

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
"FEDERICO II"

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA



Dottorato di Ricerca in
Fisiopatologia Clinica e Medicina Sperimentale
(Coordinatore: Prof. Gianni Marone)
XXVIII Ciclo

TESI DI DOTTORATO

ASSOCIAZIONE TRA ATEROSCLEROSI CAROTIDEA E FATTORI DI
RISCHIO CARDIOVASCOLARE IN UNA POPOLAZIONE DI PAZIENTI
DEL SUD ITALIA CON DIAGNOSI GENETICA DI
IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE

Dott.ssa MARIA NUNZIATA

Tutore: Prof. PAOLO RUBBA

ANNO ACCADEMICO 2014/2015

INTRODUZIONE

L'Ipercolesterolemia familiare (IF) è una patologia autosomica, codominante, prevalentemente causata da mutazioni del gene del recettore delle LDL (LDLR). Si caratterizza per elevati valori di colesterolo LDL (Col-LDL), presenza di xantomi tendinei e precoce insorgenza di malattia coronarica (1). Tali caratteristiche sono più evidenti e l'età di insorgenza più bassa nei pazienti ipercolesterolemici familiari omozigoti che ereditano due alleli mutati del gene LDLR. La prevalenza della ipercolesterolemia familiare omozigote è di 1:1000000, mentre quella della forma eterozigote è stimata di circa 1 :500 persone. Il gene LDLR è localizzato sul cromosoma 19. Negli ultimi anni sono state descritte più di 1000 mutazioni del gene LDL-R. Oltre a mutazioni del gene LDL-R, sono state correlate al fenotipo clinico dell'ipercolesterolemia familiare mutazioni coinvolgenti altri due geni: il gene che codifica per l'apolipoproteina B-100 (APOB) e il gene che codifica per la proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) (2-3). Il gene che codifica per l'APOB è localizzato sul cromosoma 2p23-24 e codifica per la componente proteica delle particelle di LDL. Solo un piccolo numero di mutazioni funzionali sono state identificate in APOB. Il gene di PCSK9 è stato identificato recentemente sul cromosoma 1p32. L'eterogenità delle mutazioni dell'ipercolesterolemia familiare spiega la variabilità del fenotipo clinico della patologia. Mentre per i pazienti ipercolesterolemici familiari omozigoti è stata trovata una forte correlazione tra l'attività recettoriale residua e la severità clinica della malattia, una simile correlazione genotipo-fenotipo è meno chiara nei pazienti ipercolesterolemici familiari eterozigoti. In questi pazienti l'espressione clinica della malattia è altamente variabile in termini di severità dell'ipercolesterolemia e della malattia cardiovascolare, così come la risposta alla terapia dietetica e ipolipemizzante (4). Un'espressione clinica più o meno severa della patologia è stata correlata ai livelli plasmatici di colesterolo LDL (Col-LDL), che a loro volta sono legati alla percentuale di attività residua dell'LDLR; tuttavia, altri ricercatori non hanno mostrato una relazione tra la presenza di mutazioni con allele nullo e la mortalità per malattia cardiovascolare (CVD) (1).

Lo scopo di questo studio è di valutare l'associazione fra i fattori di rischio cardiovascolare, in particolare il Col-LDL e l'aterosclerosi carotidea in una popolazione di pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare.

MATERIALI E METODI

Pazienti

Sono stati selezionati 250 pazienti (60,8% donne; età media $37,2 \pm 15,6$ anni), con le caratteristiche cliniche di IF arruolati presso l'Ambulatorio per la Cura e la diagnosi delle dislipidemie del Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università degli Studi di Napoli Federico II. La diagnosi "definitiva" di IF è stata posta quando il paziente soddisfaceva i criteri di Simon Brome Register. La diagnosi è stata considerata come "possibile" se i livelli di colesterolo plasmatici basali erano superiori a 289 mg/dl o il Col-LDL superiore a 190 mg/dl nel probando e almeno in un parente di primo grado, con valori di trigliceridi plasmatici inferiori a 199 mg/dl in tutti i membri della famiglia. Sono stati considerati come livelli basali di Colesterolo totale, Col-HDL, Trigliceridi, Col-LDL, i valori prima dell'inizio della terapia dietetica o farmacologica. Dopo una notte di digiuno (almeno 12 ore) sono stati prelevati campioni di sangue da accesso venoso periferico da tutti i pazienti. Sono stati determinati con dosaggi sierici: colesterolo totale, trigliceridi e lipoproteine ad alta densità (HDL). Il Col-LDL è stato calcolato con la formula di Friedewald. Tutti i pazienti avevano normale funzione epatica, renale, tiroidea, nonché valori di omocisteina e fibrinogeno. Nessun paziente era diabetico.

