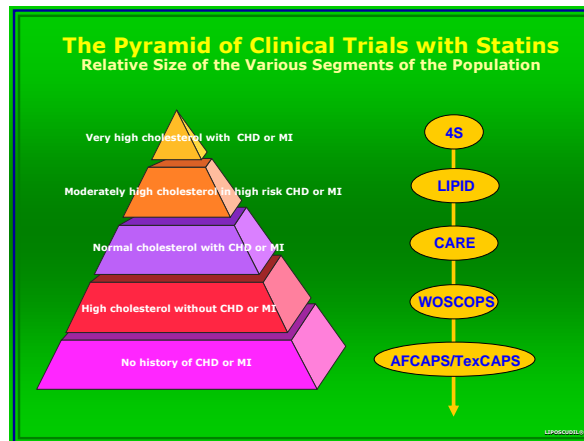


Figura 4. Trials clinici di intervento con statine e relativa grandezza di vari tipi di popolazione studiata.

Particolarmente a Rischio è il riscontro di elevati livelli di LDL-colesterolo (LDL-C), essendo queste le lipoproteine deputate al trasporto del colesterolo dal fegato ai tessuti, in grado di infiltrare le pareti vasali se ossidate o modificate, svolgendo un ruolo fondamentale nel processo dell'aterosclerosi. Numerosi studi quali il Framingham Heart Study⁴², il MFRT⁴¹ o il Lipid Research Clinical Trial (LRCT)⁴³ hanno definitivamente confermato quanto una riduzione plasmatica di LDL-C induca riduzione del Rischio di eventi cardiovascolari e di mortalità in soggetti sia fumatori che non fumatori, sia diabetici che non diabetici, sia maschi che femmine, sia giovani che meno giovani, sia in prevenzione primaria che secondaria^{44,45}.

E' importante ricordare che la relazione fra colesterolemia totale e il Rischio coronarico è continua e progressiva. Pertanto non esiste un valore soglia esente da Rischio.

- **Bassi livelli di HDL-colesterolo**

Da molto tempo è stato osservato che elevate concentrazione di HDL-colesterolo (HDL-C) conferiscono una protezione sugli eventi cardiovascolari. Il principale effetto protettivo dell'HDL-C è legato al trasporto inverso del colesterolo (40 tesi), dal circolo sistemico al fegato per essere quindi metabolizzato ed eliminato. I bassi livelli di HDL-colesterolo costituiscono pertanto un Fattore di Rischio cardiovascolare indipendente, su cui incidono fattori genetici e che si associa a condizioni come il diabete mellito, l'ipertrigliceridemia, la sedentarietà e il fumo. Al contrario l'attività fisica regolare e l'assunzione di moderate quantità di vino, rosso in particolare, ne inducono un aumento.

Oggi sono menzionabili numerosi studi epidemiologici sulla relazione inversamente proporzionale tra livelli di HDL-C e l'incidenza di CHD⁴⁶.

- **Ipertrigliceridemia**

A lungo si è discusso se l'ipertrigliceridemia fosse un Fattore di Rischio cardiovascolare indipendente e questo perché elevati valori di trigliceridi (TG) generalmente si associano a tutta una serie di alterazioni metaboliche di per sé aterogene. Tra queste un ruolo di primo piano hanno sicuramente i bassi livelli di HDL-C che quasi sempre si associano. Tuttavia le evidenze scientifiche degli ultimi decenni confermano per l'ipertrigliceridemia un ruolo di Fattore di Rischio cardiovascolare indipendente da quello delle HDL.

L'ipertrigliceridemia si associa comunque anche ad altre alterazioni metaboliche potenzialmente aterogene, quali le alterazioni della fase post prandiale ed accumulo di particelle remnants, anomalità di composizione delle LDL, alterazioni della fibrinolisi e della coagulazione. E' noto anche che spesso l'obesità e la sindrome metabolica, come anche il diabete, si associano spesso all'ipertrigliceridemia.

- **Diabete Mellito**

Il diabete Mellito rappresenta una delle principali cause di morte negli USA e l'elevata mortalità associata al diabete deriva in gran parte dall'aumentato Rischio cardiovascolare, da 2 a 4 volte superiore a quello della popolazione normale. Le patologie cardiovascolari sono responsabili del 60% dei decessi dei pazienti diabetici; il 41 % è dovuto a CHD.

L'elevata mortalità cardiovascolare del paziente diabetico è anche legata alla frequente associazione del diabete con altri fattori di Rischio cardiovascolari, quali ipertensione arteriosa, obesità, aumentati livelli di fibrinogeno, iperaggregabilità piastrinica, ma soprattutto la tipica dislipidemia diabetica, altamente aterogena.

Le alterazioni più tipiche della dislipidemia diabetica sono rappresentate da un aumento dei TG, quindi delle VLDL (Very Low Density Lipoprotein) e da una riduzione delle HDL; la frequenza di queste alterazioni è più che raddoppiata in tali pazienti rispetto alla popolazione non diabetica. I diabetici di tipo 2, pur presentando una concentrazione di colesterolo-LDL non significativamente differente rispetto ai non diabetici, mostrano una predominanza di particelle LDL piccole e dense che potrebbe spiegare in parte il maggior rischio aterogeno che essi presentano. Il metabolismo dei TG nei pazienti diabetici e

alterato non solo nel periodo di digiuno ma anche nella fase post-prandiale in cui si osserva per diverse ore un'incrementata concentrazione plasmatica di chilomicroni, VLDL e dei loro remnants. La patogenesi di queste alterazioni è da ricondursi non solo all'insoddisfacente controllo glicemico, quando presente, ma anche all'insulino-resistenza e alle altre anomalie metaboliche ad essa associate. Infatti l'aumento dei TG è legato ad un'aumentata sintesi epatica delle VLDL successiva ad un maggior flusso di substrati, ovvero glucosio e acidi grassi liberi (FFA), che arrivano al fegato. L'aumento degli FFA è a sua volta strettamente legato all'insulino-resistenza che determina un'inadeguata inibizione della lipolisi nel tessuto adiposo. D'altra parte, l'ipertrigliceridemia nel DM2 è anche legata ad una riduzione del catabolismo delle VLDL per insufficiente azione della Lipasi Lipoproteica (LPL) dovuta all'insulino-resistenza (l'attività dell'enzima è inibita dall'insulina).

Nel Diabete e negli stati di insulino-resistenza è descritto inoltre un aumento dell'attività della lipasi epatica (HL) che favorisce il catabolismo delle HDL i cui livelli plasmatici si riducono soprattutto per quanto riguarda la subfrazione a densità minore, le HDL2. Il ridotto catabolismo e la conseguente prolungata presenza in circolo delle VLDL favoriscono gli scambi, mediati dall'enzima CETP (Cholesterol-Ester Transfer Protein) di TG ed esteri del CT tra VLDL e LDL, per cui le LDL si impoveriscono di esteri del colesterolo e si arricchiscono di TG, substrato dell'azione della lipasi epatica (HL). L'aumentata idrolisi dei TG delle LDL permette la formazione di LDL piccole e dense, di cui è dimostrata l'associazione ad un aumentato rischio cardiovascolare.

Studi come il Diabetes Complication Control Trial (DCCT)⁴⁷ nel diabete di tipo 1 e l'United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS)⁴⁸ nel diabete di tipo 2 hanno dimostrato l'importanza di trattare sia il diabete, ma anche gli altri fattori di Rischio associati, per ridurre la mortalità cardiovascolare.

Il MRFIT⁴¹ ha dimostrato anche dopo correzione per ciascuno di questi fattori di Rischio, la mortalità per cause cardiovascolari è maggiore nei soggetti diabetici rispetto sia non diabetici, costituendo quindi il diabete un Fattore di Rischio cardiovascolare indipendente.

Studi recenti hanno evidenziato che i soggetti con diabete di tipo II hanno un Rischio di IMA uguale a coloro che non sono diabetici ma hanno già avuto un IMA⁴⁹ (figura 5). In particolare nelle donne il diabete annulla la protezione legata al sesso.

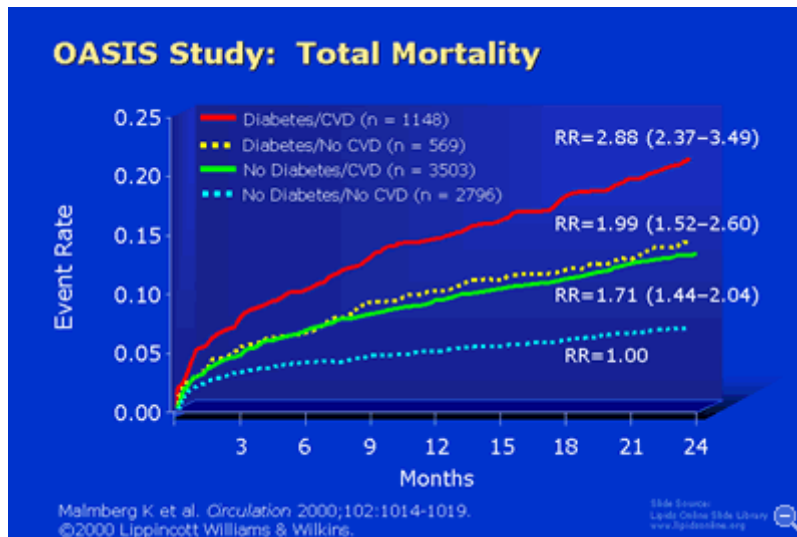


Figura 5. OASIS Study: La mortalità dei diabetici senza malattia cardiovascolare (linea gialla tratteggiata) è sovrapponibile a quella dei soggetti non diabetici con malattia cardiovascolare (linea verde continua).

- **Fumo di sigaretta**

E' uno dei principali Fattori di Rischio cardiovascolare che eumenta il Rischio di CHD in modo dose-dipendente in entrambi i sessi da 2 a 6 volte, rispetto ai non fumatori⁵⁰.

Nelle donne gli effetti deleteri del fumo sembrano essere perfino peggiori rispetto agli uomini.

Anche l'esposizione al fumo passivo aumenta dal 20 al 30% l'incidenza di malattie cardiovascolari⁵¹.

I meccanismi con cui il fumo aumenta il Rischio cardiovascolare sono molteplici, includendo sia la disfunzione endoteliale sia lo spasmo coronarico e sono principalmente legati all'azione della nicotina e del monossido di carbonio (CO).

La nicotina stimola il sistema simpatico adrenergico con conseguente aumento della frequenza cardiaca, del lavoro cardiaco, nonché della pressione arteriosa.

Il CO agisce con un'azione tossica diretta, alterando la permeabilità della lamina endoteliale, e con un'azione indiretta legata alla formazione di carbossemoglobina e l'induzione di uno stato di ipossia ischemica.

Nicotina e CO inducono inoltre aumento dell'aggregabilità piastrinica e della viscosità ematica, riduzione del tempo di coagulazione, nonché alterazioni sul profilo lipidico rendendolo più aterogeno (riduzione HDL).

Studi controllati sulla cessazione dell'abitudine al fumo hanno dimostrato che il Rischio cardiovascolare si riduce già a partire da alcuni mesi dopo l'interruzione e il Rischio

relativo cardiovascolare diviene sovrapponibile a quello dei non fumatori tra i 12 e i 24 mesi dalla sospensione per gli uomini e dopo tempi leggermente superiori per le donne⁵².

Il Rischio di mortalità per tutte le cause diviene sovrapponibile tra fumatori e non fumatori dopo circa 10 anni⁵³.

- **Sovrappeso e obesità**

Il sovrappeso, inteso come indice di massa corporea (BMI)>25 kg/mq, aumenta il Rischio cardiovascolare e l'obesità, intesa come BMI>30 Kg/mq costituisce un Fattore di Rischio indipendente che aumenta di 2-2.5 volte il Rischio cardiovascolare, rispettivamente negli uomini e nelle donne⁵⁴.

Tali condizioni favoriscono infatti l'insorgenza di altri Fattori di Rischio quali il diabete mellito, l'ipertensione arteriose e alterazioni in senso aterogeno del profilo lipidico⁵⁵.

Il Rischio è direttamente correlato alla misura della circonferenza addominale, che a sua volta è in relazione alla quantità di grasso periviscerale. L'obesità viscerale si associa infatti ad una condizione di resistenza insulinica che conduce ad alterazioni del metabolismo glucidico fino ad un quadro di diabete mellito conclamato, ad ipertrigliceridemia con bassi livelli di HDL-C, ad ipertensione, configurando il quadro clinico della Sindrome Metabolica che costituisce Fattore di Rischio indipendente⁵⁶.

La perdita di peso, così come l'attività fisica comporta benefici che si traducono nella riduzione del Rischio cardiovascolare e in favorevoli cambiamenti sull'assetto lipidico: riduzione del colesterolo totale, dell'LDL-C e dei trigliceridi, ed aumento dell' HDL-C.

- **Sedentarietà**

Numerosi studi epidemiologici, incluso il Framingham Heart Study ed il MFRIT, hanno dimostrato che l'attività fisica regolare riduce il Rischio di malattie cardiovascolari. Il Rischio relativo dei soggetti sedentari risulta da circa doppio rispetto a quello dei soggetti che svolgono regolare attività fisica.

L'attività fisica riduce quindi il Rischio sia per azione sul lavoro cardiaco poiché riduce la frequenza cardiaca, la pressione arteriosa e quindi il consumo di ossigeno da parte del miocardio; sia per effetti sul profilo metabolico con aumento di HDL-C e riduzione dell'LDL-C, dei TG, delle glicemia, dell'obesità, dell'attività fibrinolitica e dell'aggregabilità piastrinica.

Nell'ambito di quello che possiamo definire lo stile di vita, dobbiamo annoverare tra i Fattori Protettivi delle malattie cardiovascolari una corretta alimentazione, che potrebbe identificarsi con la classica "dieta mediterranea", a basso contenuto di grassi animali (saturi), ricca di grassi vegetali poli e monoinsaturi (olio di oliva), ricca di fibre e vitamine antiossidanti vegetali, a base di carboidrati complessi (pane e pasta)¹². Una recente metanalisi che includeva i dati di 50 studi per un totale di 534.906 pazienti, ha ulteriormente confermato l'efficacia di tale tipo di dieta per la prevenzione primaria e secondaria della SM e delle singole componenti della stessa (alterazioni glicemiche, ipertensione, dislipidemia, obesità viscerale) che sono noti Fattori di Rischio cardiovascolare⁵⁷.

Catteristiche della dieta "TLC" (therapeutic-lifestyle-changes diet):

- Grassi totali : circa il 25-35% delle calorie totali
 - Acidi grassi saturi Meno del 7% delle calorie totali
 - Acidi grassi poliinsaturi Circa il 10% delle calorie totali
 - Acidi grassi monoinsaturi Circa il 20% delle calorie totali
- Carboidrati: circa il 50-60% delle calorie totali, preferibilmente quelli a "basso indice glicemico", quindi i complessi, piuttosto che i semplici
- Fibre: circa il 20–30 g/die
- Proteine: circa il 15% delle calorie totali
- Colesterolo: meno di 200 mg/die
- Calorie totali: bilancio energetico tra introito e consumo di calorie atto a mantenere il peso corporeo desiderabile e prevenire il sovrappeso.

- **Fattori psicosociali e stress**

La risposta dell'organismo allo stress si attua attraverso modificazioni neuro-ormonali, quali l'iperattività dell'asse ipotalamo-ipofiso-surrenale e del sistema simpatico adrenergico cui seguono modificazioni metaboliche e vascolari che accelerano il Rischio di patologia aterosclerotica.

In vari studi si è emerso che fattori specifici come l'ostilità,, la depressione, l'isolamento sociale hanno un ruolo predittivo.

Molti altri studi hanno preso in considerazione il tipo di personalità ed è emerso che una personalità di "Tipo A", caratterizzata da aggressività, ambizione, ostilità, competitività ed ansietà avevano un Rischio raddoppiato di eventi cardiovascolari. E' necessario

prendere in considerazione che tale tipo di personalità sia associa spesso al altri Fattori di Rischio come il fumo di sigarette e l'ipertensione.

C) FATTORI DI RISCHIO EMERGENTI

Tra questi ne prendiamo in considerazione alcuni più rilevanti: la Sindrome Metabolica, l'infiammazione, l'iperomocisteinemia, precessi infettivi e la lipoproteina (a).

