

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

DOTTORATO DI RICERCA IN FISIOPATOLOGIA CLINICA E MEDICINA
SPERIMENTALE

XX CICLO: 2004-2007

Coordinatore prof. Gianni Marone

Tesi di Dottorato

Il Fattore di Necrosi Tumorale- α è un marcatore di Iperlipidemia Combinata
Familiare, indipendentemente dalla Sindrome Metabolica

TUTOR

Prof. Paolo Rubba

CANDIDATO

Dott. Fulvio Faccenda

RIASSUNTO

E' ancora da stabilire se l'associazione fra Iperlipidemia Combinata Familiare (FCHL) e marcatori dell' infiammazione esista indipendentemente dalla presenza della Sindrome Metabolica (SM).

Sono state determinate le concentrazioni sieriche di Vascular Cell Adhesion Molecole-1 (VCAM-1), Monocyte Chemoattractant Proteine-1 (MCP-1), Interleuchina-6 (IL-6), Tumor Necrosys Factor- α (TNF- α) e Proteina C reattiva ad alta sensibilità (hs-CRP) in 135 soggetti con diagnosi di IFC e 146 soggetti di controllo normolipidemici, normotesi e normoglicemici. E' stato inoltre valutato l' indice di insulino resistenza calcolato con l' Homeostasis Model Assessment (HOMA).

L' analisi univariata ha dimostrato che tutti i parametri infiammatori, ad eccezione della IL-6, sono aumentati nella FCHL.

Dopo aggiustamento per età, sesso e Indice di Massa Corporea (IMC) la condizione di FCHL rimaneva un predittore statisticamente significativo di alti livelli di hs-CRP (O.R. = 1,867, 95% C.I. 1,009-5,456, $p=0,047$) e del TNF- α (O.R. = 3,966, 95% C.I. 2,002-7,854, $p<0,0001$). La sostituzione dell' HOMA al BMI ha confermato la significatività statistica per il TNF- α . La condizione di FCHL rimaneva un predittore indipendente di elevato TNF- α non solo nei pazienti con SM (O.R. = 2,177, 95% C.I. 1,478-3,207, $p<0,0001$) ma anche in quelli senza SM (O.R. = 3,207, 95% C.I. 1,276-8,059, $p=0,013$).

In conclusione, tra i marcatori dell' infiammazione più comunemente misurati elevati livelli di hs-CRP e TNF- α sono associati alla FCHL indipendentemente da età, sesso e BMI. L' associazione tra FCHL e TNF- α è indipendente anche da insulino resistenza e condizione di SM.

INTRODUZIONE

L' Iperlipidemia Combinata Familiare (FCHL) e la Sindrome Metabolica (SM) sono disordini metabolici complessi associati ad aumentato rischio di malattia cardiovascolare (CVD) (1-3). La FCHL e la SM condividono diverse anomalie metaboliche, quali l' obesità centrale, l' ipertensione, l' insulino resistenza e l' ipertrigliceridemia (4-7).

Esistono solide evidenze che legano un basso livello di infiammazione, espressa da livelli sierici moderatamente elevati di Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1), Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1), Interleuchina-6 (Il-6), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) e Proteina C Reattiva ad alta sensibilità (hs-CRP) alla obesità centrale ed alla SM (8-12). E' stato dimostrato che le molecole di adesione cellulare di origine endoteliale e la MCP-1 sono correlate alla circonferenza addominale ed all' indice di massa corporea (BMI) (8, 10) e che si riducono con la riduzione del grasso viscerale (13). Inoltre le citochine infiammatorie di origine dalla parete vasale, l' Il-6 ed il TNF- α sono ridotte dal calo ponderale e dal Rosiglitazone. Anche la hs-CRP, molecola della fase acuta di origine epatica stimolata dalle citochine vascolari, è sensibile alla perdita di peso (14-16).

Tutti i marcatori dell' infiammazione citati, così come la FCHL e la SM, sono associati in maniera indipendente ad un rischio aumentato di CVD (17, 18).

Minori informazioni sono disponibili in merito ai componenti di questa costellazione infiammatoria nella FCHL, indipendentemente dalle anomalie metaboliche condivise con la SM, che è spesso presente nei pazienti con FCHL.