Screening delle mutazioni

Lo screening per la ricerca della mutazione del LDLR è stato effettuato presso il Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, and CEINGE S.C.a r.l. Biotecnologie Avanzate, Napoli, Italia, mediante il sequenziamento diretto del promotore e dei 18 esoni del gene del LDLR e valutando la presenza di grandi riarrangiamenti con l'analisi MLPA(multiplex ligation-dependent probe amplification). In 196 pazienti è stata evidenziata una mutazione del gene LDLR, in 54 pazienti non è stata evidenziata alcuna mutazione (21,6%). E' stato selezionato un sottogruppo di 66 pazienti in cui sono state identificate 22 mutazioni: 20 in eterozigosi, 6 in doppia eterozigosi ed una in omozigosi, quest'ultima interessante il promotore del gene LDLR. Per ogni paziente sono state isolate, da un campione di sangue, cellule mononucleate del sangue periferico (PBMCs). Sono state generate linee cellulari EBV-trasformate esponendo PBMCs per liberare le particelle EBV prodotte da linee cellulari di marmoset (B95.8) infettate da EBV. Tale sottogruppo includeva i pazienti in cui è stata valutata l'attività funzionale residua del LDLR (LDLRa) misurando la regione codificante il recettore mediante l'assorbimento di LDL marcate fluorescenti. L'intensità di fluorescenza è stata misurata con un citofluorimetro FACS Canto (Becton Dickinson).I risultati sono stati espressi come rapporto tra l'intensità media di fluorescenza delle cellule dei pazienti IF e la media dell'intensità di fluorescenza delle cellule dei controlli. Tale rapporto rappresenta l'attività funzionale residua del LDLR ed è stata identificata in 41 pazienti.

Ecocolordoppler carotideo

In un sottogruppo di 66 pazienti è stato effettuato un Ecocolordoppler dei tronchi sovra aortici per esaminare le arterie carotidi bilateralmente. E' stata valutata la presenza di ispessimento medio-intimale (IMT) e la presenza di placche a livello di 2 segmenti standardizzati: al centimetro distale

della arteria carotide comune e alla biforcazione carotidea. Inoltre, è stata valutata la presenza di placche e calcolato il grado di stenosi a livello dell'arteria carotide interna bilateralmente. Il grado di stenosi carotidea è stato espresso come risultato della misurazione di sette parametri: velocità massima (V.max) all'interno della stenosi (mediante onda pulsata [PW]), grado e indice di turbolenza spettrale (STI) all'uscita dalla stenosi (mediante PW e onda continua [CW]), il rapporto di velocità tra la carotide interna e la carotide comune (IC/CC) mediante PW, e rapporto tra la sezione trasversale del vaso e l'area del lume residuo (% Color) all'interno della stenosi (color Doppler). Il grado di stenosi determinato secondo la scala dei grigi e il doppler US è stato stratificato in categorie: normale (assenza di stenosi), stenosi <50%, stenosi compresa tra 50%-69%, stenosi > o = 70% e occlusione totale (The Society of Radiologists in Ultrasound) (5). Nel nostro studio abbiamo diviso i pazienti con stenosi carotidea in due gruppi: pazienti con stenosi carotidea $\leq 50\%$ e pazienti con stenosi carotidea $\geq 50\%$.

ANALISI STATISTICA

I dati sono stati analizzati utilizzando il software SPSS 13.0 (SPSS, Chicago, IL) ed espressi come media \pm una deviazione standard. Il confronto tra gruppi è stato effettuato utilizzando il t-test per le variabili continue e chi-quadro per quelle categoriche. Per valutare se le differenze tra i gruppi erano indipendenti dai principali fattori confondenti, abbiamo utilizzato l'analisi ANCOVA e la regressione logistica rispettivamente. In particolare, il confronto dei parametri antropometrici ed ecocardiografici tra i gruppi è stato effettuato utilizzando il test t, mentre il confronto dei parametri ecocardiografici è stato corretto per la presenza di fattori confondenti quali l'età avanzata ed eventi cardiovascolari mediante analisi ANCOVA. E' stato utilizzato un modello di regressione logistica uni variata e multivariata utilizzando variabili basali: spessore intima media, placca carotidea, il grado di stenosi carotidea, l'ispessimento di lembi mitralici e calcificazione mitralica anulare,

sclerosi aortica e stenosi aortica come predittori di interesse corretti per la prevalenza di età avanzata, il sesso, la storia di ipertensione e di eventi cardiovascolari. La significatività statistica è stata definita per valori di $p < 0,050$.

RISULTATI

Nell'ambito della popolazione di 250 pazienti con diagnosi clinica di IF, 196 pazienti hanno confermato la presenza di una mutazione del gene LDLR, mentre in 54 pazienti non è stata identificata alcuna mutazione di tale gene (26,6%). È stato quindi analizzato un sottogruppo di 66 pazienti. Le caratteristiche cliniche e dei parametri lipidici della popolazione esaminata sono riportati nella **Tabella 1**. Nessuna differenza significativa è stata trovata tra donne e uomini per i tradizionali fattori di rischio cardiovascolare ma, la prevalenza di eventi cardiovascolari è risultata essere più alta nel gruppo degli uomini rispetto al gruppo delle donne ($p = 0,05$) (**Tabella 2**). Nessun paziente è risultato essere diabetico ed i valori di funzionalità renale (creatininemia e azotemia) sono risultati nella norma in tutti i pazienti, così come l'omocisteinemia e il fibrinogeno.

Screening delle mutazioni del gene dell'LDLR

La nostra popolazione di 66 pazienti affetti da Ipercolesterolemia familiare presentava numerose mutazioni nel gene LDLR. Sono state identificate 22 differenti mutazioni della regione che codifica LDLr in eterozigosi e 6 differenti mutazioni in doppia eterozigosi (**6-7**). Il sequenziamento diretto del promotore del gene dell'LDLR ha rivelato una mutazione in omozigosi di un paziente. L'attività funzionale residua del recettore delle LDL è stata valutata solo per alcune mutazioni. La caratterizzazione funzionale di altre mutazioni è in corso. L'attività funzionale residua del LDLR è stata valutata in un sottogruppo di 41 pazienti come riportato in **Tabella 3-4**. Abbiamo osservato che l'attività funzionale residua del recettore delle LDL-Colesterolo (LDLRa) è risultata inversamente correlata ai valori di Col-LDL pretrattamento ($r = 0,455$) (**Figura 1**). LDLRa è stata