- **Sindrome Metabolica**

La Sindrome Metabolica (SM) costituita da una combinazione di Fattori di Rischio, come indicato nella tabella 2 ove sono indicati i criteri di definizione della SM secondo il National Cholesterol Education Program (NCEPT) Adult Treatment Panel (ATP)III e secondo l'International Diabetes Association (IDF). Nel secondo caso i criteri sono più restrittivi e il Fattore "obesità viscerale", espresso come circonferenza addominale, è obbligatorio. Si ritiene comunque che quella che definisce meglio il Rischio Cardiovascolare sia la definizione dell'ATPIII. Il comune denominatore di queste condizioni che si associano nella SM è un'aumentata resistenza all'insulina. E quindi in essa riscontriamo tutte le alterazioni del metabolismo lipidico che sono state già descritte per il diabete. Sembra che essa comporti un Rischio che appare indipendente dalla presenza di ogni singola componente che la caratterizza. Una recente metanalisi ha analizzato i dati di 87 studi per un totale di circa 952000 pazienti con SM⁵⁸ ed ha evidenziato che la essa si associa ad un Rischio di eventi cardiovascolari 2.35 volte maggiore e ad un Rischio di mortalità cardiovascolare 2.5 volte maggiore e di mortalità per tutte le cause di 1.5 volte maggiore. Altri studi sono necessari per definire se il Rischio associato alla SM eccede quello derivante dalla somma dei singoli Fattori che la compongono, o meno.

Tabella 2. Criteri di sindrome metabolica ATP III e IDF: La diagnosi di sindrome metabolica si può porre quando almeno 3 dei fattori elencati sono presenti contemporaneamente.

	<i>ATP III</i>	<i>IDF</i>
Obesità addominale (circonferenza vita)		Obbligatoria
Uomini	> 102 cm	≥ 94 cm
Donne	> 88 cm	> 80 cm
Trigliceridi	≥ 150 mg/dl	≥ 150 mg/dl
HDL		
Uomini	< 40 mg/dl	< 40 mg/dl
Donne	< 50 mg/dl	< 50 mg/dl
Pressione arteriosa	≥130/ ≥ 85 mmHg	≥130/ ≥ 85 mmHg
Glicemia	≥110 mg/dl	≥100 mg/dl

- **Infiammazione**

L'infiammazione svolge un ruolo di primo piano nel contesto del processo aterosclerotico in quanto non solo contribuisce ad avviarlo ma partecipa anche alla sua progressione, nonché alla genesi delle complicazioni della placca predisponendo lo sviluppo di una SCA.

Numerosi studi si sono occupati sia del ruolo del processo infiammatorio, sia dei livelli plasmatici di alcuni markers di flogosi rilasciati in circolo in seguito all'attivazione della reazione di fase acuta. Tali markers sono in grado di indicare, in base alla loro concentrazione plasmatica, la severità del processo infiammatorio in atto.

Lo studio condotto da Novo S. et Al. sottolinea l'importanza svolta dal fibrinogeno e dalla proteina C-reattiva (PCR) come possibili markers di Rischio cardiovascolare⁵⁹.

La PCR è una proteina di fase acuta prodotta dal fegato, dimostratasi in grado di attivare il sistema del Complemento, indurre l'espressione di Tissue-Factor (Fattore III della coagulazione o tromboplastina), quindi di attivare la cascata coagulativa.

I livelli plasmatici di PCR costituiscono un marker di Rischio in pazienti asintomatici con anamnesi positiva per altri Fattori di Rischio, nonché un predittore prognostico in paziente con SCA.

E' noto che il livello sierico di PCR, solitamente presente a concentrazioni molto basse nel plasma, riflette la vulnerabilità della placca aterosclerotica e può essere considerato quindi un marker di Rischio cardiovascolare⁶⁰.

Alcune osservazioni indicano che l'obesità e la Sindrome Metabolica possono essere accompagnate da aumentate concentrazioni plasmatiche di PCR, suggerendo dunque una relazione tra alterazioni metaboliche e flogosi^{61, 62, 63}.

Lo studio MRFIT ha rilevato una forte correlazione tra livelli plasmatici di PCR e morte per malattia coronarica.

Nello studio di Hawerkate ed Altri, in 2121 pazienti con storia di angina stabile ed instabile, studiati per 2 anni, i livelli medi di PCR superiori del 20% rispetto ai valori normali si sono rivelati predittivi per lo sviluppo futuro di IMA e morte coronarica durante il follow-up⁶⁴.

Nel Monica-Ausberg Study, in 936 uomini di età media con evidenza clinica di coronaropatia si è osservato un generale aumento di Rischio di circa il 19 % per futuri eventi cardiovascolari fatali o non fatali nei soggetti con livelli elevati di PCR⁶⁵.

L'insieme di tutti questi dati epidemiologici dimostrano la capacità prognostica della PCR quale Fattore di Rischio cardiovascolare indipendente da quelli tradizionali, e suggeriscono l'utilizzo di questo marker infiammatorio per la valutazione del Rischio cardiovascolare globale.

Per quanto riguarda il fibrinogeno (Fattore I della Coagulazione), una proteina di fase acuta prodotta dal fegato, è stata riscontrata una forte associazione tra essa ed eventi cardiovascolari.

Il fibrinogeno aumenta la viscosità ematica, incrementa la trombogenicità del sangue esaltando l'aggregazione piastrinica e favorendo la trombosi, ed infine incrementa la produzione di fibrina con conseguente aumento delle dimensioni dei trombi e loro ridotta suscettibilità alla lisi.

Maede ed Altri, in uno studio condotto su 1511 uomini, hanno rilevato come elevati livelli di fibrinogeno siano associati ad un Rischio aumentato dell' 84% per l'insorgenza di eventi cardiovascolari fatali e non⁶⁶.

• **Iperomocisteinemia**

L'omocisteina è un composto intermedio del metabolismo dell'aminoacido sulfidrilico metionina.

L'iperomocisteinemia favorisce l'aterogenesi interferendo con i complessi sistemi antitrombotici propri delle cellule endoteliali, determinando quindi disfunzione endoteliale, attivazione piastrinica e disordini nella bilancia emostatica.

Inoltre l'iperomocisteinemia inibisce la produzione di ossido nitrico (NO), attiva a livello genico la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) ed attiva fattori proflogistici, favorendo la trombosi venosa ed arteriosa.

In particolar modo l'iperomocisteinemia favorisce un'abnorme attivazione emostatica attraverso l'espressione del Fattore tissutale nelle cellule endoteliali e nei macrofagi, con conseguente attivazione della via estrinseca della cascata coagulativa.

Del resto è stato osservato che l'iperomocisteinemia non solo è strettamente associata ad IMA, ma presenta anche una correlazione positiva con svariati fattori procoagulanti, contribuendo così a mantenere uno stato di ipercoagulabilità⁶⁷.

È stato osservato che un aumento di omocisteina sierica di 5 mmoli/L sembra equivalere ad un aumento di circa 20 mg/dl della colesterolemia totale⁶⁸ sotto il profilo delle conseguenze.

È probabile che riducendo i livelli plasmatici di omocisteina, mediante interventi dietetici e/o farmacologici (vitamina B6 in dose di 50 mg/die; acido folico alla dose di 0,5 mg/die ed eventualmente vitamina B12 in dose di 1 mg/die) si riesca a ridurre il Rischio di morbilità e mortalità cardiovascolare⁶⁹.

● Microalbuminuria

Il termine microalbuminuria indica l'aumento subclinico dell'escrezione urinaria di albumina, con valori compresi tra 30 e 299 mg/24 ore.

Il concomitante aumento della permeabilità dei capillari favorirebbe il passaggio transmembrana di albumina ma anche di lipoproteine aterogene in seno alla parete vascolare.

La microalbuminuria, è stata recentemente inserita nella lista dei Fattori di Rischio cardiovascolare emergenti, in quanto diversi studi hanno dimostrato che la sua presenza è indice di danno vascolare sistemico e disfunzione endoteliale.

● Infezioni

Vi sono evidenze che alcuni microrganismi quali Citomegalovirus, Herpes Virus, Chlamydia Pneumoniae, Helicobacter Pylori, possano contribuire all'insorgenza della malattia aterosclerotica, nonché rendere instabile le placche aterosclerotiche, agendo come noxae sull'endotelio vasale.

È stato osservato che alcune Heat Shock Protein (HSP) batteriche, in particolare quelle della Chlamydia Pneumoniae, hanno una forte somiglianza antigenica con la HSP45 umana, ed è quindi possibile che un'infezione provocata dalla Chlamydia, con successive

localizzazione dell'agente patogeno all'intero della placca aterosclerotica, possa portare all'attivazione del sistema immunitario nei confronti di antigeni "self".

In ogni caso, qualora l'antigene viene riconosciuto come estraneo, si verifica l'attivazione delle cellule T, che a loro volta, producono una grande quantità di citochine modulanti le varie tappe del processo aterosclerotico.

L'incremento del titolo anticorpale verso alcuni di questi microrganismi è stato utilizzato come predittore di eventi cardiovascolari futuri in pazienti con IMA.

L'ipotesi infettiva dell'aterosclerosi resta tuttavia ancora controversa e gli studi fino ad ora condotti incentrati su cure a base di antibiotici non hanno dato alcun risultato significativo nel ridurre gli eventi cardiovascolari.

- **Lipoproteina (a)**

Studi epidemiologici hanno riportato una significativa associazione tra incremento della concentrazione plasmatica di Lipoproteina (a) [Lp(a)] e Rischio cardiovascolare⁷⁰.

Si tratta di una lipoproteina rappresentante una variante della lipoproteina LDL, contenente la Apo(a) e che ha domini ricchi in ponti disolfuro riscontrabili in molte altre proteine della coagulazione e della fibrinolisi.

In particolare la forte omologia tra la Apo(a) e il plasminogeno suggerisce che la prima proteina sia in grado di inibire il legame del plasminogeno al suo recettore, interferendo così con la fibrinolisi ed inducendo uno stato protrombotico.

Le differenze quantitative e qualitative nella Apo(a) sono geneticamente determinate.

Alcuni sottogruppi di popolazione potrebbero trarre vantaggio dalle valutazioni biomolecolari della Lp(a): persone a Rischio cardiovascolare particolarmente elevato, con storia familiare e/o personale di aterosclerosi precoce, con colesterolemia LDL elevata, con diabete mellito, con ipertensione o con elevate concentrazioni plasmatiche di omocisteina⁷¹.

In particolare elevate concentrazioni plasmatiche di colesterolo LDL e Lp(a), sembra sinergizzino in modo significativo nell'aumentare il Rischio cardiovascolare in entrambi i sessi (9 tesi). La trattazione della Lp(a) sarà successivamente approfondita, rappresentando uno degli argomenti centrali di questa tesi.

ATEROCLEROSI: MALATTIA INFIAMMATORIA

Il substrato anatomopatologico delle malattie cardiovascolari è rappresentato in massima parte dall'aterosclerosi. L'aterosclerosi è una malattia infiammatoria che interessa le grandi e medie arterie elastiche e muscolari, iniziando a livello dell'intima e coinvolgendo successivamente anche la tonaca media. Le lesioni aterosclerotiche, rappresentate dall'ateroma nelle varie fasi evolutive, rappresentano infatti una serie di risposte cellulari e molecolari altamente specifiche che nell'insieme possono essere descritte come una malattia infiammatoria¹. Ognuna delle lesioni caratteristiche dell'aterosclerosi rappresenta uno stadio differente di un processo infiammatorio cronico dell'arteria; se questo non è controllato e procede in modo eccessivo, darà luogo a lesioni avanzate e complicate.

a) Patogenesi dell'aterosclerosi

E' stata definitivamente accantonata l'ipotesi dell'aterosclerosi come risposta al danno endoteliale, secondo la quale la denudazione dell'endotelio danneggiato costituiva il primo stadio del processo aterosclerotico. Viene enfatizzata altresì la disfunzione endoteliale, piuttosto che la denudazione endoteliale, come *primum movens* dell'aterosclerosi. Cause possibili della disfunzione endoteliale comprendono un aumento delle lipoproteine a bassa densità (LDL); le loro modificazioni ossidative e la loro glicosilazione non enzimatica in presenza di persistenti elevati valori glicemici (diabete); i radicali liberi formati in seguito al fumo di sigarette, all'ipertensione e al diabete mellito; alterazioni genetiche; iperomocisteinemia; fattori infettivi; la combinazione di questi fattori e altri ancora. Una volta che ciò si è realizzato si osserva la tendenza delle LDL a passare nello strato sottoendoteliale e ad accumularsi nella tonaca intima, ove si legano ai proteoglicani della matrice extracellulare formando la *stria lipidica*. Le LDL legate ai proteoglicani sembrano avere un'aumentata suscettibilità ai fenomeni dell'ossidazione e della glicosilazione non enzimatica. A livello dell'intima le LDL ossidate e glicosilate hanno effetto chemiotattico verso i leucociti, che aderiscono all'endotelio e, per diapedesi tra le giunzioni endoteliali,

penetrano nell'intima. In tale processo sono coinvolti principalmente i monociti e i linfociti T^{72,73} (figura 6).

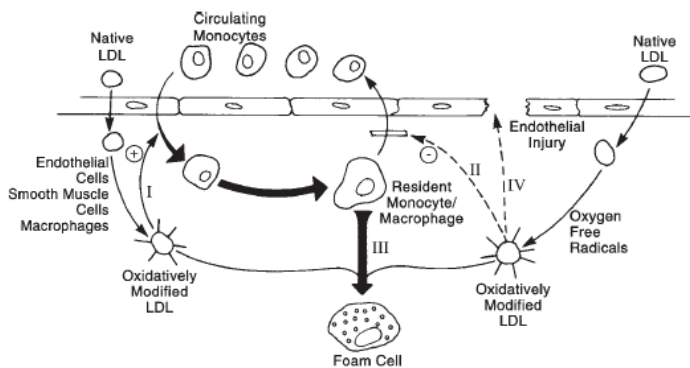


Fig. 4. Schema showing how oxidized LDL might be involved as an initiator of atherosclerosis, based on the work of Henriksen et al., (82, 84), Hessler et al., (85), and Quinn et al. (87). Reprinted with permission from (87).

Figura 6. tratta da Steinberg D. History of the cholesterol controversy. Journal of lipid research.

L'endotelio esprime particolari molecole di adesione per i leucociti: la molecola-1 di adesione delle cellule vascolari (VCAM-1), appartenente alla superfamiglia delle immunoglobuline e che interagisce con un integrina, VLA4, e la molecola-1 di adesione intercellulare (ICAM-1).

Le selectine sono altre importanti molecole di adesione: la E-selectina permette il reclutamento dei macrofagi, raramente presenti nelle prime fasi dell'ateroma; la P-selectina invece è più rappresentata dalle cellule endoteliali che ricoprono l'ateroma. I leucociti penetrano quindi nell'intima della parete arteriosa grazie a numerose citochine chemiotattiche prodotte dall'endotelio in risposta alle lipoproteine ossidate e agli altri stimoli: tra queste la proteina-1 chemiotattica per i monociti (MPC-1), la proteina-10 interferon γ -inducibile (IP-10) ad azione chemiotattica per i linfociti, il Fattore chemiotattico α per le cellule T interferone inducibile (I-TAC), la monochina indotta dall'interferon γ (MIG) chemiotattica per i linfociti.

L'espressione da parte dell'endotelio di molecole di adesione e di sostanze ad azione chemiotattica per monociti e linfociti T è favorita dalla presenza di un flusso ematico turbolento con diminuzione dello *shear stress* (forza tangenziale che il sangue esercita sulle pareti del vaso). Tali turbolenze si realizzano maggiormente in corrispondenza delle diramazioni, delle biforcazioni e delle curvature delle arterie. Per questo motivo le lesioni aterosclerotiche si sviluppano prevalentemente in queste sedi che appaiono quindi maggiormente predisposte.

I macrofagi, che vengono quindi attratti nell'intima, sono in grado di produrre citochine (come il TNF-alfa, l'IL1, il Fattore di crescita trasformante TGF) e fattori di crescita (come il PDGF e il Fattore 1 di crescita insulino-simile). Inoltre i macrofagi attivati esprimono antigeni di istocompatibilità HLA-DR che permettono loro di presentare gli antigeni ai linfociti T. Pertanto non sorprende il fatto che nell'aterogenesi siano coinvolte risposte immuni cellulo-mediate, poiché in tutte le fasi del processo aterosclerotico sono presenti nelle lesioni sia linfociti T CD4 che CD8..

Nell'intima i monociti-macrofagi cominciano ad inglobare lipidi, processo mediato dal recettore A scavenger, il CD36 e la macrosialina, e si forma *la cellula schiumosa*. Successivamente le cellule schiumose si moltiplicano sotto l'influsso dell'interleuchina-3 (IL-3) e del Fattore stimolante la crescita dei macrofagi. A questo punto la stria lipidica costituita solo da macrofagi è potenzialmente reversibile.