Gli scopi di questo studio sono stati:

- 1) valutare se e quali marcatori infiammatori siano aumentati nei pazienti con FCHL paragonati ad individui sani di controllo;
- 2) valutare se l' infiammazione di basso grado presente nei pazienti con FCHL sia un marcatore della malattia indipendentemente dall' eventuale coesistenza della SM.

PAZIENTI

Dopo esclusione delle cause di iperlipidemia secondaria e dei pazienti in trattamento farmacologico, 135 pazienti con FCHL (30% donne), ciascuno probando da una differente famiglia, reclutati dall' ambulatorio per le Iperlipidemie dell' Università Federico II di Napoli, sono stati inclusi nello studio.

I criteri utilizzati per la diagnosi di FCHL (19) sono stati i seguenti:

1) Nel probando: Colesterolo LDL > 160 mg/dL e/o Trigliceridi totali > 200 mg/dL e/o apolipoproteina (apo) B > 130 mg/dL.

2) Nei familiari di primo grado: fenotipi multipli (diversi da quelli del probando o uguali se il probando presenta iperlipidemia mista).

3) Cardiopatia ischemica o arteriosclerosi clinicamente manifesta in altri distretti prima dei 55 anni negli uomini e prima dei 60 anni nelle donne nel probando e/o nei familiari di primo grado. Tale criterio, non indispensabile se sono disponibili i dati ematochimici dei familiari, può essere utilizzato in mancanza degli stessi.

I soggetti di controllo sono stati ottenuti dagli elenchi degli assistiti di 3 medici di Medicina Generale dell' area urbana di Napoli. Duecento soggetti clinicamente sani (50% donne, età compresa tra 20 e 65 anni), senza storia di malattie metaboliche, cardiovascolari o di altre malattie croniche, sono stati invitati a sottoporsi ad un controllo clinico e biochimico: il tasso di accettazione è stato dell' 85%. Per essere inclusi nello studio la loro pressione arteriosa doveva essere inferiore a 140/90 mmHg ed i loro Colesterolo LDL e Trigliceridi dovevano essere inferiori rispettivamente a 160 e 200 mg/dL. Centoquarantasei soggetti (58% donne) rispettavano questi criteri.

Tutti i partecipanti hanno firmato il modello di consenso informato ed il protocollo dello studio è stato approvato dal Comitato Etico dell' Università Federico II.

METODI

I prelievi ematici sono stati effettuati tra le ore 8:00 e le 9:30 del mattino (per ridurre l' influenza di variazioni circadiane), dopo un digiuno di 12-14 ore. Ogni eventuale trattamento ipolipidemizzante era stato sospeso da almeno 5 settimane. Le concentrazioni di Colesterolo e Trigliceridi totali sono state misurate usando i metodi enzimatici standard (20, 21). Il Colesterolo HDL è stato misurato dopo precipitazione delle lipoproteine VLDL e LDL con acido fosfotungstico (22), ed il Colesterolo LDL è stato calcolato con la formula di Friedewald quando il livello di Trigliceridi sierici era inferiore a 400 mg/dL. La glicemia a digiuno è stata determinata con il metodo della perossidasi. L' insulinemia a digiuno è stata determinata con metodo immunoenzimatico. L' apolipoproteina B (apo B) e la Proteina C Reattiva ad alta

sensibilità (hs-CRP) sono state misurate con metodo torbidimetrico automatico. L'indice HOMA (Homeostasis Model Assessment) è stato impiegato per valutare l'insulino resistenza e calcolato come prodotto tra insulinemia a digiuno ($\mu\text{U}/\text{mL}$) e glicemia a digiuno (mM/L), diviso 22,5.

I livelli sierici di VCAM-1, MCP-1, IL-6 e TNF- α sono stati determinati usando metodi ELISA disponibili in commercio (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) (23, 24).

La pressione arteriosa è stata misurata con uno sfigmomanometro convenzionale, la pressione diastolica è stata determinata al 5° tono di Korotkoff.