quindi esaminata in relazione ai livelli basali (pretrattamento) di trigliceridi, Col-HDL e Col-LDL utilizzando l'analisi della regressione lineare. L'unico predittore di bassa LDLRa è stato confermato essere Col-LDL elevato, mentre nessuna associazione statisticamente significativa è risultata essere con i livelli di trigliceridi e Col-HDL (**Tabella 5**). La mediana di Col-LDL (303 mg/dL) è stata utilizzata come un surrogato di LDLRa per analizzare il profilo vascolare dell'intera popolazione dei 66 pazienti esaminati nel nostro studio (**Tabella 5**). Sulla base dell'attività funzionale residua del recettore delle LDL-Colesterolo (LDLRa) abbiamo suddiviso questo sottogruppo di pazienti in 2 sottogruppi: recettore-difettivo (con LDLRa>55%) e recettore-negativo (LDLRa<55%), e abbiamo messo in evidenza una correlazione inversa dei livelli di Col-LDL pretrattamento tra il gruppo di pazienti con mutazione recettore- negativo ($356,72 \pm 101$) e quello recettore-difettivo ($292,77 \pm 71$) ($p=0,25$) confermando un ruolo importante della genetica nel determinare il fenotipo clinico della malattia.

Ecocolordoppler carotideo

La valutazione con ecocolordoppler carotideo ha evidenziato che l'età media dei pazienti con Col-LDL più alto del valore della mediana è risultata essere $46,35 \pm 14,75$ anni, mentre quella del gruppo con Col-LDL più basso della mediana $38,41 \pm 13,75$ anni ($p=0,027$). La prevalenza di storia di eventi cardiovascolari è del 35,3% dei pazienti del gruppo con Col-LDL più alto della mediana, e del 12,5% nei pazienti con Col-LDL più basso del valore della mediana ($P= 0,029$). L'analisi condotta nei due gruppi ha evidenziato un'umentata prevalenza di aumentato spessore medio-intimale e presenza di placche carotidee nei pazienti con Col-LDL maggiore del valore della mediana rispetto a quelli con Col-LDL minore ($p=0,001$). Dopo aver corretto per età, sesso, storia di ipertensione arteriosa ed eventi cardiovascolari, tali differenze sono rimaste statisticamente significative (rispettivamente $p=0,011$ e $p=0,002$) (**Figura 2,3**). I pazienti del gruppo con Col-LDL maggiore del valore della mediana presentavano un'umentata prevalenza di stenosi carotidee di grado maggiore (stenosi carotidee >50%), indipendentemente dall'età, dal sesso, dalla storia di

ipertensione arteriosa ed eventi cardiovascolari ($p=0,042$; $OR=4,81$; 95% C.I. $1,10-21,01$) (**Figura 4, Tabella 6**).

DISCUSSIONE

Il presente studio ha valutato gli effetti dei livelli plasmatici di Col-LDL sull'aterosclerosi carotidea in una popolazione di pazienti affetta da ipercolesterolemia familiare nonché la correlazione tra i livelli di colesterolo LDL ed alcune mutazioni del gene dell'LDLR. I risultati indicano che i livelli di Col-LDL, così come il genere, fumo, ipertensione, diabete, obesità ed i livelli di colesterolo HDL, sono importanti predittori di aterosclerosi e di malattia cardiovascolare (8). Inoltre, i livelli plasmatici di Col-LDL sono influenzati dal tipo di mutazione del LDLR. La nostra analisi mostra un debole associazione tra i livelli plasmatici di Col-LDL e l'attività funzionale residua del recettore delle LDL (LDLRa). L'attività dell'LDLR è correlata negativamente al Col-LDL, mentre non è stata trovata nessuna significatività statistica con i livelli di trigliceridi e col-HDL. Studi precedenti in pazienti con IF omozigoti hanno mostrato che livelli più bassi di attività funzionale residua dell'LDLR sono correlati a valori plasmatici più alti di col-LDL e a una più rapida progressione dell'aterosclerosi. Questi studi hanno mostrato che differenti tipi di mutazioni presentano LDLRa che varia dal 2% al 30% e che esiste una forte correlazione tra l'attività funzionale residua del recettore in cellule in coltura e la severità della patologia (9). Una correlazione genotipo-fenotipo simile è meno chiara in pazienti IF eterozigoti (con mutazioni documentate nel gene dell'LDL-R), perché c'è solo una debole correlazione tra l'LDLRa in cellule in coltura e la concentrazione plasmatica di Col-LDL. Nel nostro studio con 66 pazienti IF sono state identificate 22 mutazioni (20 in eterozigosi 6 in doppia eterozigosi e 1 in omozigosi), un indicatore di eterogeneità della nostra popolazione. Nell'ambito della nostra popolazione abbiamo valutato l'attività funzionale residua del gene del recettore delle LDL (LDLRa) per un sottogruppo