La successiva evoluzione dell'ateroma prevede la migrazione e la proliferazione di cellule muscolari lisce provenienti dalla media in risposta al Fattore di crescita di derivazione piastrinica (PDGF) prodotto dai macrofagi attivati. Queste, rispetto alle cellule quiescenti nella tonaca media, recuperano un fenotipo embrionale e possono differenziarsi anche in senso fibroblastico, dando luogo a fenomeni di fibrosi con produzione di fibre collagene e matrice extracellulare: si forma così un cappuccio fibroso attorno ad un "core" di lipidi e di cellule infiammatorie e si realizza la lesione tipica dell'ateroma, che in questa fase è ormai irreversibile.

Anche le piastrine giocano un ruolo importante nella patogenesi dell'aterosclerosi. Esse possono aderire all'endotelio alterato, al collagene del subendotelio e ai macrofagi. Un ruolo importante gioca la glicoproteina IIB/IIIa, che appartiene alla superfamiglia dei delle molecole di adesione e compare sulla superficie delle piastrine durante l'attivazione piastrinica e la formazione del trombo. Quando vengono attivate, rilasciano i loro granuli contenenti citochine e fattori di crescita che, con la trombina, possono contribuire alla migrazione e alla proliferazione delle cellule muscolari lisce e dei monociti. L'attivazione piastrinica porta anche al rilascio di acido arachidonico libero, che può essere trasformato in prostanoidei come il trombossano A2, uno dei più potenti vasocostrittori e aggreganti, o in leucotrieni, che possono amplificare la risposta infiammatoria. Infine la formazione del trombo può complicare una placca aterosclerotica ed essere responsabile a livello coronarico di SCA.

Se queste risposte infiammatorie continuano ulteriormente, possono provocare un ispessimento della parete arteriosa, che in un processo detto di rimodellamento compensatorio, compensa la stenosi dilatandosi gradualmente in modo da far restare inalterato il lume vasale.

Il progredire del processo infiammatorio dà luogo ad un aumento del numero dei monociti-macrofagi e linfociti T, che migrano dal sangue e si moltiplicano all'interno della lesione. L'attivazione di queste cellule conduce alla liberazione di enzimi proteolitici, citochine, chemiochine e fattori di crescita che possono condurre ad un danno ulteriore ed eventualmente causare una necrosi focale all'interno della lesione. Così i cicli di accumulo di cellule mononucleari, la migrazione e la proliferazione di cellule muscolari lisce e la formazione di tessuto fibroso conducono ad una eccessiva estensione e ristrutturazione della lesione che assume le caratteristiche di lesioni avanzate con un nucleo lipidico necrotico ricoperto da una capsula fibrosa. A questo punto, l'arteria non è più in grado di compensare la stenosi mediante la dilatazione della parete e la lesione si addentra nel lume dell'arteria alterando il flusso sanguigno.

b) Complicanze della lesione aterosclerotica

Le complicanze cui può andare incontro la placca sono la calcificazione, l'ulcerazione, l'emorragia intrapacca, la trombosi.

La calcificazione è dovuta alla deposizione di sali di calcio che nella lesione recente può essere in forma di microdepositi, mentre nella lesione avanzata o ulcerata può essere assai marcata in forma di lamine dure, ma fragili, fino alla formazione di veri e propri manicotti.

L'ulcerazione è caratterizzata da soluzione di continuo della superficie endoteliale e del cappuccio fibroso, con margini irregolari rilevati, al cui fondo si trova materiale lipidico-necrotico, da cui possono staccarsi emboli. Può evolvere verso la detersione del fondo, con comparsa di tessuto di granulazione e formazione di cicatrice su cui si stende il tessuto endoteliale. Alternativamente si possono innescare fenomeni trombotici sulla sua superficie o si può appronfondare fin nella tonaca media alterandone le proprietà elastiche e formazione di dilatazione aneurismatica. Si ritiene che nella sua patogenesi intervengano sia fenomeni anossici che microtraumi emodinamici del cappuccio fibroso.

L'emorragia intrapacca è dovuta per lo più alla rottura di vasi neoformati attorno alla placca. Ciò si verifica man mano che la placca si estende in profondità e in alcuni casi

possono essere coinvolti anche i *vasa vasorum* avventiziali. Ne consegue un ematoma all'interno della placca il cui volume può estendersi fino ad ostruire il lume del vaso.

La trombosi della placca è una temibile complicanza, che si può verificare su placca ulcerata, ma anche su placca non complicata. In questo caso succede che nel tratto subito a valle della lesione si crea un flusso ematico turbolento che favorisce la lesione o la disfunzione endoteliale con esposizione di molecole di adesione per le piastrine con conseguente attivazione delle stesse e formazione del trombo. La trombosi della placca si può sviluppare in modo progressivo cronico rimanendo silente fino a quando non determina una stenosi critica, oppure può manifestarsi in modo acuto determinando una SCA. Il tipo di evoluzione è condizionata dall'attività del sistema fibrinolitico.

c) Stabilità e instabilità della lesione aterosclerotica

Vi sono delle caratteristiche delle placche aterosclerotiche che le rendono più o meno stabili e più o meno vulnerabili rispetto alla comparsa di complicanze che possono esitare in sindromi ischemiche acute. La stabilità o instabilità di una placca non dipende dalle sue dimensioni e dal grado di stenosi che determina. Nell'infarto miocardico acuto nella maggior parte dei casi la lesione colpevole non è quella che determina una stenosi critica (>70%)⁷⁴.

La placca con estesi fenomeni fibrotici e cappuccio fibrotico spesso è stabile poiché difficilmente va incontro a complicanze.

Una placca è instabile se presenta un cappuccio fibroso sottile e un esteso core lipidico-necrotico, poiché facilmente può rompersi e andare incontro ad ulcerazione e/o trombosi^{75, 76}.

Anche la presenza di noduli calcifici può rendere una placca instabile, poiché questi accrescendosi possono causare lesioni dei neovasi periplacca con emorragia intrapacca, improvviso aumento del suo volume ed occlusione del lume vascolare. La presenza di trombi murali è un ulteriore Fattore di instabilità della placca, sia perché accrescendosi possono progressivamente determinare una stenosi critica, sia perché possono dare origine a fenomeni di embolizzazione che occludono il vaso a valle quando il suo calibro si riduce. Infine la presenza di attivi fenomeni infiammatori rende altamente instabile la placca (figura 7).

“Vulnerable” Plaque and “Stable” Plaque

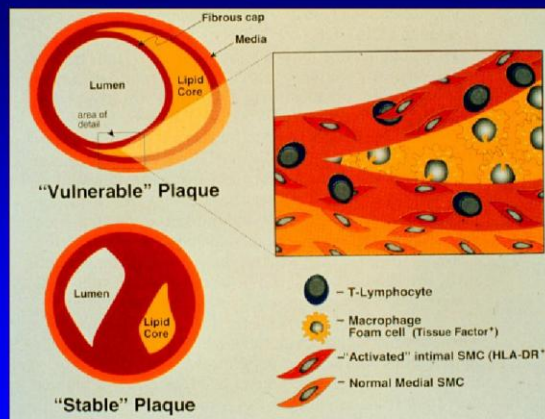


Figura 7: Caratteristiche della placca stabile e della placca vulnerabile.

d) **Classificazione della lesione aterosclerotica**

Nel 1995 l'American Heart Association ha proposto una classificazione istopatologica della lesione aterosclerotica in sei stadi, che rappresentano l'evoluzione del medesimo processo patologico (figura 8).

- Stadio I: lesione iniziale, caratterizzata da infiltrazione macrofagica dell'intima con isolate cellule schiumose;
- Stadio II: stria lipidica, caratterizzata principalmente da cellule schiumose con accumulo esclusivamente intracellulare di lipidi;
- Stadio III: lesione intermedia, caratterizzata anche da un modesto accumulo di lipidi extracellulari;
- Stadio IV: ateroma propriamente detto, con accumulo di lipidi intracellulare ed un core di lipidi extracellulare;
- Stadio V: fibroateroma, con un core lipidico ed un cappuccio fibroso o calcifico;
- Stadio VI: lesione complicata da ulcera, emorragia-ematoma o trombosi.

La lesioni iniziali e le strie lipidiche (stadi I e II) sono in genere già presenti nella prima decade di vita e decorrono in modo clinicamente silente. Nel corso degli anni continua l'accumulo di lipidi all'interno di queste lesioni e dalla terza decade di vita cominciano a comparire le lesioni intermedie e gli ateromi (stadi III e IV). Le prime decorrono in modo

silente; gli ateromi possono decorrere in modo silente o manifestarsi con una sindrome ischemica franca. Dalla quarta decade di vita, man mano che all'interno delle lesioni si ha la proliferazione delle cellule muscolari lisce e la deposizione di collagene, compaiono i fibroateromi (stadio V) e le eventuali lesioni complicate (stadio IV) che possono anch'essi decorrere in modo silente o manifestarsi con una sindrome ischemica franca cronica o anche acuta (figura 8).

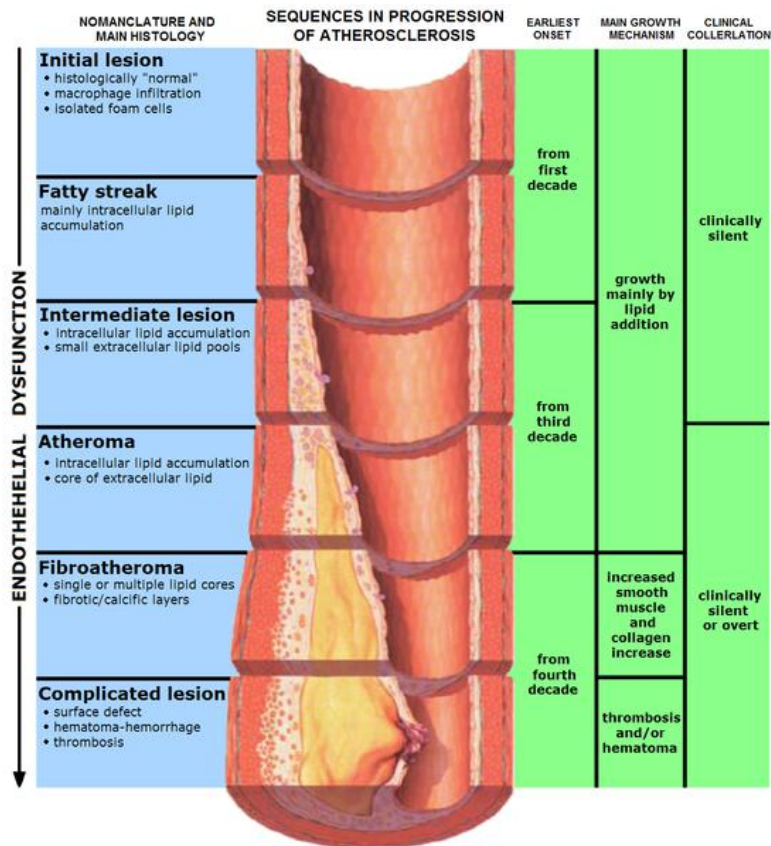


Figura 8. Stadi progressivi della lesione aterosclerotica. Tratta da Stery et al. Circulation 1995; 82: 1355-74

QUADRI CLINICI DELL'ATEROSCLEROSI COROCARICA

I quadri clinici con cui può manifestarsi l'aterosclerosi coronarica sono i seguenti.

- la cardiopatia ischemica silente;
- l'angina stabile;
- le sindromi coronariche acute (SCA).

Queste ultime comprendono:

- l'angina instabile (UA);
 - l'infarto miocardico acuto (IMA) senza sopraslivellamento del tratto ST (NSTEMI);
 - l'infarto miocardico acuto (IMA) con sopraslivellamento del tratto ST (STEMI).
- La morte improvvisa.

La modalità con cui si manifesta è dipendente da vari fattori, che includono: a) le caratteristiche della placca (dimensione, stadio evolutivo, grado di stenosi determinato, posizione della placca colpevole, stabilità o vulnerabilità della placca, presenza di complicanze della placca e velocità di insorgenza delle stesse), b) i complessi meccanismi di regolazione del flusso coronarico, compresa l'attivazione di circoli collaterali c) eventuali fattori ostruttivi su base funzionale, come il vasospasmo (per es. nello stress emozionale) e tutte le condizioni che comportando un maggiore lavoro cardiaco e quindi un aumento delle richieste metaboliche da parte del miocardio (per es. l'ipertrofia del miocardio, l'aumento della frequenza cardiaca, le tachiaritmie, l'aumento improvviso del post-carico nella crisi ipertensiva o di precarico nelle insufficienze valcolari acute ecc.).

Non è questa la sede per una trattazione approfondita della cardiopatia ischemica. Pertanto, poiché le SCA e l'angina stabile, come controllo, sono l'oggetto di questo studio, mi soffermerò su una brevissima descrizione delle caratteristiche cliniche in relazione con le probabili caratteristiche del processo aterosclerotico sottostante.

Angina stabile

Si caratterizza per un dolore, tipicamente provocato dallo sforzo o dallo stress psichico, che nella sua forma tipica è di tipo oppressivo o costrittivo, generalmente in sede retrosternale, spesso irradiato a spalla, mandibola, dorso, braccio, epigastrio (anche in base alla sede ischemica), generalmente di breve durata, che insorge sempre con le stesse caratteristiche di qualità, durata e soglia e si risolve con il riposo o con la somministrazione di nitroderivati. Il dolore è espressione di una discrepanza esigenze metaboliche del miocardio e apporto di ossigeno al miocardio in presenza di stenosi coronariche critiche di una placca aterosclerotica determinante stenosi critica, ma stabile. Ciò non significa che la placca non possa poi trasformarsi in una placca instabile, che va incontro a complicanze acute come la rottura, l'embolizzazione, la trombosi e quindi evolvere verso una SCA.

La diagnosi è prevalentemente clinica. L'ECG in corso di dolore può mostrare un sottoslivellamento del tratto ST come da ischemia subendocardica, ma spesso è anche normale. In presenza di dolore toracico sospetto è necessario stratificare il rischio, valutando la probabilità pretest di CHD, sulla base di algoritmi che prendono in considerazione età, sesso, tipicità del dolore, Fattori di Rischio presenti. Stabilito il Rischio si procede per follow-up clinico ed elettrocardiografico (rischio basso) o test ergometrico e/o stress-test scintigrafico o ecocardiografico (rischio intermedio) o direttamente verso coronarografia (rischio alto). La positività di un test ergometrico e/o di uno stress test impone il passaggio alla coronarografia.

Sindromi coronariche acute (SCA)

Le SCA sono un gruppo di manifestazioni cliniche imputabili ad ischemia miocardica acuta, la cui causa è da ricercare nella rottura di una placca aterosclerotica "vulnerabile" con successiva aggregazione piastrinica, sovrapposizione trombotica e riduzione o arresto del flusso ematico.

I trombi in genere si formano a livello di placche aterosclerotiche "complicate", (ad esempio da rottura, fissurazione o emorragia) le quali, esponendo il sangue ad una superficie vasale non più in grado di contrastare efficacemente l'attivazione di processi proaggreganti e procoagulanti, come normalmente dovrebbe avvenire, danno l'avvio alla formazione di un trombo.

In base all'entità della stenosi/occlusione, ed alla sua persistenza, può determinarsi uno dei seguenti quadri clinici:

- Angina instabile : ischemia miocardica acuta transitoria senza significativa necrosi miocardica.
- Infarto Miocardico Acuto (IMA) senza sopraslivellamento del tratto ST (non ST-segment elevation myocardial infarction, NSTEMI): ischemia miocardica acuta associata a necrosi miocardica subendocardica.
- Infarto Miocardico Acuto con sopraslivellamento del tratto ST (ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI): ischemia miocardica associata a necrosi miocardica transmurale.

Il sintomo principale delle SCA è il dolore anginoso di tipo oppressivo e costrittivo. Il malato riferisce il dolore come una sensazione di pesantezza, di compressione, di soffocamento, di costrizione toracica. Il dolore ha tipicamente sede retrosternale, più raramente è avvertito all'epigastrio (IMA inferiore) o soltanto nelle sedi di irradiazione (lato ulnare dell'avambraccio sinistra, braccio e spalla di sinistra , epigastrio, collo, mandibola, braccio destro, dorso). Il dolore insorge spesso a riposo, e se compare durante uno stress psico-fisico non regredisce al cessare dell'attività. Nell'angina instabile il dolore ha, solitamente, durata inferiore a 20-30 minuti; se persiste oltre 20-30 minuti è verosimile che si associ anche a necrosi del miocardio, cioè che si sia determinato infarto.

La sintomatologia dolorosa si associa, frequentemente, a sudorazione fredda, sensazione di angoscia, nausea nonché vomito (sintomi neurovegetativi); questi ultimi talvolta possono essere gli unici elementi caratteristici del quadro clinico delle SCA. Il dolore, infatti, è assente in oltre il 30% dei casi e soprattutto in soggetti in età avanzata e nei diabetici, a causa della neuropatia diabetica sensitiva. I pazienti appartenenti alla suddetta categoria, data l'incompletezza della sintomatologia clinica tipica, spesso vengono diagnosticati a posteriori mediante esame elettrocardiografico (ECG), scintigrafia, ecografia.