La variabile categorica di eventi cardiovascolari è stata considerata positiva quando il paziente o un familiare di primo grado avevano sofferto di infarto miocardico, angina stabile o instabile, ictus cerebrale o attacchi ischemici transitori, arteriopatia periferica.

I pazienti ed i soggetti sani di controllo sono stati considerati come fumatori se al momento del controllo fumavano almeno 5 sigarette al dì o se avevano smesso di fumare da non più di 12 mesi.

ANALISI STATISTICA

Il t-test per dati non appaiati è stato usato per il confronto delle variabili con distribuzione normale e dei valori dei trigliceridi e dell'indice HOMA dopo trasformazione logaritmica. Il test di Mann-Whitney è stato usato per il confronto dei marcatori infiammatori che si sono rivelati variabili distribuite non normalmente. La statistica del Chi quadrato è stata usata per confrontare la distribuzione di variabili categoriche tra gruppi. Il rank test di Spearman è stato usato per valutare correlazioni. La regressione logistica binaria è stata impiegata per valutare i predittori di elevati livelli dei marcatori infiammatori. Un marcatore infiammatorio veniva definito come anormalmente elevato quando la sua concentrazione era più alta del quinto quintile della concentrazione riscontrata nel gruppo di controllo. Le concentrazioni di marcatori infiammatori più alte o più basse rispetto al quinto quintile del valore osservato nel gruppo di controllo hanno costituito le variabili dipendenti nelle analisi di regressione logistica binaria. Le covariate, oltre alla condizione di FCHL o di SM, sono state i tertili di età, il sesso ed i valori di BMI o dell'indice HOMA (queste ultime due covariate non sono state incluse nell'analisi dei pazienti con SM per evitare un eccesso di aggiustamento). L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando la versione 12.0 dell' SPSS (SPSS, Chicago, IL).

RISULTATI

La tabella 1 mostra le caratteristiche demografiche, cliniche e biochimiche dei soggetti di controllo e dei pazienti con FCHL. Oltre alle differenze nei valori dei lipidi ematici e della pressione arteriosa, dipendenti dalla selezione dei gruppi, anche la percentuale di donne, l'età, il BMI e l'indice HOMA sono risultati significativamente più bassi nel gruppo di controllo rispetto ai pazienti con FCHL. Nel gruppo FCHL nel 62% dei pazienti era presente un dato anamnestico personale o familiare di evento CVD.

La tabella 2 mostra le concentrazioni sieriche dei marcatori infiammatori misurate nei due gruppi. Con l'eccezione dell'Il-6, ad un'analisi senza aggiustamenti, tutti sono risultati significativamente più elevati nei pazienti con FCHL. Dopo aggiustamento per età, sesso e BMI, la condizione di FCHL è risultata significativamente predittiva di una concentrazione sierica più alta del quinto quintile del gruppo di controllo soltanto per la hs-CRP (5° quintile = 2,26 mg/L, O.R. = 1,867, 95% C.I. 1,009-3,456, $p = 0,047$) e per il TNF- α (5° quintile = 9,10 pg/mL, O.R. = 3,966, 95% C.I. 2,002-7,854, $p < 0,0001$). Tra questi due marcatori infiammatori è stata trovata una debole ma statisticamente significativa correlazione (Spearman Rho 0,146, $p = 0,027$). La condizione di FCHL rimaneva un predittore statisticamente significativo di elevati livelli di TNF- α anche dopo sostituzione del BMI con l'indice HOMA come covariata: O.R. = 4,538, 95% C.I. 2,187-8,686, $p < 0,0001$. La stessa analisi, con aggiustamento per età e BMI, condotta separatamente negli uomini e nelle donne, ha fornito risultati analoghi per la relazione tra TNF- α e condizione di FCHL.

La tabella 3 descrive il profilo clinico e biochimico dei pazienti con FCHL con e senza SM. Non sono state riscontrate differenze significative in relazione all'età, alla distribuzione per sesso ed alle concentrazioni di Colesterolo LDL e di apo B. I marcatori infiammatori non hanno mostrato differenze statisticamente significative in relazione alla presenza o assenza di SM.