di 41 pazienti e lo abbiamo suddiviso, sulla base di dati in letteratura, in due sottogruppi: recettore negativo ($LDLRa < 55\%$) e recettore-difettivo ($LDLRa > 55\%$) (10-11) mettendo in evidenza una correlazione inversa tra livelli di Col-LDL e attività funzionale residua del recettore ed evidenziando così un sottogruppo di pazienti a più alto rischio cardiovascolare. Tuttavia soggetti che presentano la stessa mutazione presentano ampie variazioni dei livelli plasmatici di Col-LDL è necessario, perciò effettuare nuovi studi con una numerosità di pazienti maggiore al fine di valutare sia gli effetti dell' L'LDLRa sui livelli plasmatici di Col-LDL di pazienti ipercolesterolemici familiari eterozigoti sia il ruolo di altri fattori di rischio genetici o ambientali che contribuiscono a determinare il fenotipo dell'ipercolesterolemia familiare (12-13). Gli effetti di mutazioni specifiche possono essere più facilmente comparate con popolazioni fondatrici nelle quali un piccolo numero di alleli è responsabile del fenotipo clinico IF (popolazioni africane, franco-canadesi). Tuttavia, a causa della loro origine comune, gli eterozigoti IF in queste popolazioni possono condividere altri fattori genetici o ambientali, e potenziali fattori di confondimento che possono aumentare falsamente la stima dell'associazione osservata. Ulteriori studi sperimentali dovranno essere effettuati con un maggior numero di pazienti, per valutare gli effetti di mutazioni dell'LDLR nei pazienti IF eterozigoti. L'aterosclerosi è ora riconosciuta come una reazione infiammatoria / immunomodulatoria mediata dalle lipoproteine a bassa densità ossidate presenti all'interno della parete delle arterie, che spesso compare in un quadro di fattori di rischio come la storia familiare, l'ipercolesterolemia, l'ipertensione arteriosa, il diabete mellito e il fumo. La progressione di lesioni ad alto rischio, come ad esempio gli ateromi thin-fibrous cap determina un aumentato del rischio di morte improvvisa, di infarto acuto del miocardio e di ictus ischemico (14). Nei fenotipi ad alto rischio, l'interazione dei macrofagi, linfociti T e mastociti svolgono un ruolo centrale sia nello sviluppo, ma soprattutto nella progressione della malattia coronarica e carotidea. Il nostro studio mostra come nei pazienti IF con alto Col-LDL vi sia una più alta prevalenza di progressione di aterosclerosi a livello dell'arteria carotide. Due grandi studi che hanno utilizzato l'ecografia con ultrasuoni (B-mode) per le misurazioni dell'IMT al fine di indagare le determinanti della malattia

aterosclerotica in una popolazione generale sono il Rotterdam Study e l'Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. Questi studi forniscono una solida evidenza che le misurazioni dell'IMT possono essere utilizzate come indicatore di aterosclerosi generalizzata. In studi precedenti è stato riportato uno spessore maggiore del complesso intima-media nella carotide comune in pazienti con IF rispetto ad un gruppo di controllo pari per sesso ed età (15). Nella nostra popolazione i pazienti IF con Col-LDL maggiore del valore mediano, hanno mostrato una più alta prevalenza di IMT aumentato, di placche carotidee e di grado di stenosi carotidea, rispetto ai pazienti IF con Col-LDL inferiore al valore mediano, indipendentemente dall'età, sesso, ipertensione ed eventi cardiovascolari. Questi dati sottolineano l'importanza dei livelli di Col-LDL come fattore di rischio per la progressione dell'aterosclerosi carotidea e hanno identificato, in pazienti IF, un sottogruppo a più alto rischio.

CONCLUSIONI

Questo studio ha identificato un sottogruppo tra i pazienti affetti da Ipercolesterolemia familiare ad alto rischio cardiovascolare, confermando il ruolo dei livelli di Col-LDL come marker di aterosclerosi diffusa e severa. Inoltre abbiamo osservato una forte associazione tra i livelli di Col-LDL e l'aterosclerosi carotidea, indipendentemente dai principali fattori di rischio età, sesso ed ipertensione ed eventi cardiovascolari. Ulteriori studi con una maggiore numerosità di campione dovranno essere condotti per evidenziare il ruolo specifico di singole mutazioni del gene LDLR e dell'attività funzionale residua sul profilo di rischio cardiovascolare dei pazienti con ipercolesterolemia familiare.

Tabella 1

Caratteristiche cliniche della popolazione dello studio (N=250) 60,8% donne; età media 37,2 ± 15,6 anni

	Media ± DS
Età (anni)	37,2 ± 15,6
Sesso (% femminile)	60,80
Indice di massa corporea (kg/m²)	25,10 ± 3,12
Colesterolo basale (mg/dl)	398,51 ± 101,86
Trigliceridi (mg/dl)	111,47 ± 43,44
Colesterolo HDL (mg/dl)	51,69 ± 13,67
Colesterolo LDL (mg/dl)	323,43 ± 102,36
Creatinina (mg/dl)	0,87 ± 0,149

Tabella 2**Fattori di rischio cardiovascolare (N=66)**

	donne	uomini	p
Fumo (%)	8,3	24,1	0,079
Ipertensione (%)	18,9	27,6	0,40
Storia familiare di eventi cardiovascolari (%)	54,1	55,2	0,92
Eventi cardiovascolari (%)	13,5	37,9	0,02

Tabella 3**Mutazioni del gene dell'LDLR in eterozigosi nella popolazione dello studio(N=66)**

Eterozigosi	Attività recettoriale residua
G571E	89%
G352D	DA DETERMINARE
G528D	62%
C18X	55%
C304Y	97%
C346T	97%
C358R	74 %
G266C	DA DETERMINARE
del 11-12	40%
del13-15	DA DETERMINARE
IVS10+1 G>A	DA DETERMINARE
IVS15-3 C>A	52%
IVS8-10 G>A	DA DETERMINARE
P160R	DA DETERMINARE
R612H	DA DETERMINARE
S102P	DA DETERMINARE
S559F	74%
T383I	DA DETERMINARE
P664L	DA DETERMINARE
C356F	DA DETERMINARE
V502M	DA DETERMINARE