Nei casi in cui si determina una complicanza acuta, la più temibile delle quali è la morte cardiaca improvvisa secondaria a Fibrillazione Ventricolare, la diagnosi di SCA viene effettuata post mortem.

Dal punto di vista strumentale l'ECG è un'indagine chiave nella diagnosi delle SCA. Il segno iniziale e tipico di una SCA è il sottoslivellamento o il sopraslivellamento del

segmento ST. Talora invece si manifesta come blocco di branca sinistro di nuova insorgenza.

Tuttavia un ECG completamente nella norma, in un paziente con dolore toracico non esclude la possibilità di SCA poichè dall'1% al 6% dei pazienti con SCA mostra un ECG normale, anche in presenza di malattia.

Infine aiuta in maniera significativa nell'inquadramento delle SCA il dosaggio dei marker enzimatici di necrosi miocardica. I miociti che vanno incontro a necrosi liberano alcune sostanze (enzimi/proteine) il cui riscontro nel siero è indispensabile per porre diagnosi di IMA. Gli enzimi di necrosi coinvolti sono:

- **LATTICO DEIDROGENASI (LDH):** l'LDH è un enzima che catalizza la trasformazione del lattato in piruvato. L'enzima è composto da quattro subunità di due tipi, H e M. Queste, combinandosi tra loro, generano cinque possibili isoforme le quali possono essere separate tramite elettroforesi. Le isoforme 4 e 5 sono specifiche del fegato, la 1 e 2 del miocardio. In corso di necrosi miocardica l'LDH-1 aumenta dopo la 12^a ora, dopo un intervallo di tempo non più utile alla terapia riperfusiva primaria. Dopo l'infarto del miocardio si osserva, oltre ad un aumento della LDH-1, anche un rapporto LDH-1/LDH-2 >1 (flipper LDH). Si tratta quindi di un marker di necrosi tardivo, che risulta essere utile nella diagnosi di infarto pregresso, in quanto è dosabile fino a 14 giorni dall'evento acuto.
- **MIOGLOBINA:** proteina rilasciata da qualsiasi muscolo, difatti è un marker di necrosi poco specifico. Tuttavia si tratta di un marker estremamente precoce dal momento che si positivizza già dopo la prima ora dall'evento acuto.
- **TROPONINA:** proteina ad alto peso molecolare costituita da tre subunità (TnC, TnT, TnI). La TnC è localizzata nel muscolo cardiaco e scheletrico, ed è deputata a legare ioni calcio; la TnT, con funzione legante la Tropomiosina, e la TnI con funzione inibitoria, sono presenti esclusivamente nel muscolo cardiaco rappresentando i marcatori più sensibili e specifici per il riconoscimento del danno miocardico. Esse sono dosabili nel sangue dopo 2-4 ore dall'inizio dei sintomi ed il loro picco viene raggiunto dopo 8-12 ore.
- **CREATINCHINASI (CK):** enzima costituito da due monomeri M e B. L'isoenzima MB è contenuto in maggiore quantità nel miocardio, l'isoenzima BB nel cervello, l'isoenzima MM nel muscolo scheletrico. Il dosaggio del CK-MB è considerato patologico quando

> del 6-10% del CK totale, il quale a sua volta deve essere almeno doppio del valore normale. E' comunque considerato un marker di necrosi precoce dal momento che aumenta entro 4-8 ore e torna a livelli normali entro 48-72 ore.

Diagnosi di STEMI

- Aumento e successiva graduale diminuzione di Troponine oppure rapido aumento seguito da riduzione di CK-MB. Per le decisioni terapeutiche non è necessario attendere i valori degli enzimi cardiaci.
- A livello ECGgrafico, in corso di STEMI, si hanno tre diverse fasi che evolvono con la seguente sequenza temporale:
 - FASE ACUTA: tratto ST sopraslivellato per più di 1 mm, con entità che tende a ridursi progressivamente.
 - FASE SUBACUTA: comparsa di onda Q patologica; persistenza del sopraslivellamento del tratto ST; onda T difasica o negativa.
 - FASE CRONICA: normalizzazione del tratto ST; persistenza dell'onda Q patologica.

Diagnosi di NSTEMI e angina instabile (UA)

- Sintomi ischemici (dolore)
- Modificazione o meno degli enzimi di necrosi
- Altrazioni ECGgrafiche con sottoslivellamento del tratto ST > 1mm in corso di dolore toracico.

RUOLO DELLA LIPOPROTEINA(a) E DEI POLIMORFISMI DEL GENE LPA NELLA MALATTIA CORONARICA

Lipoproteina (a)

La lipoproteina(a) o Lp(a), scoperta nel 1963 da Berg fu descritta come un' isoforma, geneticamente determinata, delle LDL (Low Density Lipoprotein).

Sembrerebbe che la sintesi di Apo(a) e quindi di Lp(a) avvenga su basi genetiche.

Il sito maggiore di sintesi della Lp(a) è il fegato, mentre testicolo e cervello partecipano in minima quota.

Il catabolismo della Lp(a) è tuttora in discussione: sia i meccanismi che i siti responsabili sono ancora sconosciuti.

E' incerto il contributo del rene: la concentrazione plasmatica di Lp(a) in pazienti con ridotta funzionalità renale è 3-5 volte superiore rispetto ai controlli, e ritorna nella norma dopo trapianto renale, suggerendo quindi che il rene possa giocare un ruolo importante nel determinare i livelli plasmatici di Lp(a).

Inizialmente si riteneva che la sede renale fosse responsabile del catabolismo dell'Apo(a) nella misura dell' 1% (indicando il coinvolgimento di altri tessuti/meccanismi).

Studi recenti riconducibili a Kostner e Coll, hanno dimostrato invece un tasso di clearance renale superiore all'1 %⁷⁷.

Studi nei conigli Watanabe, ereditariamente iperlipemici, mostrano che anche il fegato è un sito di rimozione di Lp(a)⁷⁸.

Struttura

La Lp(a), la cui densità presenta valori intermedi tra quelli posseduti dalle LDL e dalle HDL (High Density Lipoprotein), è una particella lipoproteica con un diametro che oscilla tra 25 e 30 nanometri ed un peso molecolare (p.m.) compreso tra 30.000 e 90.000 Dalton.

La Lp(a) comprende una componente lipidica simile ad una LDL dotata di apoB100, la componente proteica rappresentata dall'apoproteina(a) (glicoproteina ad alto p.m.) responsabile della differenza fondamentale tra Lp(a) e LDL.

La molecola di apoB100 è legata tramite un ponte disolfuro all'Apo(a), la quale conferisce le proprietà metaboliche, chimico-fisiche⁷⁹, immunologiche ed elettroforetiche alla Lp(a)⁸⁰, rappresentandone anche il marker specifico.

Una sua peculiarità è la particolare similitudine con la struttura del plasminogeno, individuata in seguito alla scoperta che anticorpi anti-apo cross-reagivano con il plasminogeno stesso.

E' stata inoltre descritta una omologia tra il DNA complementare (cDNA) dell' Apo(a) e quello del plasminogeno umano^{79,81}.

Il plasminogeno contiene nella sua struttura una proteasi globulare ad una estremità, e delle sequenze aminoacidiche all'altra estremità dette "Kringles" per la loro struttura ad ansa.

Nel plasminogeno sono presenti cinque kringles diversi tra loro, numerati progressivamente da I a V, mentre nella molecola dell'Apo(a), si trova un solo kringle identico al kringle V del plasminogeno, e fino a più di quaranta copie del kringle IV, il quale consente il legame con l'apoB100.

All'altra estremità dell'Apo(a) si evidenzia una regione proteica simil-proteasica con un'omologia rispetto al plasminogeno dell' 87-94%.

Nel plasminogeno tale regione ha attività catalitica proteasica serino-tripsinica, mentre nell'Apo(a) tale regione è inattiva e pertanto non può essere attivata per la fibrinolisi, mentre competendo con il plasminogeno per i substrati, può sostituirsi ad esso nel legame.

Il significato biologico della Lp(a) è sconosciuto, soprattutto alla luce del fatto che livelli non dosabili di tale lipoproteina non sembrano associarsi ad alcune patologie.

E' possibile che durante l'evoluzione della specie, l'Apo(a) si sia differenziata dal plasminogeno attraverso una duplicazione del gene e successive delezioni, ulteriori mutazioni fino alla struttura attuale, e l'esistenza di un polimorfismo di grandezza nei primati indica che ciò è avvenuto .

Data la grande somiglianza con le proteine che intervengono nel processo fibrinolitico, e possedendo attività protrombotica, è assai probabile che abbia potuto svolgere un ruolo procoagulativo nei primi millenni, essenziale per la sopravvivenza, o al contrario avere agito in senso profibrinolitico.

Livelli plasmatici ed isoforme

I livelli plasmatici di Lp(a), decisamente influenzati dal tasso di sintesi dell'Apo(a), e poco dai fattori ambientali, sono sottoposti a notevole controllo genetico^{8, 23, 79}.

Il range della concentrazione plasmatica di Lp(a) varia tra 0.1 e 300mg/dl, con valori che si attestano intorno ai 18.4 mg/dl.

La distribuzione dei valori nella razza europea, nei bianchi e neri americani non è di tipo gaussiano ma asimmetrica, con una lunga coda verso i valori più alti.

Quanto detto è stato avvalorato da una indagine condotta da Averna et Al. su un campione di una popolazione siciliana, nell'ambito del progetto epidemiologico "Ventimiglia di Sicilia" (119 tesi).

Questa indagine ha messo in evidenza e confermato che i livelli plasmatici di Lp(a) si distribuiscono secondo una curva asimmetrica verso i valori alti, con valori medi di 15-18 mg/dl e una mediana di 8.2 mg/dl.

Nel 1987 fu scoperto un polimorfismo genetico relativo alla grandezza della Apo(a), e furono identificate sei isoforme con un p.m. compreso tra 300 e 800 KDa.

Esse furono denominate F (Fast= veloce), B (per la posizione dell'ApoB100), S1, S2, S3, S4 (Slow= lento).

Nei soggetti in cui non era evidenziabile alcuna banda elettroforetica, nè presenza nel plasma di Lp(a), fu ipotizzato un allele nullo (0)⁸³.

Nel 1989 Gavish mostrò che esisteva un rapporto inverso tra p.m. dell'Apo(a) e livelli circolanti di Lp(a) con conseguenze sul Rischio cardiovascolare: ad isoforme con alto p.m. (HMW) corrispondevano basse concentrazioni plasmatiche di Lp(a) e viceversa; inoltre la regolazione dei livelli plasmatici della lipoproteina sembrava dipendere dal numero di copie del KIV, le quali sono direttamente correlate al p.m. dell'Apo(a) e quindi inversamente ai valori plasmatici di Lp(a)^{5, 24}; tuttavia lo schema è complesso⁷⁹.

Le forme ad HMW si caratterizzano per l'elevato numero di copie di KIV e quindi per l'alto rapporto KIV/KV, il che conferisce un significato clinico probabilmente aterogeno alla Lp(a) (73 tesi).

Genetica

La base della trasmissione genetica della Lp(a) è stata indagata da Utermann ed Altri, i quali hanno stabilito come la variabilità del p.m. sia da attribuire alla presenza di

diverse isoforme fenotipiche e che queste ultime sono responsabili in parte della variabilità individuale delle concentrazioni plasmatiche di Lp(a). Tutto ciò è dovuto al numero di kringle IV .

Le varie isoforme della Lp(a) sono numerate a seconda del numero di ripetizioni del kringleIV e coloro nei quali è possibile riscontrare due isoforme vengono considerati eterozigoti, mentre quelli che ne presentano soltanto uno sono indicati come omozigoti. Quando due isoforme aventi p.m. diverso sono presenti nello stesso soggetto, l'isoforma che delle due ha il p.m. inferiore diventa quella più espressa e che va a condizionare i livelli plasmatici di Lp(a).

E' stato ipotizzato che i polimorfismi (single-nucleotide polymorphisms SNPs) della Lp(a) siano da ascrivere alla presenza di diversi alleli di uno stesso locus genetico (gene LPA) allocato sul cromosoma 6 in stretta contiguità con il gene codificante per il plasminogeno. Potrebbe spiegare, quest'ultima informazione, la stretta analogia tra le sequenze aminoacidiche del plasminogeno e quelle della Apo(a).

La scoperta dell'esistenza delle diverse isoforme dell'Apo(a) e della loro variabilità in una stessa popolazione, ha ampiamente chiarito le differenze cospicue di valori di Lp(a) e l'ampio range di deviazione dalla norma riscontrate nell'ambito di una determinata popolazione. Ciò crea grosse difficoltà nel momento in cui si vuole indagare circa le differenze esistenti tra soggetti affetti e non affetti da patologia.

Il gene dell'Apo(a) è situato sul braccio lungo del cromosoma 6 in posizione q2.6-q2.7 dove è situato anche il locus del plasminogeno⁸¹. L'Apo(a) e la sua sequenza di DNA complementare (cDNA) mostrano un alto livello di omologia con il plasminogeno. Tale regione omologa corrisponde ad una struttura dotata di attività proteasica rappresentata dai kringles i quali sono presenti in tutte le proteine coinvolte nel sistema fibrinolitico (t-PA, PAI-1, ecc)⁸⁵.

L'elettroforesi del gene dell'Apo(a) prelevato da diversi soggetti, evidenzia che le copie del gene dell' Apo(a) oltre a contenere da 13 a 40 kringles codificano per proteine con massa variabile tra 300.000 e 800.000 KDa^{79, 86}.

Si ritiene che la correlazione inversa tra la massa dell'Apo(a) ed i tassi circolanti di Lp(a) sia da imputare alla quantità di trascrizione genica o alla stabilità dell'mRNA codificante per l'Apo(a).

Studi condotti su coppie di gemelli ed analisi di linkage svolte su coppie di fratelli hanno svelato che i livelli di Lp(a) hanno una ereditabilità stimata intorno all'85% mentre

le variazioni plasmatiche della Lp(a) dipendono dal gene dell'Apo(a) per il 91%; di questo 91% di influenza genetica, gran parte è secondario alle variazioni di grandezza della regione del kringle IV, ed una piccola parte ad altre sequenze geniche⁸⁷.

Per quel che riguarda la relazione tra l'ipercolesterolemia familiare (FH), condizione caratterizzata da elevati livelli di LDL circolanti, secondaria ad una mutazione del recettore epatico per le LDL e quindi per l'ApoB, trasmessa in modo autosomico dominante, e i livelli di Lp(a) circolante, ad oggi non è del tutto chiara: infatti se da un lato la mutazione recettoriale non modifica i livelli circolanti di Lp(a), dall'altro è stato dimostrato da diversi studi che i portatori di FH, soprattutto quelli affetti da cardiopatia ischemica, hanno una tendenza a valori plasmatici di Lp(a) più elevati⁸⁸.

Effetto protrombotico della Lp(a)

E' stato individuato per la Lp(a) un ruolo pro-trombotico: sembra che l'Lp(a), attraverso un meccanismo di inibizione competitiva recettoriale, sia in grado di bloccare l'attivazione del plasminogeno ed aderendo alla fibrina si sostituisce nel legame per il plasminogeno.

Il legame preferenziale della Lp(a) (tramite la Apo(a)), con la fibrina fa sì che la Lp(a) si localizzi all'interno della placca aterosclerotica svolgendo attività proaterogena. Studi su topi transgenici che esprimono una forma di Apo(a) mutata con ridotta capacità legante la fibrina, dimostrano che tali topi hanno il 20% in meno di lesioni aterosclerotiche e un minor quantitativo di colesterolo accumulato nella parete arteriosa, rispetto a topi transgenici che esprimono il gene wild-type per la Lp(a)⁷⁹. Un'osservazione interessante è che le isoforme a basso p.m. aderiscono più facilmente alla fibrina ed inibiscono maggiormente l'attivazione del plasminogeno rispetto alle isoforme ad alto peso molecolare.

La fibrina ha un'alta affinità di legame, oltre che per l'Apo(a), anche per le LDL; è stato dimostrato in vitro, e confermato in numerosi esperimenti, che entrambe (LDL e Apo(a)) se presenti ad alte concentrazioni anche separatamente, annullano l'effetto dell'eparina aggiunta al mezzo, con conseguente blocco dell'effetto profibrinolitico dei costituenti eparan-solfato e glicosamminoglicani della parete arteriosa, attraverso un legame stabile con essi a livello della parete endoteliale.