In un'ulteriore analisi dei pazienti con FCHL che rispettavano i criteri per la diagnosi di SM, la condizione di FCHL si è confermata essere un predittore significativo di elevati livelli di TNF- α , anche dopo aggiustamento per età e sesso ($p < 0,0001$). La relazione tra FCHL e hs-CRP non si è confermata in questo sottogruppo (Tabella 4). La condizione di FCHL è risultata un predittore di elevati livelli di TNF- α , ma non di hs-CRP, in una analoga analisi che ha confrontato i pazienti con FCHL senza SM ai soggetti di controllo, anche dopo aggiustamento per età, sesso e BMI ($p = 0,013$) (Tabella 4). La sostituzione del BMI con l'indice HOMA nella stessa analisi ha confermato l'associazione tra FCHL e TNF- α (O.R. = 2,956, 95% C.I. 1,154-7,571, $p = 0,024$).

DISCUSSIONE

Questo studio esplora l'argomento dei marcatori di stato infiammatorio di basso grado nei pazienti con FCHL e del loro ruolo di possibili marcatori della malattia, indipendentemente dalla coesistenza della SM.

Per evitare la possibile non indipendenza di numerosi pazienti con FCHL appartenenti a poche famiglie, sono stati inclusi nello studio solo i probandi visitati consecutivamente presso l'ambulatorio per le Iperlipidemie dell'Università Federico II. Poiché non c'era alcuna differenza di numeri tra maschi e femmine nei familiari affetti dei probandi con FCHL, è probabile che la più elevata prevalenza di maschi nel nostro campione sia il frutto di un'autoselezione dovuta alla consapevolezza dei maschi di avere un rischio di CVD superiore a quello delle donne.

All'analisi non aggiustata tutti i marcatori infiammatori misurati, tranne uno, sono risultati significativamente aumentati nei pazienti con FCHL. I livelli di Il-6 non erano differenti rispetto al gruppo di controllo. Ciò è in accordo con dati su uomini obesi pubblicati di recente (10).

Poiché gli altri marcatori dell'infiammazione misurati hanno dimostrato una significativa relazione con il grasso corporeo, tutti i confronti sono stati poi aggiustati non solo per età e sesso, ma anche per BMI o, in alternativa, per indice HOMA come misura dell'insulino resistenza. Dopo questo aggiustamento solo i livelli elevati di hs-CRP e di TNF- α hanno confermato una significativa relazione con la condizione di FCHL.

Numerosi studi epidemiologici prospettici hanno dimostrato che la hs-CRP è un fattore predittivo indipendente di rischio di CVD, sia in individui clinicamente sani, sia in pazienti ad alto rischio con cardiopatia coronarica clinicamente manifesta (25). Il nostro studio dimostra che un livello di hs-CRP superiore a 2,26 mg/L è un marcatore di FCHL. Questo livello è leggermente più basso rispetto al valore di 3 mg/L, recentemente impiegato per valutare gli effetti dei tradizionali fattori di rischio sulla CRP nella popolazione dello studio NHANES (26). Nell'analisi dei dati NHANES è stato osservato che i livelli elevati di CRP nella popolazione generale sono in larga misura da attribuire ai convenzionali fattori di rischio. Il nostro studio, condotto in pazienti con FCHL, mostra che, nelle analisi separate sui pazienti con e senza MS, livelli elevati di hs-CRP, non sono più significativamente predittivi di FCHL. Questa mancanza di significatività statistica potrebbe essere dovuta alla ridotta numerosità dei due sottogruppi: in effetti il valore di O.R. è vicino alla significatività statistica nel campione di pazienti positivi per SM.

Il risultato principale di questo studio è rappresentato dalla relazione indipendente dimostrata tra elevati livelli di TNF- α , al di sopra di 9,10 pg/mL, e la condizione di FCHL. Il TNF- α è una citochina secreta dalle cellule endoteliali, ma anche dalle cellule adipose. La sua relazione con l'obesità e con i parametri correlati all'obesità è stata dimostrata in studi osservazionali (10) ed in studi di intervento basati sulla riduzione del peso corporeo (27). Inoltre il polimorfismo del promoter G-308A del