Tabella 4

Mutazioni del gene dell'LDLR in doppia eterozigosi e in omozigosi nella popolazione dello studio

Doppia- eterzigosi	Attività recettoriale residua
S102P + del CT	32%
G571E + P664L	DA DETERMINARE
C358R + IVS10-5G>A	DA DETERMINARE
S559F + G528D	47%
C356F + P826T	DA DETERMINARE

omozigote	Attività recettoriale residua
promoter	DA DETERMINARE

Tabella 5**Caratteristiche dei pazienti IF con Col-LDL minore o maggiore del valore mediano (303 mg/dl). (N=66)**

	Col-LDL <303 mg/dl	Col-LDL >303 mg/dl	p
Età	38 ± 13,75	46 ± 14,75	0,027
Eventi cardiovascolari (%)	12,5	35,3	0,031
Indice di massa corporea (kg/m²)	24,87 ± 3,46	25,32 ± 2,81	0,566
Sesso (% femminile)	62,5	50	0,307
Fumo (%)	22,6	8,8	0,125
Ipertensione (%)	12,5	32,4	0,54
Colesterolo totale basale	317,62 ± 35,45	474,647 ± 83,31	< 0,001
Trigliceridi basali	105,56 ± 44,458	118 ± 42,236	0,248
HDL basale	53,21 ± 13,41	50,26 ± 13,96	0,385

Tabella 6**Relazione tra la mediana del Col-LDL e il grado di stenosi carotidea: analisi logistica multivariata (N=66)**

Variabili predittive	Variabile dipendente		
	Grado di stenosi carotidea*		
	p	OR	95.0% CI for OR inferiore -superiore
LDL-mediana	0,042	4,81	1,10 - 21,01
Età	<0,001	1,12	1,04 – 1,21
Sesso	0,39	0,53	0,12 – 2,24
Ipertensione arteriosa	0,64	0,66	0,11 – 3,75
Evento cardiovascolare	0,50	1,82	0,31 -10,55

***stenosi carotidea >50%**

Figura 1

Relazione tra l'attività funzionale residua del gene del recettore delle LDL (%) e i livelli di Col-LDL pretrattamento (mg/dl) ($r=0,45$) (N=66)