Tuttavia l'Lp(a), in determinate condizioni, può, al contrario, svolgere un ruolo profibrinolitico interponendosi tra PAI-1 e t-PA, ritardando la coniugazione tra le due

proteine che avviene fisiologicamente in modo estremamente rapido, e di fatto bloccare la fibrinolisi in eccesso: ciò suggerisce che l'Lp(a) potrebbe avere svolto nell'evoluzione della specie un suo ruolo fisiologico.

Studi in vitro hanno dimostrato che l'Lp(a) può causare una riduzione della sintesi di plasmina con conseguente ridotta lisi del coagulo e promozione della trombosi²⁴.

Effetto proaterogeno della Lp(a)

Attraverso il legame con la fibrina l'Lp(a) ha elevatissima possibilità di penetrare all'interno della parete arteriosa fissandosi stabilmente ai costituenti di parete (GAG, eparan-solfato, ecc).

Un'altra modalità di penetrazione potrebbe avvenire attraverso i macrofagi. La Lp(a) ossidata viene riconosciuta dai recettori scavenger situati sui macrofagi e conseguentemente internalizzata. A conferma di ciò vi è l'identificazione di cospicui quantitativi di Lp(a) nelle strie lipidiche.

Walton fu il primo a descrivere una distribuzione di Apo(a) all'interno della parete arteriosa simile a quella dell'ApoB correlata con l'evoluzione del processo aterosclerotico⁸⁸.

Rath, 15 anni dopo, mostrò l'esistenza di una correlazione tra Apo(a) depositata su pareti aortiche e livelli circolanti di Lp(a), ed una co-localizzazione di Apo(a) e di ApoB nel compartimento extracellulare⁸⁹.

Successivamente Neindorf ebbe modo di confermare le medesime conclusioni anche a livello delle coronarie, descrivendo depositi di Apo(a) (soprattutto a livello extracellulare) direttamente proporzionali alla progressione e alla gravità del processo aterosclerotico⁹⁰.

A livello microscopico, negli stadi precoci della placca, è stata registrata la presenza di Apo(a) intracellulare negli strati endoteliali e subendoteliali; negli stadi tardivi e avanzati della placca, invece, l'Apo(a) è stata identificata in sede extracellulare. Ciò sembrerebbe suggerire che la presenza dell'Apo(a) nella lesione vasale è un evento precoce⁹¹.

I dati istopatologici illustrati sono molto interessanti, tuttavia non è del tutto chiaro se la presenza di Apo(a) nella parete arteriosa sia un fenomeno secondario o il Fattore scatenante la lesione aterosclerotica.

Uno dei momenti "aterogeni" della Lp(a) potrebbe tradursi nella stimolazione indiretta della proliferazione/migrazione delle cellule muscolari lisce dalla tonaca media all'intima⁹²; inoltre l'Apo(a) sarebbe in grado di bloccare la produzione del Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1) eludendo a sua volta l'inibizione della proliferazione delle cellule

muscolari lisce esercitata da quest'ultimo; tuttavia è possibile che in conseguenza di un danno vasale, nei soggetti con elevate concentrazioni plasmatiche di Lp(a), questa, all'interno della parete arteriosa, risponda in modo eccessivo alla reazione di difesa implementando la risposta infiammatoria e proliferativa, svolgendo un ruolo non più fisiologico ma proaterogeno e pro trombotico.

Si può affermare che la Lp(a) è in grado di amplificare le risposte infiammatorie e proloferative indotte da un danno vasale e di innescare meccanismi aterogeni e protrombotici in arterie cruciali per la irrorazione di distretti fondamentali quali il ctrcolo coronarico e cerebrale.

Lp(a) come Fattore di Rischio cardiovascolare

Nel lontano 1974 lo studioso Dahlen descrisse per la prima volta una stretta relazione tra concentrazioni plasmatiche elevate di Lp(a) e malattia coronarica⁹³.

Il dato fu confermato da due metanalisi basate su studi retrospettivi e prospettici (109,115,116).

Kostner e Avogaro evidenziarono che soggetti normolipemici ma con concentrazioni ematiche di Lp(a) al di sopra di 30 mg/dl, presentavano un Rischio di CHD 1.75 volte di più rispetto a soggetti con valori inferiori⁹⁴.

Una recente indagine riporta che l'associazione Lp(a) e Rischio cardiovascolare non dipende significativamente da altri Fattori di Rischio come i livelli plasmatici di LDL-C^{24, 95}.

Gli studi successivi hanno confermato differenze significative di Lp(a) tra soggetti sani e soggetti con CHD (IMA, angina stabile ed instabile, progressione angiografica della malattia coronarica, e pazienti sottoposti a PTCA o bypass coronarico); inoltre la Lp(a) avrebbe un valore predittivo di restenosi in soggetti sottoposti a PTCA⁹⁶.

Uno studio asiatico ha messo in relazione elevati livelli plasmatici di Lp(a) con eventi cardiaci avversi post-IMA. Sembrerebbe che un'implementazione di Lp(a) plasmatiche sia responsabile, in parte, di un outcome post-IMA peggiore nei pazienti con alta classe di Killip (III e IV)⁹⁷.

Utermann fu uno dei primi a studiare la relazione tra fenotipi dell'Apo(a) e concentrazioni plasmatiche di Lp(a) in soggetti con IMA. Egli riscontrò, studiando pazienti appartenenti a sei popolazioni etnicamente differenti che le isoforme a basso p.m. (B, S1, S2) e quindi con livelli più alti di lipoproteina, erano maggiormente riscontrabili nei pazienti che nei gruppo di controllo⁹⁸.

Tuttavia si notò successivamente che anche le isoforme ad alto p.m. erano più frequenti nei pazienti con IMA, suggerendo che giocano un ruolo clinico rilevante alti valori di Lp(a) e non il tipo di isoforme che presenta il soggetto, anche se poi gran parte delle variazioni ematiche della proteina sono sotto il controllo allelico del locus genetico dell'Apo(a).

Il fenotipo dell'Apo(a) sarebbe inoltre un predittore di CHD assai significativo e indipendente dai valori di LDL-C e HDL-C.

Uno studio che ha coinvolto 115 soggetti di nazionalità britannica, eterozigoti per FH, ha dimostrato che i valori di Lp(a) erano più alti rispetto ai controlli, ma decisamente più elevati nei pazienti con concomitante CHD, e l'analisi multivariata vide nella Lp(a) un Fattore discriminante indipendente tra i due gruppi di pazienti con FH con e senza CHD⁸⁸.

Sono stati condotti, fino al 1996, 12 studi prospettici sulla relazione esistente tra Lp(a) e CHD: solo tre hanno dato esito negativo, ovvero l'Helsinki Heart Study (HHS), lo studio Finlandese e lo Harward Physicians Health Study (HPHS)^{99,100,101}.

Tra gli altri nove trials con esito positivo quelli di Rosengreen et Al. e di Cressmann et Al. sono stati condotti su una casistica piccola, mentre altri due su una casistica ampia^{102,103}.

Nei restanti cinque studi^{104,105} la Lp(a) si è mostrata predittiva nei confronti di patologie coronariche, in 471 casi di cui 174 di sesso femminile, rispetto agli 11612 controlli senza evento, di cui 2679 femmine, osservate per un periodo che va da 7 a 14 anni.

Due ricerche svoltesi a Framingham^{105, 106} hanno osservato le femmine già citate e 2320 maschi; nel campione maschile 2191 erano soggetti sani senza eventi cardiovascolari e 129 affetti da CHD. Questi ultimi hanno mostrato all'analisi multivariata una Lp(a) con un indice di Rischio relativo di 1.9 simile a quello riscontrato per il colesterolo totale, l'LDL-C e l'HDL-C.

Interessante è stato lo studio recentemente pubblicato tratto dallo Stanford Five-City Project del 1978: studio prospettico caso-controllo su 134 coppie di soggetti (90 maschi, 44 femmine) in cui si era verificato(casi) o non si era verificato(controlli) un episodio di CHD che analizza, fra le altre variabili, la Lp(a) e le isoforme dell'Lp(a)¹⁰⁷. La mediana dei valori di Lp(a) era doppia nei soggetti maschi con CHD rispetto ai controlli, più alta, ma non significativa, nelle femmine e restava significativa nei confronti di tutti gli altri fattori di Rischio cardiovascolare ed anche dal tipo di isotorma di Apo(a).

Da uno studio del '95 sembrerebbe che elevati livelli di Lp(a), in soggetti a basso Rischio cardiovascolare, clinicamente sani e con coronarie angiograficamente indenni, determinerebbero disfunzione endoteliale. Tuttavia, dal momento che il 50% dei soggetti presi in esame era dedito al tabagismo, sarebbero opportune ulteriori indagini¹⁰⁸.

Non è del tutto chiaro se l'azione aterogena e protrombotica della Lp(a) sia dipendente o meno dalla concomitante ipercolesterolemia LDL; il gruppo di Milano del Prof. Sirtori¹⁰⁹ propende per la prima ipotesi; infatti tale equipe ha rilevato un ispessimento delle pareti carotidee nei pazienti con grave ipercolesterolemia non evidenziandolo nei soggetti normolipemici o lievemente ipercolesterolemici.

Concludendo pertanto, non ci sentiamo di affermare che la riduzione dei tassi ematici di Lp(a) in soggetti ad alto Rischio corra parallelamente ad una ridotta probabilità di sviluppo di eventi cardiovascolari, incluso stroke e arteriopatia obliterante.

Relativamente alla genetica della Lp(a), alcuni studi⁸ hanno messo in evidenza una relazione tra polimorfismi del gene LPA (mappato sul cromosoma 6) ed aterosclerosi.

Per quanto riguarda il gene LPA due sarebbero i polimorfismi associati al Rischio di malattia aterosclerotica coronarica: rs3798220 e rs10455872. Il primo SNP può dar luogo a due alleli: C o T, ma verosimilmente l'allele C sarebbe quello associato al Rischio coronarico. Il secondo può dar luogo agli alleli A o G. In questo caso invece sarebbe l'allele G quello associato al Rischio.

POLIMORFISMI DEL CROMOSOMA 9p21 E MALATTIA CORONARICA

Da indagini sull'intero genoma e malattia coronarica emerge una significativa correlazione tra alcuni polimorfismi e lo sviluppo di malattia aterosclerotica coronarica e delle sue complicanze.

Le varianti genetiche, così individuate rappresenterebbero un nuovo Fattore di Rischio per lo sviluppo di SCA.

Un aumento del rischio di coronaropatia del 30-40% nei soggetti omozigoti¹¹⁰ è stato messo in relazione a due polimorfismi del cromosoma 9p21 (rs10757274 e rs2383206), mentre l'aumento del Rischio di IMA è stato associato ad un altro polimorfismo (rs10757274) del cromosoma 9p21¹¹¹. Il polimorfismo rs1333049 comporta un aumentato rischio di coronaropatia in due differenti popolazioni⁶. Il Bruneck Study, attraverso uno studio prospettico di popolazione, ha messo in relazione il polimorfismo rs1333049 con lo sviluppo e la progressione della malattia aterosclerotica carotidea⁷.

La relazione tra il polimorfismo rs1333049 sul cromosoma 9p21 ed il rischio di coronaropatia e stroke trova conferma in uno studio rivolto ad una popolazione di più di 5000 pazienti tra cui finlandesi, svedesi, francesi ed irlandesi¹¹². Del tutto sovrapponibili sono i risultati delle indagini che hanno coinvolto campioni di popolazione giapponese¹¹³.

Una metanalisi, condotta su 7 studi, 12000 casi e più di 28000 controlli ha confermato l'associazione tra allele C del SNP rs1333049 ed il rischio di coronaropatia¹¹⁴. Ad oggi non sono stati identificati tutti i geni presenti in questa regione genomica, tuttavia in prossimità di questa sono stati localizzati due geni, CDKN2A e CDKN2B, i quali risultano essere regolatori della proliferazione, dell'invecchiamento e dell'apoptosi cellulare. Sembrerebbe che i geni in questione siano in grado di influenzare lo sviluppo e la progressione dell'aterosclerosi attraverso la proliferazione di cellule vascolari e loro apoptosi. Per quanto riguarda il cromosoma 9p21, sembrerebbe che l'allele C del polimorfismo rs1333049 sia quello associato al rischio coronarico.

LO STUDIO

Scopo dello studio

L'aterosclerosi, e in particolare la CHD, costituisce la prima causa di mortalità e morbilità nel mondo ed in particolare nei paesi industrializzati a medio e alto reddito (dati WHO), con notevoli ripercussioni nella spesa sanitaria.

Questo studio prende avvio dalla consapevolezza che lo sviluppo del processo aterosclerotico e la sua espressione clinica sono condizionati dall'interazione tra Fattori di Rischio acquisiti e Fattori genetici. Tale consapevolezza deriva dall'osservazione dei dati presenti in letteratura che hanno identificato tutta una serie di geni che possono rappresentare elementi causali oppure essere in grado di aumentare la suscettibilità all'aterosclerosi (16,17,120 tesi).

E' su questa via che si colloca questo studio osservazionale che si propone di valutare l'associazione fra SCA e polimorfismi del gene LPA, codificante per la Lp(a), e del cromosoma 9p21 - che sono già stati associati in vari studi allo sviluppo e alla progressione della malattia aterosclerotica coronarica^{5, 6, 7, 8} – per confronto con una meno grave manifestazione dell'aterosclerosi coronarica, rappresentata dall'angina stabile.

Obiettivo primario è stato quello di valutare la presenza di Fattori genetici verosimilmente associati alla presenza di SCA e quindi di più severa e complicata aterosclerosi coronarica. Inoltre si è voluto verificare l'ipotesi che gli stessi Fattori possano essere correlati all'estensione e alla progressione della malattia aterosclerotica coronarica e che quindi esista, indipendentemente dai Fattori di Rischio tradizionali, una predisposizione genetica.

La conoscenza di questi Fattori Genetici potrà essere utile nella stratificazione del Rischio coronarico e quindi negli interventi di prevenzione e di programmazione di una terapia mirata ed individualizzata. Inoltre, la conoscenza dei meccanismi genetico-molecolari può aprire la strada allo sviluppo di nuove terapie farmacologiche che potrebbero ridurre il Rischio Cardiovascolare Residuo

Pazienti, materiali e metodi

Pazienti, caratteristiche demografiche e cliniche

I pazienti arruolati nello studio sono soggetti con sindrome coronarica acuta (UA/NSTEMI o STEMI) o angina stabile sottoposti a coronarografia che ha messo in evidenza malattia critica di almeno un vaso coronarico. I casi sono pazienti ricoverati per SCA e/o all'anamnesi presentavano almeno un episodio di SCA. I controlli sono pazienti ricoverati per angina stabile e/o che avevano una storia clinica caratterizzata da episodi di angina stabile. Nell'ambito dei pazienti studiati è stato individuato un gruppo di soggetti più volte sottoposti a coronarografia e ad interventi di rivascolarizzazione miocardica per cui è stato possibile valutare la progressione o meno della malattia aterosclerotica coronarica.

I pazienti erano ricoverati presso l'Unità Operativa Complessa di Cardiologia del Policlinico Universitario Paolo Giaccone di Palermo, diretta dal professore Salvatore Novo.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad indagine anamnestica al fine di valutare caratteristiche demografiche (età e sesso), i fattori di Rischio cardiovascolare (ipertensione arteriosa, diabete mellito, dislipidemia, abitudine al fumo, familiarità per malattie cardiovascolari, obesità).

Sono state valutate le seguenti variabili di laboratorio: colesterolo totale (CT), colesterolo-HDL (HDL-C), colesterolo-LDL (LDL-C) e trigliceridi. La presenza di ipercolesterolemia è stata definita dal riscontro di livelli plasmatici di CT superiori a 200 mg/dl o valori di LDL-C superiori a 160 mg/dl, o dal dichiarato trattamento farmacologico con statine da parte del paziente.

La storia di diabete mellito è stata diagnosticata per valori di glicemia a digiuno di 126 mg/dl o dal trattamento dichiarato con ipoglicemizzanti orali o insulina.

I pazienti sono stati inoltre sottoposti ad esame fisico con misurazioni della pressione arteriosa in posizione seduta, con rilevazione del peso corporeo e dell'altezza. Dai dati ottenuti dal suddetto esame è stato calcolato l'indice di massa corporea ($BMI = \text{peso corporeo in kg} / \text{altezza in m}^2$) e valutato il Fattore di Rischio ipertensione (pressione arteriosa omerale sistolica $>$ di 140 mmHg e/o diastolica $>$ 90 mmHg, o uso di farmaci antiipertensivi).

L'anamnesi, l'elettrocardiogramma e la valutazione qualitativa e quantitativa degli angiogrammi per diagnosticare e selezionare i casi di SCA o angina stabile, al fine di

arruolare pazienti funzionali all'indagine, sono stati effettuati dallo staff medico del Laboratorio di Emodinamica del suddetto Reparto di Cardiologia.