gene del TNF- α è stato associato con la SM (28). Nel nostro campione l'associazione tra elevati livelli di TNF- α e la condizione di FCHL è presente anche dopo aggiustamento non solo per BMI ed indice HOMA ma anche per la presenza di SM: ciò indica una relazione diretta tra TNF- α e FCHL. È stato anche suggerito (29, 30) che un ridotto livello plasmatico di recettore solubile per il TNF- α , dovuto ad un aumentato numero di recettori attivi legati alle cellule, e la conseguentemente aumentata sensibilità cellulare all'attività pro-infiammatoria del TNF- α , possano costituire un possibile legame tra TNF- α e FCHL. Concentrazioni di TNF- α elevate nei pazienti con FCHL rispetto a soggetti di controllo sono state recentemente riscontrate (30). La differenza è stata però dimostrata solo rispetto ai familiari non affetti e non rispetto ai soggetti normolipidemici; inoltre in questo studio non erano stati effettuati aggiustamenti per sensibilità insulinica e per condizione di SM. Possibili spiegazioni per le più marcate differenze osservate nel nostro studio potrebbero essere la più larga numerosità e la maggiore sensibilità del metodo di misurazione del TNF- α (limite minimo di sensibilità = 0,5 pg/mL rispetto a 7 pg/mL). Non disponiamo di indicazioni conclusive se gli aumentati livelli di TNF- α siano una causa o una conseguenza della FCHL. È ragionevole ipotizzare che le LDL piccole e dense, più soggette ai processi ossidativi, tipiche della FCHL, possano essere una delle cause degli aumentati livelli di TNF- α . Esistono solide evidenze che indicano che i prodotti dell'ossidazione accelerano l'arteriosclerosi attraverso meccanismi infiammatori ed è stata osservata una significativa associazione con il TNF- α (31). In conclusione il nostro studio indica che, tra i marcatori infiammatori più comunemente misurati, livelli elevati di hs-CRP e di TNF- α sono in relazione alla condizione di FCHL, indipendentemente da età, sesso, e BMI. La relazione con il TNF- α si conferma anche dopo aggiustamento per l'indice HOMA ed in particolare per la presenza di SM. Poiché è stato dimostrato che il TNF- α costituisce un marcatore indipendente di CVD, suggeriamo che aumentati livelli di questo parametro possano identificare, tra i pazienti con FCHL, quelli con un rischio cardiovascolare particolarmente alto.

BIBLIOGRAFIA

1. Genest JJ, Martin-Munley SS, McNamara JR, Ordovas JM, Jenner J, Myers RH, Silberman SR, Wilson PW, Salem DN, Schaefer EJ. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation* 1992; 85: 2025-33.
2. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112: 2735-52.
3. Ford ES. Risks of all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome. *Diabetes care* 2005; 28: 1769-78.
4. Bredie SJ, Tack CJ, Smits P, Stalenhoef AF. Non obese patients with familial combined hyperlipidemia are insulin resistant compared with their non affected relatives. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1465-71.
5. Carr MC, Brunzell JD. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familia combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2601-7.
6. van der Kallen CJ, Voors-Pette C, Bouwman FG, Keizer HA, Lu JY, van de Hulst RR, Bianchi R, Janssen MJ, Keulen ET, Boeckx WD, Rotter JI, de Bruin TW. Evidence of insulin resistant lipid metabolism in adipose tissue in familial combined hyperlipidemia, but not type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 2002; 164: 337-46.
7. Williams RR, Hunt SC, Hopkins PN, Stults BM, Wu LL, Hasstedt SJ, Barlow GK, Stephenson SH, Lalouel JM, Kuida H. Familial dyslipidemic hypertension. Evidence from 58 Utah families for a syndrome present in approximately 12% of patients with essential hypertension. *JAMA*. 1988;259:3579-86.
8. Miller MA, Cappuccio FP. Cellular adhesion molecules and their relationship with measures of obesity and metabolic syndrome in a multietnic population. *Int J Obes* 2006; Mar 7; Epub ahead of print.
9. Miller MA, Kerry SM, Cook DG, Cappuccio FP. Cellular adhesion molecules and blood pressure; interaction with sex in a multietnic population. *J Hypertens* 2004; 22: 705-11.