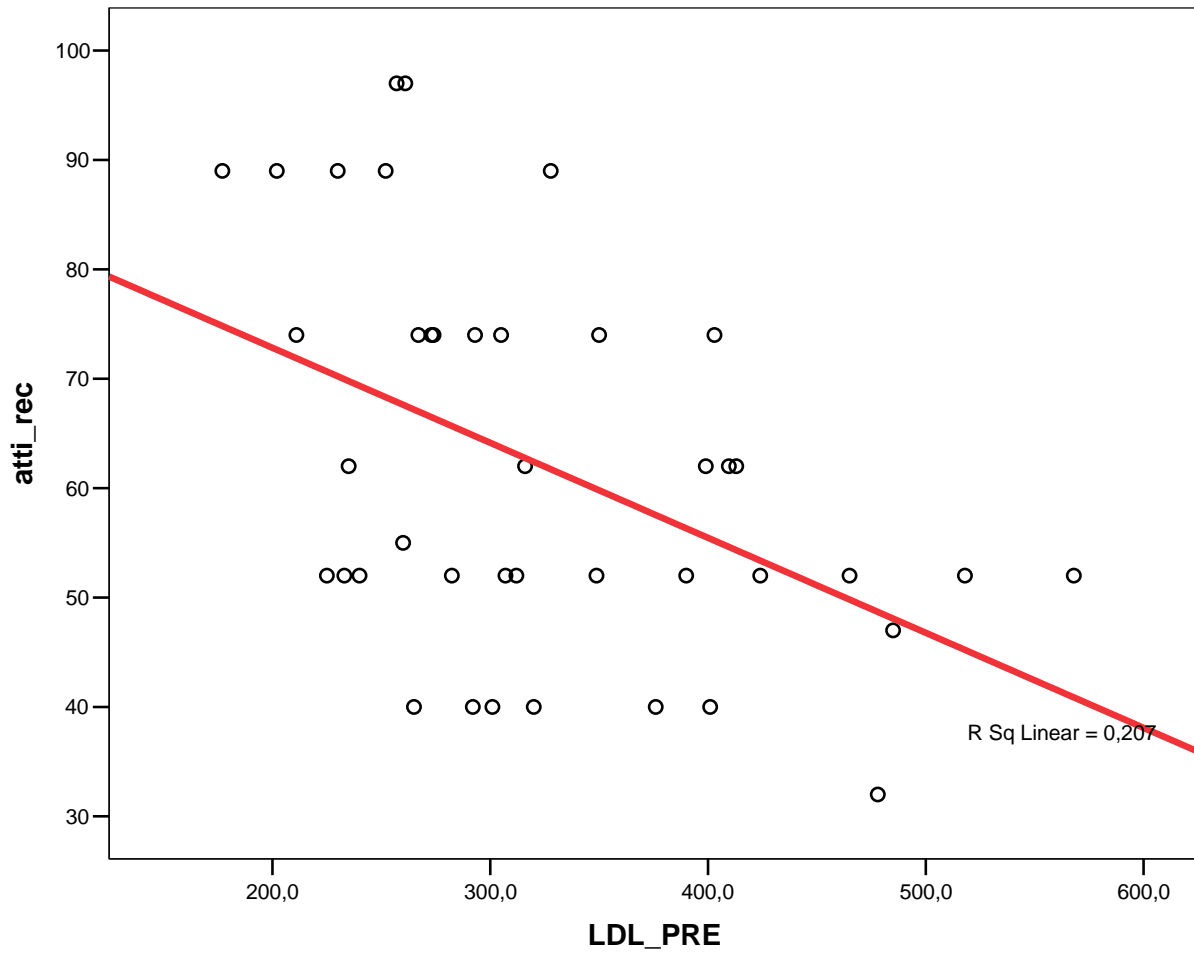


Figura 2

Prevalenza dell'aumento di IMT nei pazienti IF con Col-LDL minore o maggiore del valore mediano (303 mg/dl). $p < 0,001$; $p = 0,011$ corretto per Età, Sesso, Ipertensione arteriosa, Evento cardiovascolare. (N=66)

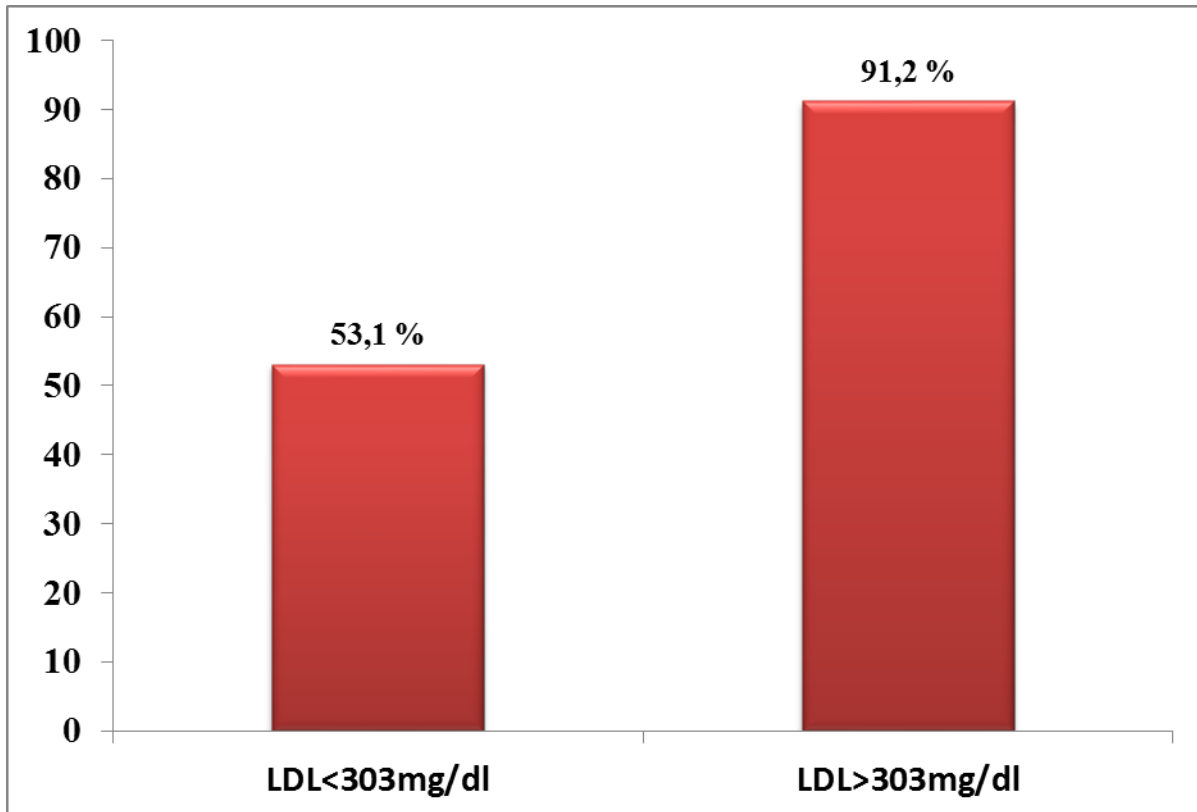


Figura 3

Prevalenza di placche carotidee in pazienti IF con LDL minore o maggiore del valore mediano (303mg/dl) . $p < 0,001$; $p = 0,002$ corretto per Età, Sesso, Ipertensione arteriosa, Evento cardiovascolare. (N=66)