Studio dei polimorfismi genetici

Il DNA è stato isolato da sangue intero in EDTA, utilizzando un kit commerciale per estrazione (Puregene, Gentra Systems, Inc., Minneapolis, USA) e quantificato mediante la lettura spettrofotometrica a 260 nm. Mediante Real Time-PCR sono stati studiati i *single-nucleotide* polymorphisms (SNPs) rs1333049 per il cromosoma 9p/21, e i SNPs rs3798220 e rs10455872 per il gene LPA (mappato sul cromosoma 6) con la sonda TaqMan (Applied Biosystem) i cui rispettivi codici sono i seguenti: c_1754666_10, c_25930271_10, c_30016089_10. La discriminazione allelica per ogni SNP è stata valutata simultaneamente utilizzando una coppia di primer ed una coppia di sonde marcate con due differenti fluoro cromi. Le amplificazioni sono state realizzate utilizzando lo strumento Step One Real Time PCR System (Applied Biosystem). Il ciclo di amplificazione è stato eseguito utilizzando il presente protocollo: un'incubazione a 60°C per 30" (pre-PCR Read), 95°C per 10' per l'attivazione dell'AmpliTaq Gold Polimerasi e 40 cicli costituiti ciascuno da due fasi: una denaturazione a 92°C per 15" ed una fase di annealing-estensione a 60°C per 1'. Segue una fase di Post-PCR Read di 60°C per 30". Alla fine dell'amplificazione la fluorescenza di ciascun campione è stata scomposta nelle due componenti FAM e VIC. I risultati sono stati analizzati utilizzando il software STEPONE SOFTWARE 2.0.

Analisi statistiche

I valori sono espressi come media \pm deviazione standard per le variabili continui e come frequenze per le variabili dicotomiche.

L'eventuale presenza di un'associazione per le variabili continue è stata verificata con il test di ANOVA, mentre per le variabili dicotomiche con il test Chi-quadro e/o con il test di Fisher. Sono stati considerati significativi valori di probabilità inferiori a 0.05. Tutte le analisi statistiche sono state fatte utilizzando il programma Epi Info versione 3.5.1.

Risultati

Sono stati arruolati 576 pazienti: 482 hanno avuto almeno un episodio di SCA (di questi 180 almeno uno STEMI, 302 UA/NSTEMI) e 94 avevano un'anamnesi positiva per angina stabile (tabella 3).

Caratteristiche demografiche, cliniche e fattori di Rischio cardiovascolare.

Le caratteristiche demografiche e cliniche e i fattori di Rischio cardiovascolare dei pazienti arruolati sono presentate nella tabella 3.

Abbiamo analizzato e confrontato i fattori di Rischio, le caratteristiche cliniche e demografiche nel gruppo dei pazienti con SCA ed in quelli con angina stabile (tabella 4).

Il confronto ha messo in evidenza che relativamente ai fattori di Rischio cardiovascolare, l'ipertensione era significativamente più rappresentata nei soggetti con angina stabile rispetto ai pazienti con SCA (87.2% vs 79.5%, $p=0.05$, tabella 4).

Al contrario il tabagismo è maggiormente rappresentato nei soggetti con SCA rispetto ai controlli con angina stabile (34.6% vs 21.3 %, $p=0.006$, tabella 4).

Per quanto riguarda le caratteristiche demografiche, è emerso che i soggetti che sviluppavano angina stabile avevano un'età media maggiore rispetto ai soggetti che sviluppavano una SCA (64 ± 9.6 anni vs 60.3 ± 11.5 anni; $p=0.003$, tabella 4), così come in questi ultimi è maggiore la percentuale di soggetti con esordio di malattia precoce, cioè prima di 45 anni (9.1% vs 2.1%, $p=0.011$, tabella 4).

Dal punto di vista clinico nel gruppo dei soggetti con SCA è risultata significativamente superiore la percentuale di pazienti con frazione di eiezione (FE) $<45\%$, rispetto al gruppo di pazienti con angina stabile (21.2% vs 6.8%, $p=0.001$, tabella 4).

I dati al follow-up sono relativi al 312 pazienti, per i quali un follow-up medio di 71.8 mesi \pm 57; il range si estende da un'osservazione minima di un mese ad una massima di 300 mesi (25 anni) con una mediana di 59 mesi di osservazione.

La progressione della malattia aterosclerotica si è verificata in 201 pazienti, ovvero il 64.4% circa della popolazione presa in esame al follow-up.

I pazienti con storia clinica di angina stabile hanno un minore rischio di progressione della malattia aterosclerotica rispetto a quelli con SCA (46.2% vs 67%, $p=0.009$, tabella 5).

Relativamente alle caratteristiche demografiche il sesso non sembra influenzare la progressione della malattia aterosclerotica, mentre un'età media di esordio della malattia più giovane (57.2 ± 10.2 anni vs 60.5 ± 10.8 , $p=0.008$) o inferiore a 45 anni (12.4% vs 4.5%, $p=0.01$) si associa in modo statisticamente significativo ad una progressione della malattia aterosclerotica (tabella 5).

Per quanto riguarda le caratteristiche cliniche una peggiore FE del ventricolo sinistro non si associa ad una progressione della malattia aterosclerotica (tabella 5).

Nell'ambito dei fattori di Rischio cardiovascolare, solamente il tabagismo era associato ad un maggiore rischio di evoluzione della malattia aterosclerotica al follow-up (31.3% vs 18.9%, $p=0.01$, tabella 5).

Distribuzione genotipica ed allelica dei polimorfismi del gene LPA e del cromosoma 9p21

I risultati della genotipizzazione del polimorfismo rs1333049 del locus 9p21 sono relativi a 542 pazienti. Di questi, 176 (32.5%) mostravano un genotipo CC, 272 (50.2%) un genotipo CG, mentre l'omozigosi GG era presente in 94 (17.3%) pazienti. La frequenza dell'allele C, associato in vari studi alla malattia aterosclerotica, era invece del 57%. Tale frequenza è superiore a quella riportata negli stessi studi nella popolazione di controllo (tabella 6).

Il confronto della distribuzione genotipica del SNP rs 1333049 nei soggetti con SCA ($n=454$) e con angina stabile ($n=88$), così come quello con malattia monovasale ($n=152$) e multi vasale ($n=390$), nonché quello tra soggetti con età di esordio maggiore o minore di 45 anni, non ha mostrato significatività statistica (tabella 7). Il confronto della frequenza allelica nei medesimi gruppi (SCA vs angina stabile, malattia monovasale vs malattia multi vasale, età di esordio < 45 anni vs età di esordio > 45 anni) non ha evidenziato differenze statisticamente significative. Tuttavia vi era un trend che evidenziava una maggiore frequenza dell'allele C nei soggetti con SCA, malattia multivasale ed età di esordio della malattia aterosclerotica < 45 anni (tabella 7).

Dei 312 pazienti con follow-up, la genotipizzazione del SNP rs1333049 è stata effettuata su 301 pazienti. Il 34.2% (n=103) dei soggetti mostrava un'omozigosi CC, il 52.2% (n=157) mostrava un genotipo eterozigota CG, mentre il 13.6% (n=41), mostrava un'omozigosi GG.

Non vi era differenza nella distribuzione genotipica in relazione alla progressione della malattia aterosclerotica (tabella 7). Tuttavia l'allele C è risultato più rappresentato nel gruppo dei soggetti con progressione della malattia aterosclerotica al follow up (61.7% vs 57.8%, tabella 7), anche se tale differenza non è risultata statisticamente significativa.

L'analisi dei polimorfismi rs3798220 ed rs10455872 relativi al gene LPA ha messo in evidenza una frequenza degli alleli di Rischio C e G, rispettivamente dell'1.4% e del 5.2% (tabella 8).

Il confronto della distribuzione genotipica e della frequenza allelica nei due SNPs in esame, stratificato in base al tipo di evento clinico, al numero di vasi coinvolti, nonché all'età di esordio di malattia, non ha evidenziato differenze statisticamente significative. Tuttavia l'allele C del SNP rs3798220 era più rappresentato nei soggetti con angina stabile rispetto a quelli con SCA (tabella 9) mentre relativamente al SPN rs10455872 l'allele G era più rappresentato nei soggetti con età >45 anni, SCA e malattia monovasale, sebbene in entrambi i casi in maniera statisticamente non significativa (tabella 10).

Discussione

I dati emersi da questo studio confermano almeno in parte i dati presenti in letteratura. Sono emerse infatti associazioni oggetto di indagine di recenti studi presenti in letteratura che risultano interessanti per prospettive future e meritevoli di ulteriore approfondimento.

Per quanto riguarda le caratteristiche demografiche e le caratteristiche cliniche, nel confronto tra il gruppo dei pazienti con SCA e il gruppo dei pazienti con angina stabile sono emerse le seguenti differenze statisticamente significative (tabella 4):

- I pazienti con angina stabile avevano una età media maggiore, nonché un'età di esordio più tardiva rispetto ai pazienti con SCA ($p = 0.003$; tabella 4). Ciò è comprensibile, poiché l'angina stabile è una patologia che ha sviluppo e progressione cronica e riflette l'azione nel tempo dei Fattori di Rischio, che con l'età hanno una maggiore prevalenza.

- I pazienti con angina stabile inoltre avevano una maggiore prevalenza di ipertensione arteriosa, che è un Fattore di Rischio, che agisce determinando un aumento della tensione di parete (shear stress) provocata dal flusso sanguigno e una condizione di ipossia della parete arteriosa, con danno endoteliale organico, ma soprattutto funzionale, e conseguente aumento della permeabilità cellulare, primi moventi del processo aterosclerotico. Tali meccanismi agiscono lentamente negli anni e favoriscono una lenta progressione della malattia aterosclerotica, piuttosto che un'acuta instabilizzazione di placca come avviene nelle SCA.

- Nei pazienti con SCA, oltre ad un'età media inferiore e a un'epoca di esordio della malattia più precoce, si è riscontrata, tra i Fattori di Rischio, una maggiore prevalenza di tabagismo ($p = 0.006$; tabella 4). Il fumo di sigaretta, infatti, attraverso la nicotina e l'ossido di carbonio, favorisce lo spasmo coronarico, l'aumento dell'aggregabilità piastrinica con conseguente trombosi vascolare, l'attivazione del sistema simpatico adrenergico con aumento della frequenza cardiaca, del lavoro cardiaco e quindi del consumo miocardico di ossigeno, che sono tutti meccanismi che favoriscono la complicazione acuta della placca che sta alla base della SCA.

- Inoltre tra i pazienti con SCA si è riscontrata una percentuale di frazione di eiezione (FE) del ventricolo sinistro $< 45\%$ significativamente superiore rispetto ai soggetti con angina stabile ($p = 0.001$, tabella 4). Anche ciò è facilmente comprensibile se si pensa che

nelle SCA sono compresi i casi di IMA, NSTEMI o STEMI che sia, che comporta necrosi dei miocardiociti e quindi riduzione della massa miocardica vitale ed efficiente.

Come precedentemente accennato tra i pazienti arruolati nel nostro studio, 312 sono stati seguiti in un follow-up medio di 71.8 mesi. Durante questo periodo di follow-up è stata valutata la progressione della malattia aterosclerotica, evidenziata dalla presenza di nuove stenosi coronariche in successive coronarografie.

- Si è osservato che la progressione della malattia aterosclerotica è risultata essere associata in maniera statisticamente significativa con le SCA (tabella 5). Probabilmente ciò è dovuto al fatto che i pazienti con angina stabile hanno una lenta progressione di malattia aterosclerotica con sistemi di stabilizzazione di placca più efficienti rispetto ai soggetti che vanno incontro a SCA. Questi ultimi, per tale motivo, sono esposti ad instabilità della placca e alle conseguenti complicanze della stessa, con una conseguente una più rapida progressione di malattia.

- Relativamente alle caratteristiche demografiche, il sesso non sembra influenzare la progressione della malattia aterosclerotica, mentre un'età di esordio di malattia inferiore a 45 anni è associata in maniera statisticamente significativa ad una progressione dell'aterosclerosi ($p = 0.01$; tabella 5). Questi dati non stupiscono in considerazione del fatto che un'età precoce di insorgenza della malattia riflette una progressione accelerata della malattia aterosclerotica.

- Nell'ambito dei Fattori di Rischio cardiovascolare (tabella 5) solamente il tabagismo era associato ad un maggiore rischio di evoluzione della malattia aterosclerotica al follow-up. Ciò non stupisce considerando che il monossido di carbonio agisce con meccanismo duale: azione tossica diretta, ovvero inducendo disfunzione endoteliale e alterando la permeabilità dell'endotelio, *primum movens* del processo aterosclerotico, ed azione tossica indiretta inducendo uno stato di ipossia nella parete arteriosa dovuta alla produzione di carbossiemoglobina. Ancora una volta il fumo di sigarette si configura come uno dei più rischiosi Fattori di Rischio.

Relativamente all'analisi genetica va sottolineato che, né la distribuzione genotipica né tantomeno la frequenza allelica dei polimorfismi presi in esame, hanno evidenziato delle differenze statisticamente significative. Tuttavia sono emersi dei trend che oltre a confermare parzialmente i dati della letteratura risultano essere meritevoli di approfondimento.

Limite di questo studio, inoltre, è quello di non avere una popolazione di controllo senza malattia coronarica, per cui il confronto dell'analisi statistica è stato effettuato tra pazienti con sindromi acute e croniche, ma che comunque hanno in comune la stessa patologia aterosclerotica.

A tal proposito, relativamente al polimorfismo rs1333049 del locus 9p21 è stata confrontata la frequenza dell'allele malattia (C) nella popolazione studiata con quella di popolazioni di controllo, costituita da soggetti senza malattia coronaria, di diversi studi e questa è risultata essere del 57% contro valori che oscillano tra il 43.4% e il 48% dei pazienti sani dei suddetti studi (tabella 6).

Tutto ciò conferma il ruolo dell'allele C nella malattia aterosclerotica. Per di più i trend emersi dall'analisi dei sottogruppi della nostra esperienza sembrano confermare il ruolo dell'allele C: questo infatti era più rappresentato, anche se in maniera statisticamente non significativa, nei pazienti con SCA, età di esordio di malattia aterosclerotica più precoce e progressione della malattia al follow-up.

Tutti questi dati non appaiono statisticamente significativi per il fatto che i controlli hanno comunque una malattia aterosclerotica, seppur una forma meno aggressiva (angina stabile, malattia monovasale, età di esordio tardiva).

Anche relativamente ai polimorfismi rs3798220 ed rs10455872 del gene LPA non emergono dati statisticamente significativi. La prevalenza degli alleli malattia (C e G rispettivamente) risulta essere molto bassa sia nella nostra popolazione sia nei controlli sani di altri studi (tabella 8). Quindi in uno studio con una piccola dimensione campionaria (soltanto 280 pazienti tipizzati per LPA) è difficile che emergano dei trend ed ancor più differenze statisticamente significative.

Relativamente al polimorfismo rs3798229 è emerso un trend che correla l'allele malattia C con l'angina stabile (tabella 9), mentre per il polimorfismo rs10455872 l'allele malattia G era più frequente nei soggetti con SCA, malattia monovasale ed età di esordio >45 anni (tabella 10).

Tuttavia il limite maggiore sembra essere legato al fatto che i controlli nella nostra popolazione sono sempre rappresentati da pazienti con malattia aterosclerotica e questo, in associazione con una bassa prevalenza dell'allele malattia, rende più difficile l'interpretazione di questi dati. Rimane comunque l'assunto che gli stessi polimorfismi si associavano con un aumentato rischio di coronaropatia aterosclerotica quando confrontati con popolazioni di controllo senza malattia aterosclerotica⁸.

Conclusioni

Tra i Fattori di Rischio cardiovascolare e le caratteristiche demografiche, tabagismo e un'età più precoce di esordio di malattia, risultano essere associati alle Sindromi Coronariche Acute, mentre l'ipertensione arteriosa si associa con l'angina stabile.

Un'anamnesi positiva per SCA ed un'età di esordio più precoce si associano ad un rischio di progressione di malattia aterosclerotica al follow-up.

Relativamente alla predisposizione genetica il polimorfismo rs1333049 del cromosoma 9p21 si conferma essere un allele di suscettibilità per la malattia aterosclerotica coronarica. Dal questo studio è infatti emersa una frequenza dell'allele malattia più alta rispetto al gruppo dei controlli di diversi studi.

Per il suddetto polimorfismo molti dati non hanno raggiunto la significatività statistica, anche se sono emersi dei trend interessanti per quanto riguarda l'associazione con le Sindromi Coronariche Acute, l'estensione della coronaropatia (malattia multivasale), l'età di esordio dell'evento clinico (<45 anni) e la progressione aterosclerotica.