10. Kim CS, Park HS, Kawada T, Kim JH, Lim D, Hubbard NE, Kwon BS, Erickson KL, Yu R. Circulating levels of MCP-1 and IL-8 are elevated in human obese subjects and associated with obesity-related parameters. *Int J Obes* 2006; Mar 14; Epub ahead of print.
11. Yoshida T, Kaneshi T, Shimabukuro T, Sunagawa M, hta T. Serum C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors and adipocytokines in Japanese children. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; Mar 28, Epub ahead of print.
12. Matsushita K, Yatsuya H, Tamakoshi K, Wada K, Otsuka R, Takefuji S, Sugiura K, Kondo T, Murohara T, Toyoshima H. Comparison of circulating adiponectin and proinflammatory markers regarding their association with metabolic syndrome in Japanese men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26: 871-76.
13. Koh KK, Han SH, Quon MJ. Inflammatory markers and the metabolic syndrome. Insights from therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1978-85.
14. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, D'Armiento M, D'Andrea F, Giugliano D. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA* 2004; 292: 1440-46.
15. Okita K, Nishijima H, Murakami T, Nagai T, Morita N, Yonezawa K, Iizuka K, Kawaguchi H, Kitabatake A. Can exercise training with weight loss lower serum C-reactive protein levels? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1868-73.
16. Mohanty P, Aljada A, Ghanim H, Hofmeyer D, Tripathy D, Syed T, Al-Haddad W, Dhindsa S, Dandona P. Evidence for a potent antiinflammatory effect of rosiglitazone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89:2728-35.
17. Tuomisto K, Jousilahti P, Sundvall J, Pajunen P, Salomaa V. C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha as predictors of incident coronary and cardiovascular events and total mortality. A population-based, prospective study. *Thromb Haemost.* 2006; 95:511-18.
18. Beckman JA, Preis O, Ridker PM, Gerhard-Herman M. Comparison of usefulness of inflammatory markers in patients with versus without peripheral arterial disease in predicting adverse cardiovascular outcomes (myocardial infarction, stroke, and death). *Am J Cardiol.* 2005; 96: 1374-78.
19. Gaddi A, Galetti C, Pauciullo P, Arca M. Familial combined hyperlipoproteinemia: experts panel position on diagnostic criteria for clinical practice. Committee of experts of the Atherosclerosis and Dysmetabolic Disorders Study Group. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 1999; 9 :304-11.

20. Siedel J., Schlumberger H., Klose S., Ziegenhorn J., Wahlefeld A.W., Improved reagent for enzymatic determination of serum cholesterol, *J Clin Chem Biochem.* 1981; 19: 838—9.
21. Wahlefeld A.W., Triglyceride determination after enzymatic hydrolysis, Bergmeyer H.U., (Ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 4, 2nd Ed (1974), Academic Press, New York: 1831.
22. Lopes-Virella M.F., Stone P., Ellis S., Colwell J.A., Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods, *Clin Chem.* 1977; 23: 882—4.
23. Park HS, Park JY, Yu R. Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005; 69: 29-35.
24. Eda S, Kaufmann J, Roos W, Pohl S. Development of a new microparticle-enhanced turbidimetric assay for C-reactive protein with superior features in analytical sensitivity and dynamic range. *J Clin Lab Anal.* 1998; 12: 137-44.
25. Torres JL, Ridker PM. Clinical use of high sensitivity C-reactive protein for the prediction of adverse cardiovascular events. *Curr Opin Cardiol.* 2003; 18: 471-78.
26. Miller M, Zhan M, Havas S. High attributable risk of elevated C-reactive protein level to conventional coronary heart disease risk factors: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med.* 2005; 165: 2063-8.
27. Monzillo LU, Hamdy O, Horton ES, Ledbury S, Mullooly C, Jarema C, Porter S, Ovalle K, Moussa A, Mantzoros CS. Effect of lifestyle modification on adipokine levels in obese subjects with insulin resistance. *Obes Res.* 2003; 11: 1048-54.
28. Sookoian SC, Gonzalez C, Pirola CJ. Meta-analysis on the G-308A tumor necrosis factor alpha gene variant and phenotypes associated with the metabolic syndrome. *Obes Res.* 2005; 13: 2122-31.
29. Van Greevenbroek MM, van der Kallen CJ, Geurts JM, Janssen RG, Buurman WA, de Bruin TW. Soluble receptors for tumor necrosis factor-alpha (TNF-R p55 and TNF-R p75) in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 2000; 153: 1-8.
30. Cavallo MG, Montali A, Monetini L, Valente L, Mariani P, Bifulco M, Sirinian MI, Antonini TM, Fioretti F, Campagna F, Verna R, Arca M. Tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) and its soluble receptor p75 (sTNF-R p75) in familial combined hyperlipidemia (FCHL). *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2005; 15: 262-9.