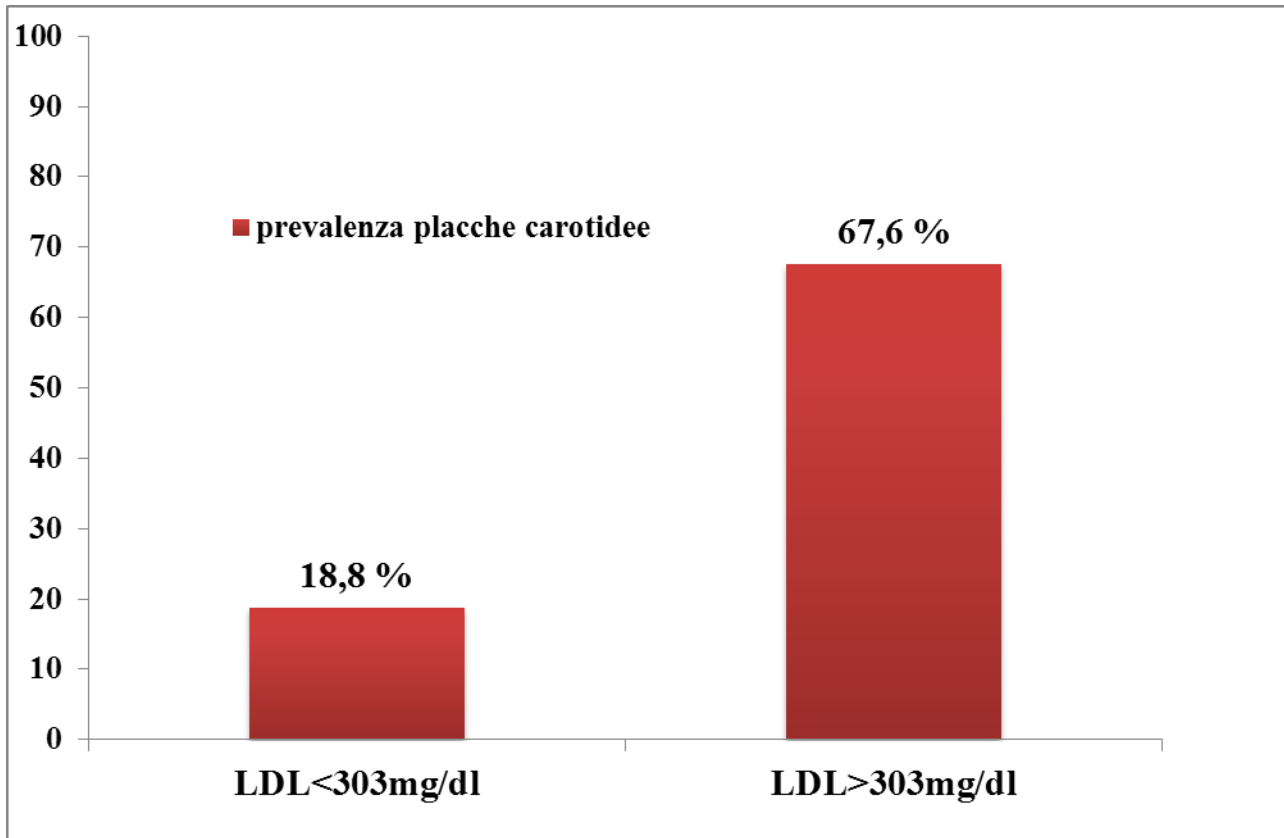
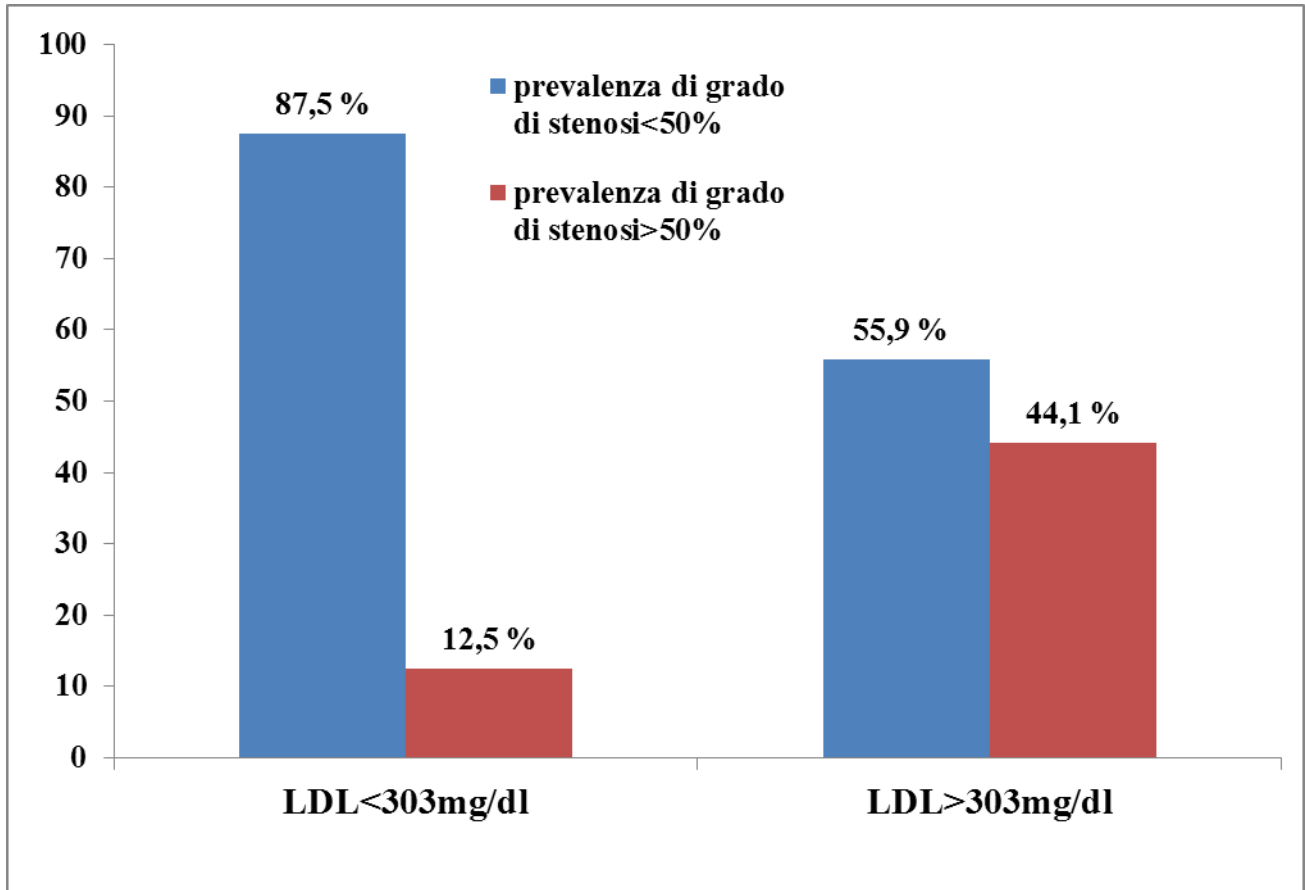