L'analisi del polimorfismo rs3798220 del gene LP A ha evidenziato che il relativo allele di rischio non influisce sull'estensione della malattia aterosclerotica coronarica, ma verosimilmente ha mostrato dei trend circa la tipologia di evento clinico (angina stabile).

Infine, relativamente al polimorfismo rs10455872 del gene LPA, è emerso un trend di associazione dell'allele di rischio con l'estensione della malattia aterosclerotica (malattia monovasale), il tipo di evento clinico (Sindrome Coronarica Acuta) e l'età di esordio (>45 anni).

Tabelle

Tabella 1: I Fattori di Rischio di malattie cardiovascolari

FATTORI DI RISCHIO TRADIZIONALI	FATTORI DI RISCHIO EMERGENTI
<p><u>NON MODIFICABILI:</u></p> <p><i>Età</i> <i>Sesso</i> <i>Familiarità e predisposizione genetica</i> <i>Caratteristiche etniche</i></p> <p><u>MODIFICABILI:</u></p> <p><i>Iperensione arteriosa</i> <i>Ipercolesterolemia</i> <i>Bassi livelli di HDL-colesterolo</i> <i>Diabete mellito</i> <i>Fumo di sigarette</i> <i>Sovrappeso-Obesità</i> <i>Inattività fisica</i> <i>Ipertrigliceridemia</i> <i>Fattori psicosociali e comportamentali</i></p>	<p><i>Sindrome Metabolica</i> <i>Lp(a)</i> <i>LDL piccole e dense</i> <i>Remnants e Lipoproteine a densità intermedia</i> <i>LDL ossidate</i> <i>Fattori infiammatori</i> <i>Iperomocisteinemia</i> <i>Microalbuminuria</i> <i>Fattori protrombotici e coagulativi</i> <i>Fattori infettivi</i> <i>Alcool</i></p>

Tabella 2. Criteri di sindrome metabolica ATPIII e IDF: La diagnosi di sindrome metabolica si può porre quando almeno 3 dei fattori elencati sono presenti contemporaneamente.

	ATPIII	IDF
Obesità addominale (circonferenza vita)		Obbligatoria
Uomini	> 102 cm	≥ 94 cm
Donne	> 88 cm	> 80 cm
Trigliceridi	≥ 150 mg/dl	≥ 150 mg/dl
HDL		
Uomini	< 40 mg/dl	< 40 mg/dl
Donne	< 50 mg/dl	< 50 mg/dl
Pressione arteriosa	≥130/ ≥ 85 mmHg	≥130/ ≥ 85 mmHg
Glicemia	≥110 mg/dl	≥100 mg/dl

Tabella 3. Popolazione generale: caratteristiche demografiche e cliniche.

POPOLAZIONE GENERALE	n=576
<i>Angina Stabile, n(%)</i>	94(16.3)
<i>SCA, n(%)</i>	482 (83.7)
<i>STEMI, n(%)</i>	180 (31.3)
<i>UA/NSTEMI, n(%)</i>	302(52.4)
<i>Uomini/Donne, n (%)</i>	447/129 (77.6/22.4)
<i>Età, anni (M ± DS)</i>	61 ± 11.3
<i>Età < 45 anni, n(%)</i>	46(8)
<i>FE, % (M ± DS)</i>	52 ± 9
<i>FE<45%, n(%)</i>	89(15.5)
<i>Malattia monovasale, n(%)</i>	160(27.8)
<i>Malattia bivasale, n(%)</i>	192(33.3)
<i>Malattia trivasale, n(%)</i>	224(38.9)
<i>Ipertensione arteriosa, n(%)</i>	465(80.7)
<i>Diabete Mellito, n(%)</i>	221(38.4)
<i>Dislipidemia, n(%)</i>	322(56)
<i>Tabagismo, n(%)</i>	187(32.5)
<i>Familiarità per CHD, n(%)</i>	256(44.4)
<i>BMI ≥ 30 kg/m², n(%)</i>	148(25.7)

Tabella 4. Caratteristiche demografiche e cliniche e fattori di Rischio cardiovascolare nei pazienti con SCA ed Angina Stabile.

	SCA <i>n=482; 83.7%</i>	ANGINA STABILE <i>n=94; 16.3</i>	<i>p</i>
<i>Donne, n(%)</i>	106(22)	23(24.5)	N.S.
<i>Età, anni (M ± DS)</i>	60.3 ± 11.5	64 ± 9.6	0.003 #
<i>Età > 65 anni, n(%)</i>	170 (35.3)	47 (50)	0.005*
<i>Età < 45 anni, n(%)</i>	44 (9.1)	2 (2.1)	0.011*
<i>Malattia monovasale, n(%)</i>	129 (26.8)	31 (33)	N.S.
<i>FE, % (M ± DS) ♦</i>	51 ± 9.3	56.3 ± 7.1	0.0001 #
<i>FE<45%, n(%) ♦</i>	84 (21.2)	5 (6.8)	0.001 *
<i>Ipertensione arteriosa, n(%)</i>	383 (79.5)	82 (87.2)	0.05*
<i>Diabete Mellito, n(%)</i>	181 (37.6)	40 (42.6)	N.S.
<i>Dislipidemia, n(%)</i>	265 (55)	57 (60.6)	N.S.
<i>Familiarità per CHD, n(%)</i>	211 (43.8)	45 (47.9)	N.S.
<i>BMI, kg/m² (M ± DS) ●</i>	28.0 ± 4.5	28.3 ± 3.4	N.S.
<i>BMI ≥ 30 kg/m², n(%) ●</i>	106 (25.7)	22 (26.5)	N.S.
<i>Tabagismo, n(%)</i>	167 (34.6)	20 (21.3)	0.006*
<i>>3 F.d.r. CV, n(%)</i>	286 (59.3)	59 (62.8)	N.S.

*=Test di Fisher, #=Test di ANOVA, ♦=dati relativi a 470 pazienti, ●=dati relativi a 495 pazienti.

Tabella 5. Progressione della malattia aterosclerotica (ATS) al follow up in relazione alle caratteristiche demografiche e cliniche.

Dati su 312 pazienti: 39 (12.5%) con Angina Stabile; 273 (87.5%) con SCA.

Follow-up medio: 71.8 ±57 mesi (range 1-300 mesi).

	<i>Progressione ATS SI</i>	<i>Progressione ATS NO</i>	<i>p</i>
<i>Angina Stabile, n (%)</i>	18 (46.2)	21 (53.8)	<u>0.009</u> *
<i>SCA, n (%)</i>	<u>183 (67)</u>	90 (12.5)	
<i>Donne, n (%)</i>	33 (16.4)	27 (24.3)	N.S.
<i>Età, anni (M ± DS)</i>	<u>57.2 ± 10.2</u>	60.5 ± 10.8	<u>0.008</u> #
<i>Età < 45 anni, n (%)</i>	<u>25 (12.4)</u>	5 (4.5)	<u>0.01</u> *
<i>FE, % (M ± DS) ♦</i>	52.3 ± 8.9	51.4 ± 10.3	N.S.
<i>Ipertensione arteriosa, n(%)</i>	179 (89.1)	94(84.7)	N.S.
<i>Diabete Mellito, n(%)</i>	77 (38.3)	49 (44.1)	N.S.
<i>Dislipidemia, n(%)</i>	139 (69.2)	70 (63.1)	N.S.
<i>Familiarità per CHD, n(%)</i>	101 (50.2)	54 (48.6)	N.S.
<i>BMI, kg/m² (M ± DS) ●</i>	28.8 ± 4.3	28 ± 4.2	N.S.
<i>BMI ≥ 30 kg/m², n(%) ●</i>	59 (32.1)	30 (30)	N.S.
<i>Tabagismo, n(%)</i>	<u>63 (31.3)</u>	21 (18.9)	<u>0.01</u> *
<i>>3 F.d.r. CV, n(%)</i>	142 (70.6)	72 (64.9)	N.S.

*= Test di Fisher, # =Test di ANOVA, ♦=dati relativi a 271 pazienti, ●=dati relativi a 284 pazienti.

Tabella 6. Frequenza dell'allele C del polimorfismo rs1333049 del locus 9p21 in differenti popolazioni.

	<i>Popolazione</i>	<i>Allele C %</i>
<i>WTCCC*</i>	Controlli	47
<i>German MI*</i>	Controlli	48
<i>Bruneck Study #</i>	Controlli < 65 anni	47.7
<i>Bruneck Study #</i>	Controlli > 65 anni	43.4
<i>Palermo</i>	Casi	57

* Senami NJ et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. N Engl J Med 2007; 357:443-453.

Ye S et al. Association of genetic variation on chromosome 9 p21 with susceptibility and progression of atherosclerosis. A population based, prospective study. J Am Coll Cardiol 2008; 52: 378-384.

Tabella 7. Distribuzione genotipica e frequenza allelica del polimorfismo rs1333049 del locus 9p21 in relazione alle caratteristiche cliniche.

<i>Caratteristiche cliniche</i>	<i>CC n(%)</i>	<i>CG n(%)</i>	<i>GG n(%)</i>	<i>p</i>	<i>Allele C n(%)</i>	<i>Allele G n(%)</i>	<i>p</i>
<i>SCA (n =454)</i>	151(33.3)	230(50.7)	73(16.1)	N.S.	532(58.6)	376(41.4)	N.S.
<i>Angina Stabile (n=88)</i>	25(28.4)	42 (47.7)	21(23.3)		92(52.3)	84 (47.7)	
<i>M. Monovasale (n=152)</i>	46(30.3)	79(52)	27(17.8)	N.S.	171(56.3)	133(43.7)	N.S.
<i>M. Multivasale (n=339)</i>	130 (33.3)	193(49.4)	67(17.2)		453(58.1)	327(41.9)	
<i>Età < 45 anni (n=44)</i>	15(34.1)	22(50)	7(15.9)	N.S.	52(59.1)	36(40.9)	N.S.
<i>Età > 45 anni (n=489)</i>	161(32.3)	250(50.2)	87(17.5)		572(57.4)	424(42.6)	
<i>Progressione ATS SI (n=192)</i>	69(35.9)	99(51.6)	24(12.5)	N.S.	237(61.7)	147(38.3)	N.S.
<i>Progressione ATS NO (n=109)</i>	34(31.2)	58(53.2)	17(15.6)		126(57.8)	92(42.2)	

Tabella 8. Frequenza dell'allele C del polimorfismo rs3798220 e dell'allele G del polimorfismo rs10455872 del gene LPA in differenti popolazioni.

	<i>Popolazione</i>	<i>Allele C SNP rs3798220</i>	<i>Allele G SNP rs10455872</i>
<i>PROCARDIS*</i>	Controlli	1.5%	7%
<i>SHERP/SCARF*</i>	Controlli	1.7%	-
<i>Palermo</i>	Casi	1.4%	5.2

* Clarke R et al. Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. N Engl J Med 2009; 361: 2518-28.

Tabella 9. Distribuzione genotipica e frequenza allelica del polimorfismo rs3798220 del gene LPA in relazione alle caratteristiche cliniche.

<i>Caratteristiche cliniche</i>	<i>CC n(%)</i>	<i>CT n(%)</i>	<i>TT n(%)</i>	<i>p</i>	<i>Allele C n(%)</i>	<i>Allele T n(%)</i>	<i>p</i>
<i>SCA (n =229)</i>	0	6(2.6)	223(97.4)	N.S.	6(1.1)	452(98.6)	N.S.
<i>Angina Stabile (n=51)</i>	0	2(3.9)	49(96.1)		2(2)	49(98)	
<i>M. Monovasale (n=80)</i>	0	2(2.5)	78(97.5)	N.S.	2(1.3)	158(98.7)	N.S.
<i>M. Multivasale (n=200)</i>	0	6(3)	194(97)		6(1.5)	394(98.5)	
<i>Età < 45 anni (n=19)</i>	0	0	19(100)	N.S.	0	38(100)	N.S.
<i>Età > 45 anni (n=261)</i>	0	8(3.1)	253(96.2)		8(1.5)	514(98.5)	

Tabella 10. Distribuzione genotipica e frequenza allelica del polimorfismo rs10455872 del gene LPA in relazione alle caratteristiche cliniche.

<i>Caratteristiche cliniche</i>	<i>GG n(%)</i>	<i>GA n(%)</i>	<i>AA n(%)</i>	<i>p</i>	<i>Allele G n(%)</i>	<i>Allele A n(%)</i>	<i>p</i>
<i>SCA (n =229)</i>	0	25(10.9)	204(89.1)	N.S.	25(5.5)	433(94.5)	N.S.
<i>Angina Stabile (n=51)</i>	0	4(7.8)	47(92.2)		4(3.9)	98(96.1)	
<i>M. Monovasale (n=80)</i>	0	11(13.8)	69(86.3)	N.S.	11(6.9)	149(93.1)	N.S.
<i>M. Multivasale (n=200)</i>	0	18(9)	182(91)		18(4.5)	382(95.5)	
<i>Età < 45 anni (n=19)</i>	0	0	19(100)	N.S.	0	38(100)	N.S.
<i>Età > 45 anni (n=261)</i>	0	29(11.1)	232(88.9)		29(5.6)	493(94.4)	

BIBLIOGRAFIA

1. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126.
2. Ford ES, Ajani UA, Croft JB, et al. Explaining the decrease in US deaths from coronary disease, 1980-2000. *N Engl J Med* 2007; 356: 2388-98.
3. Breslow JL. Genetic markers for coronary heart disease. *Clin Cardiol* 2001; 24(suppl II): 14-7.
4. Incalcaterra E, Hoffmann E, Aversa MR, Caimi G. Genetic risk factors in myocardial infarction at young age. *Minerva Cardioangiol* 2004; 52: 287-312.
5. Eric J. Topol. The genomic basis of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2005. 46; 1456-1465.
6. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med* 2007; 357: 443-453.
7. Ye S, Willert J, Kromberg F, et al. Association of genetic variation on chromosome 9p21 with susceptibility and progression of atherosclerosis. A population based, prospective study. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 378-384.
8. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC. Genetic Variants Associated with Lp(a) lipoprotein level and Coronary disease. *N Engl J Med* 2009; 361:2518-28.
9. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mähönen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P, for the WHO MONICA (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease) Project. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA Project populations. *Lancet* 1999;353:1547-57.
10. Menotti A, Lanti M, Puudu PE, Kromhout D. Coronary heart disease incidence in northern and southern European populations: a reanalysis of the Seven Countries Study for a European coronary risk chart. *Heart* 2000;84:238-244.
11. Pyörälä K et al. *Eur Heart J* 1994;15:1300–1331.
12. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al, for the INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364: 937-52.
13. D'Agostino RB, Russell MW, Huse DM, et al. Primary and subsequent coronary risk appraisal: New results from the Framingham study. *Am Heart J* 2000; 139: 272-281.
14. Strong JP, Malcom GT, Newman WP III, Oalman MC. Early lesions of atherosclerosis in childhood and youth: natural history and risk factors. *J Am Coll Nutr* 1992; 11 Suppl: 51S-54S.
15. Li R, Bensen JT, Hutchinson RG, Province MA, Hertz-Picciotto I, Sprafka JM, Tyroler HA. Family risk score of coronary heart disease (CHD) as a predictor of CHD: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study and the NHLBI family heart study. *Genet Epidemiol* 2000; 18: 236-50.
16. Williams RR, Hunt SC, Heiss G, Province MA, Bensen JT, Higgins M, et al. Usefulness of cardiovascular family history data for population-based preventive medicine and medical research

- (the Health Family Tree Study and the NHLBI Family Heart Study). *Am J Cardiol* 2001; 87: 129-35.
17. Pohjola-Sintonen S, Rissanen A, Liskola P, Luomanmaki K. Family history as a risk factor for coronary heart disease in patients under 60 years of age. *Eur Heart J* 1998; 19: 235-39.
 18. Roncaglioni MC, Santoro L, D'Avanzano B, Negri E, Nobili A, Ledda A, Pietropaolo F, Franzosi MG, La Vecchia C, Feruglio GA ed altri. Role of family history in patients with myocardial infarction. An Italian case-control study. GISSI-Efrim investigators. *Circulation* 1992; 85: 2065-72.
 19. Goldstein JL, Brown MS. The low-density lipoprotein receptor hypothesis. *Metabolism* 1987; 26:1257-75.
 20. Van t Hooft FM, Jonnsjo Lundshl B, Tornvall P, Eriksson P, Hamsten A. A functional polymorphism in the apolipoprotein B promoter that influences the level of plasma low density lipoprotein. *J Lip Res* 1999; 40: 1686-94.
 21. Brsck E, Bergerooe S. Gagnor A, Colajanni E, Matullo G, Scaglione L et al. Acute myocardial infarction in young adults: prognostic role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type receptor, apolipoprotein E, endothelial nitric oxide synthase, and glycoprotein IIa genetic polymorphisms at medium-term follow-up. *Am J Heart* 2000; 139: 979-84.
 22. Gambino R, Scaglione L, Alemanno N, Pagano G, Cassader M. Human lipoprotein lipase HindIII polymorphism in young patients with myocardial infarction. *Metabolism* 1999; 48: 1157-61.
 23. Hans G. Kraft. Florian Kronenberg, Gerd Utermann. Genetic Variants in Lp(a) Lipoprotein and Coronary Disease. *N Engl J Med*, 2010; 362:12
 24. Borge G. Nordestgaard, M. John Chapman, Kausik Ray, Jan Boren, et al. Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor current status. *European Heart Journal* October 2010.
 25. Rosendaal FR. Siscoviek DS, Schwartz SM, Psaty BM, Raghunathan TE, Vos HL. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood* 1997; 90: 1747-50.
 26. Hamsten A, Wiman B, De Faire U, Blomback M. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivor of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1985; 313: 1557-63.
 27. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359: 614-4.
 28. Zhao Y, Higashimori K, Higaki J, Kamitani A, Ohishi M, Katsuya T et al. Significance of the deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene as a risk factor for myocardial infarction in Japan. *Hypertens Res* 1994; 17: 55-7.
 29. Mager A, Battler A, Birnbaum Y, Magal N, Shohat M. Plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase genotypes, and age at onset of symptoms of myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 2002; 89:919-23.