Figura 4

Prevalenza di grado di stenosi carotidea <50% e grado di stenosi carotidea>50% in pazienti in pazienti IF con LDL minore o maggiore del valore mediano (303 mg/dl). p =0,042 corretto per Età, Sesso, Ipertensione arteriosa, Evento cardiovascolare. (N=66)



BIBLIOGRAFIA

- 1) Souverein OW, Defesche JC, Zwinderman AH, Kastelein JJ, Tanck MW. Influence of LDL-receptor mutation type on age at first cardiovascular event in patients with familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J.* 2007;28:299-304.
- 2) A. J. Vallejo-Vaz , S. R. Kondapally Seshasai , Della Cole, G. Kees Hovingh, J. J.P. Kastelein , P. Mata , F. J. Raal, R. D. Santos, H.Soran, G.F. Watts, M. Abifadel, C.A. Aguilar-Salinas, A. Akram , F. Alnouri, R. Alonso, K. Al-Rasadi, M. Banach , M.P. Bogsrud , M. Bourbon , E. Bruckert , J. Car k, P. Corral, O. Descamps , H. Dieplinger , R. Durst, T. Freiburger , I. M. Gaspar , J. Genest, M. Harada-Shiba , L. Jiang , M. Kayikcioglu, C.S.P. Lam, G. Latkovskis , U. Laufs, E. Liberopoulos, L. Nilsson, B.G. Nordestgaard , J.M. O'Donoghue, A. Sahebkar, H. Schunkert, A. Shehab, M. Stoll, Ta-Chen Su, A. Susekov, E.Widen, A. L. Catapano, K. K. Ray. Familial hypercholesterolaemia: A global call to arms. *Atherosclerosis* 243 (2015) 257e259.
- 3) Abifadel M, Varret M, Rabès JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, Cruaud C, Benjannet S, Wickham L, Erlich D, Derré A, Villéger L, Farnier M, Beucler I, Bruckert E, Chambaz J, Chanu B, Lecerf JM, Luc G, Moulin P, Weissenbach J, Prat A, Krempf M, Junien C, Seidah NG, Boileau C. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003;34:154-6.
- 4) Bertolini S, Cantafora A, Averna M, Cortese C, Motti C, Martini S, Pes G, Postiglione A, Stefanutti C, Blotta I, Pisciotta L, Rolleri M, Langheim S, Ghisellini M, Rabbone I, Calandra S. Clinical expression of familial hypercholesterolemia in clusters of mutations of the LDL receptor gene that cause a receptor-defective or receptor-negative phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20.
- 5) Grant EG, Benson CB, Moneta GL, Alexandrov AV, Baker JD, Bluth EI, Carroll BA, Eliasziw M, Gocke J, Hertzberg BS, Katanick S, Needleman L, Pellerito J, Polak JF, Rholl KS, Wooster DL, Zierler RE. Carotid artery stenosis: gray-scale and Doppler US diagnosis--Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference *Radiology.* 2003;229:340-6.

- 6) Pauciullo P, Giannino A, De Michele M, Gentile M, Liguori R, Argiriou A, Carlotto A, Faccenda F, Mancini M, Bond MG, De Simone V, Rubba P. Increased carotid artery intima-media thickness is associated with a novel mutation of low-density lipoprotein receptor independently of major cardiovascular risk factors. *Metabolism*. 2003;52:1433-8.
- 7) Romano M, Di Taranto MD, D'Agostino MN, Marotta G, Gentile M, Abate G, Mirabelli P, Di Noto. Identification and functional characterization of LDLR mutations in familial hypercholesterolemia patients from Southern Italy. *R, Del Vecchio L, Rubba P, Fortunato G*. 2010; 210:493-6.
- 8) Grundy SM. Cholesterol and coronary heart disease. A new era. *JAMA*. 1986 28;256:2849-58.
- 9) Gudnason V, Day IN, Humphries SE. Effect on plasma lipid levels of different classes of mutations in the low-density lipoprotein receptor gene in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:1717-22.
- 10) Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle I, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw-Hill 2001:2863-2913.
- 11) Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. *Hum Mutat*. 1992;1:445-466.
- 12) 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 28;256:2823-8.
- 13) Marianne Benn, Gerald F. Watts, Anne Tybjaerg-Hansen, and Børge G. Nordestgaard. Familial Hypercholesterolemia in the Danish General Population: Prevalence, Coronary Artery Disease, and Cholesterol-Lowering Medication. *J Clin Endocrinol Metab*, November 2012, 97(11):3956–3964.
- 14) Parrinello G, Barbagallo CM, Pinto A, Amato P, Cecala MG, Noto D, Cefalù AB, Scalisi G, Notarbartolo A, Averna MR, Licata G. Carotid atherosclerosis in hypercholesterolemic patients: relationship with cardiovascular events *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2001;11:96-103.

15) Sgorbini L, Scuteri A, Leggio M, Leggio F Association of mitral annulus calcification, aortic valve calcification with carotid intima media thickness Cardiovasc Ultrasound 2004;8:2:19.