30. Ikonomidis I, Andreotti F, Economou FE, Stefanadis C, Toutouzas P, Nihoyannopoulos P. Increased proinflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. *Circulation* 1999; 100 : 793-8.
31. Woods A, Brull DJ, Humphries SE, Montgomery HE. Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. *Eur Heart J* 2000; 21:1574-83.
32. Wenzel K, Baumann G, Felix SB. The homozygous combination Leu125Val and Ser563Asn polymorphisms in the PEC AMI gene (CD31) is associated with early severe coronary heart disease. *Hum Mutat* 1999; 14: 545.
33. Ozaki K, Ohmishi Y, Iida A. et al. Functional SNP's in the Lymphotoxin- α gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet* 2002; 32: 650-4.
34. Reiner AP, Siscovick DS, Rosendaal FR. Platelet glycoprotein IIb polymorphism, traditional risk factors and non-fatal myocardial infarction in young women. *Br J Haematol* 2001; 112: 632-6.
35. Bray PF, Michelson AD, Furman MI, Salmon J, Bolton E, Afshar-Khargan V et al. Correlating genetic variation in adhesive receptors with platelet function. *Blood* 1999; 94: 216-24.
36. Hato T, Minamoto Y, Fukuyama T, Fujita S. Polymorphism of the HPA-1 through 6 on platelet membrane glycoprotein receptors are not a genetic risk factor for myocardial infarction in the Japanese population. *Am J Cardiol* 1997; 80: 1222-4.
37. Zhu MM, Weedon J, Clark LT. Meta-analysis of the association of platelet glycoprotein IIIa P1A1/A2 polymorphism with myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2000; 86: 1000-5.
38. Van den Hoogen PCW, Feskens EJM, Nagelkerke NJD, Menotti A, Nissinen A, Kromhout D for the Seven Countries Research Group. The relation between blood pressure and mortality due to coronary heart disease among men in different parts of the world. *N Engl J Med* 2002; 343: 1-8.
39. Staessen JA, Wang JG, Thijs L. Cardiovascular protection and blood pressure reduction: a meta-analysis. *Lancet* 2001; 358: 1305-15.
40. Neaton JD, Wentworth D. Serum Cholesterol, Blood Pressure, Cigarette Smoking, and Death From Coronary Heart Disease Overall Findings and Differences by Age for 316099 White Men. *Arch Intern Med* 1992; 152: 56-64.
41. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356,222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA* 1986; 256: 2823-8.
42. Anderson KM, Castelli WP, Levy D. Cholesterol and mortality: 30 years of follow up from the Framingham study. *JAMA* 1987; 257: 2176-80.
43. Lipid Research Clinics Program. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. Reduction in the incidence of coronary heart disease. *JAMA* 1984; 251: 351-64.
44. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III): Final report. *Circulation* 2002; 106: 3143-421

45. International Atherosclerosis Society Harmonized Guidelines on Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. [Http://www.athero.org](http://www.athero.org).
46. Assmann G, Cuilen P, Schulte H. The Munster Heart Study (PROCAM). Results of follow-up at 8 years. *Eur Heart J* 1998;19(suppl A):A2-A11.
47. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. (1993). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993 Sep 30;329(14):977-86.
48. UKPDS Group. UKPDS 34: Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34) *Lancet* 1998;352:854–65.
49. Malmberg K, Yusuf S, Gerstein HC, Brown J, Zhao F, Hunt D, Piegas L, Calvin J, Keltai M, Budaj A and for the OASIS Registry Investigators. Impact of Diabetes on Long-Term Prognosis in Patients With Unstable Angina and Non–Q-Wave Myocardial Infarction Results of the OASIS (Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes) Registry *Circulation* 2000, 102:1014-1019.
50. Raw M, Anderson P, Batra A, Dubois G, Harrington P, Hirsh A, et al. WHO Europe evidence-based recommendations on the treatment of tobacco dependence. *Tob Control* 2002; 11:44-6.
51. Jefferis BJ, Lowe GD, Welsh P, Rumley A, Lawlor DA, Ebrahim S, Carson C, Doig M, Feyera-bend C, McMeekin L, Wannamethee SG, Cook DG, Whincup PH. Secondhand smoke (SHS) exposure is associated with circulating markers of inflammation and endothelial function in adult men and women. *Atherosclerosis*. 2010 Feb;208(2):550-6.
52. West R, McNeill A, Raw M. Smoking cessation guidelines for health professionals: an update, Health Education Authority. *Thorax* 2002; 55: 987-99.
53. Jacobs EJ, Thun MJ, Apicella LF. Cigar smoking and death from coronary heart disease in a prospective study of US men. *Arch Intern Med* 1999; 159: 2413-8.
54. Hubert HB; Feinleib M, McNamara PM, Casteli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26 year old follow-up of participants in the Fram-ingham Heart Study. *Circulation* 1983; 67: 968-73.
55. Hu FB, Rimm EB. Stampfer MJ, Ascherio A, Spiegelman D, Willet WC. Prospective study of major dietary patterns and risk of coronary heart disease in men. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 912-21.
56. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-5.
57. Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, and Panagiotakos DB. The Effect of Mediterranean Diet on Metabolic Syndrome and its Components A Meta-Analysis of 50 Studies and 534,906 Individuals. *J Am Coll Cardiol*, 2011; 57:1299-1313.
58. Mottillo et al. The Metabolic Syndrome and Cardiovascular Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 56: 1113-1132.

59. Coppola G, Corrado E, Muratori I, Tantillo R, Vitale G, Lo Coco L, Novo S. Increased levels of C-reactive protein and fibrinogen influence the risk of vascular events in patients with NIDDM. *International J of Card* 2005.
60. Heinrich J, Schulte H, Schonfeld R, Kohler E, Assmann G. Association of variables of coagulation, fibrinolysis and acute-phase with atherosclerosis in coronary and peripheral arteries and those arteries supplying the brain. *Thromb Haemostas* 1995; 73: 374-8.
61. Koenig W, Sund M, Frolich M, Fisher HG, Lowell H, Doring A, et al. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA Ausburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99: 237-42.
62. Rebuszi AJ, Quaranta G, Liuzzo G, Caligiuri G, Lanza GA, Gallimore JR, et al. Incremental prognostic value of serum levels of troponin T and C-reactive protein on admission in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1998; 82: 715-9.
63. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-5.
64. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SDM, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. *Lancet* 1997; 349: 462-6.
65. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997; 336: 973-9.
66. Meade TW, Mellows S, Brozovic M, et al. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 1986; 2: 33-7.
67. Ogawa M, Abe S, Saigo M, Biro S, Toda H, Matsuoka T, Torii H, Minagoe S, Maruyama I, Tei C. Homocysteine and hemostatic disorder as a risk factor for myocardial infarction at a young age. *Thrombosis Research* 2003; 109: 253-58.
68. Robinson K, Mayer E, Jacobsen DW. Homocysteine and coronary artery disease. *Cleve Clin J Med* 1994; 61:438-50.
69. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288:2015-22.
70. Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 2002; 102: 1082-5.
71. Lippi G, Guidi GC. Lipoprotein(a): an emerging cardiovascular risk factor. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2003;40: 1-42.
72. Henriksen, T., E. M. Mahoney, and D. Steinberg. 1981. Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: recognition by receptors for acetylated low density lipoproteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 78: 6499–6503.
73. Hessler, J. R., D. W. Morel, L. J. Lewis, and G. M. Chisolm. Lipoprotein oxidation and lipoprotein-induced cytotoxicity. *Arteriosclerosis*. 1983. 3: 215–222.

74. Peter Libby. Molecular Bases of the Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 1995;91:2844-2850.
75. Richardson PD, Davies MJ, Born GV. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques. *Lancet*. 1989;2:941-944.
76. Loree HM, Kamm RD, Stringfellow RG, Lee RT. Effects of fibrous cap thickness on peak circumferential stress in model atherosclerotic vessels. *Circ Res*. 1992;71:850-858.
77. Kostner KM, Huber K, Stefenelth T, Rinner H, Maurer G. Urinary apo(a) discriminates coronary artery disease patients from controls. *Atherosclerosis* 1997; 129; 103-110.
78. Liu R, Saku K, Kostner GM et al. In vivo kinetics of lipoprotein(a) in homozygous Watanabe heritable hyperlipidaemic rabbits. *Eur J Clin Invest* 1993; 23, 561-5.
79. Lars Berghmd and Rajasekhar Ramakrishnan. Lipoprotein(a): An elusive cardiovascular risk factor. *Atheroscler Tromb Vase Biol* 2004;24; 2219-2226.
80. Becker W, Shafer W, Ziebenbein W. Standardization of immunochemical quantitation of human apolipoprotein A and B. *La ricerca Clin Lab* 10 1980; 203-212.
81. Mclean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ et al. cDNA sequence of human apolipoprotein(a) is
82. homologous to plasminogen. *Nature* 1987; 330 :132-7.
83. Utermann G, Menzel HJ, Kraft HG, Duba HC, Kemmler HG, Seitz C. Lp(a) glycoprotein
84. phenotypes. Inheritance and relation to Lp(a)-lipoprotein concentration in plasma. *J Clin Invest* 1987; 80: 458- 65.
85. Murray JC, Buetow KH, Donovan M et al. Linkage disequilibrium of plasminogen polymorphism and assignment of the gene to human chromosome 6q26-6q27. *Am J Hum Genet* 1987; 40: 338-50.
86. Lackner C, Cohen JC, Hobbs HH. Molecular definition of the extreme size polymorphism in apolipoprotein(a). *Hum Mol Gen* 1993; 2: 933-40.
87. Boerwinkle E, Leffert CC, Lin J, Lackner C, Chiesa G, Hobbs HH. Apolipoprotein(a) gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein(a) concentrations. *J Clin Invest* 1992; 90:52-60.
88. Walton KW, Hitchens J, Magnani HN, Khan M. A study of methods of identification and estimation of Lp(a) lipoprotein and of its significance in health, hyperlipidaemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1974; 20: 323-46.
89. Rath M, Nemdorf A, Reblin T, Dietel M, Krebber HJ, Beisiegel U. Detection and quantification of lipoprotein(a) in ybc arterial wall of 107 coronary bypass patients. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 579-92.
90. Neindorf A, Rath M, Wolf K et al. Morphological detection and quantification of lipoprotein(a) deposition in atheromatous lesions of human aorta and coronary arteries. *Virchows Arch* 1990; 417: 105-11.
91. Jamieson DG, Usher DC, Raider DJ, Lavi E. Apolipoprotein(a) deposition in atherosclerotic plaques of cerebral vessels. A potential role for endothelial cells in lesion formation. *Am J Pathol* 1995; 147: 1567-74.

92. Nielsen LB, Stender S, Jauhiainen M, Nordestgaard BG. Preferential influx and decreased fractional loss of lipoprotein(a) in atherosclerotic compared with nonlesioned rabbit aorta. *J Clin Invest* 1996; 98: 563-71.
93. Dahlen G. The pre-beta lipoprotein phenomenon in relation to serum cholesterol and trygliceride levels, the Lp(a) lipoprotein and coronary heart disease. *Acta Med Scand (Suppl)* 1974; 570: 1-45.
94. Kostner GM, Avogaro P, Cazzolato G, Marth E, Bittolo-Bon G, Quinci GB. Lipoprotein Lp(a) and the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1981; 38: 51-61.
95. Holmes DT, Schick BA, Humphries KH, Frohlich J. Lipoprotein(a) is an independent risk factor for cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Clin Chem* 2005; 51: 2067-2073.
96. Averna MR, Barbagallo CM, Ocello S, et al. Lp(a) levels in patients undergoing aorto-coronary bypass surgery. *Eur Heart J* 1992; 13: 1405-9.
97. Jae Yeong Cho, Myung Ho Jeong, Youngkeun Ahn, Young Joon Hong. High lipoprotein(a) levels are associated with long-term adverse outcomes in acute myocardial infarction patients in high Killip classes.
98. Sandholzer C, Saha N, Kark JD, et al. Apo(a) isoforms predict risk for coronary heart disease. A study in six populations. *Arterioscl Thromb* 1992; 12: 1214-26.
99. Jauhiainen M, Koskinen P, Ehnholm C, Frick MH, Manttari M, Manninen V, Huttunen JK. Lipoprotein (a) and coronary heart disease risk: a nested case-control study of Helsinki Heart Study participants. *Atherosclerosis* 1991; 89:59-67.
100. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, A prospective study of lipoprotein(a) and the risk of myocardial infarction. *JAMA* 1993; 270: 2195-9.
101. Alfthan G, Pekkanen J, Juhaainen M et al. Relation of serum homocysteine and lipoprotein(a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. *Atherosclerosis* 1994; 106:9-19.
102. Wald NJ, Law M, Watt HC et al. Apolipoproteins and ischaemic heart disease: implication for screening. *Lancet* 1994; 343: 75-9.
103. Cantin B, Moorjani S, Depres JP, Degenais GR, Lupien PJ. Lp(a) in ischaemic heart disease: The Quebec Cardiovascular Study. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 482A (abstr).
104. Sigurdsson G, Baldursdottir A, Sigvaldason H, Agnarsson U, Thorgeirsson G, Sigfusson N. Predictive value of apolipoproteins in a prospective survey of coronary artery disease in men. *Am J Cardiol* 1992; 69: 1251-41.
105. Bostom AG, Cupples LA, Jenner JL, et al. Elevated plasma lipoprotein(a) and coronary heart disease in men aged 55 years and younger. A prospective study. *JAMA* 1996; 276: 544-8.
106. Bostom AG, Gagnon DR, Cupples LA, et al. A prospective investigation of elevated lipoprotein(a) detected by electrophoresis and cardiovascular disease in women. The Framingham Heart Study. *Circulation* 1994; 90:168S-95.

107. Wild SH, Foftmann SP, Marcovina SM. A prospective case-control study of lipoprotein(a) levels and apo(a) size and risk of coronary heart disease in Stanford Five-City Project participants. *Arterioscl Thromb Vase Biol* 1997; 17:239-45.
108. Tsurumi Y, Nagashima H, Ichikawa K, Sumiyoshi T, Hosoda S. Influence of plasma lipoprotein(a) levels of coronary vasomotor response to acetylcholine. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1242-50.
109. Baldassarre D, Tremoli E, Franceschini G, Michelagnoli S, Sirtori CR. Plasma lipoprotein(a) is an independent factor associated with carotid wall thickening in severely but not moderately hypercholesterolemic patients. *Stroke* 1996; 27: 1044-9.
110. McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, et al. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science* 2007; 316:1488-1491.
111. Helgadottir A, Thorleifsson G, Manolescu A, et al. A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science* 2007; 316; 1491-1493.
112. Karvanen J, Silander K, Fee F, et al. The impact of newly identified loci on coronary heart disease, stroke and total mortality in the MORGAM prospective cohorts. *Genet Epidemiol* 2009; 33: 237-246.
113. Hiura Y, Fukushima Y, Yunno M, et al. Validation of the association of genetic variants on chromosome 9p21 and 1q41 with myocardial infarction in a Japanese population. *Circ J* 2008; 72: 1213-1217.
114. Schunkert H, Gotz A, Braund P, et al. Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9p21 and coronary artery disease. *Circulation* 2008; 117: 1675-1684.