31. Liu SX, Hou FF, Guo ZJ, Nagai R, Zhang WR, Liu ZQ, Zhou ZM, Zhou M, Xie D, Wang GB, Zhang X. Advanced oxidation protein products accelerate atherosclerosis through promoting oxidative stress and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26: 1156-62.

Tabella 1: Caratteristiche cliniche e biochimiche della popolazione studiata

| Variabile | Soggetti di controllo (n = 146) | FCHL (n = 135) |
|---|---------------------------------|-----------------|
| % Donne | 58 | 30** |
| Età (anni) | 43.2 ± 10.3 | 46.3 ± 12.5* |
| Colesterolo totale (mg/dL) | 185.2 ± 27.3 | 285.1 ± 66.4** |
| Trigliceridi (mg/dL) | 85.19 ± 40.0 | 255.4 ± 186.3** |
| Colesterolo HDL (mg/dL) | 51.1 ± 12.5 | 39.2 ± 10.6** |
| Colesterolo LDL (mg/dL) | 117.1 ± 24.1 | 200.2 ± 62.6** |
| Glicemia (mg/dL) | 93.8 ± 10.8 | 102.2 ± 21.2** |
| Apolipoproteina B (mg/dL) | 88 ± 10 | 140 ± 30** |
| Indice di massa corporea (BMI) (kg/m ²) | 25.2 ± 3.90 | 27.4 ± 4.5** |
| Indice HOMA | 1.3 ± 0.7 | 1.9 ± 1.2** |
| Pressione arteriosa sistolica (mm Hg) | 118.0 ± 16.3 | 135.4 ± 16.9** |
| Pressione arteriosa diastolica (mm Hg) | 76.2 ± 10.0 | 85.5 ± 8.4** |
| Fumatori (%) | 38 | 34 |

I valori sono espressi come Media ± DS

*p< 0.05

**p<0.001

**Tabella 2: Marcatori infiammatori nei soggetti di controllo e nei paz. con FCHL.
Dati non aggiustati.**

| Variabile | Controlli | FCHL | p* |
|--|----------------------------|----------------------------|------------------|
| hs-CRP (mg/L) | 1.10 (0.60-2.0) | 1.40 (1.00-2.60) | 0.001 |
| IL-6 (pg/mL) | 2.30 (1.70-4.40) | 2.20 (1.80-2.90) | n.s |
| VCAM-1 (ng/mL) | 412.0 (271.0-627.0) | 525.0 (418.0-676.0) | <0.001 |
| MCP-1 (pg/mL) | 288.0 (221.0-423.0) | 360.0 (279.0-441.0) | 0.017 |
| TNF-α (pg/mL) | 8.30 (6.70-8.90) | 8.5 (6.30-11.30) | 0.003 |

Mediane (intervalli interquartili)

*** Mann-Whitney**

Tabella 3. PROFILO CLINICO E BIOCCHIMICO DEI PAZIENTI FCHL CON E SENZA SINDROME METABOLICA (Media \pm DS)

| | SM+ (69.7%) | SM- | p |
|-------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------|
| Età | 47.9\pm 12.1 | 45.4 \pm11.6 | NS |
| % Donne | 23.5 | 37.1 | NS |
| BMI | 28.7\pm5.05 | 25.6\pm2.39 | 0.000 |
| LDL-C (mg/dL) | 190.8\pm56.3 | 209.7\pm51.5 | NS |
| Triglic. (mg/dL) | 312.5\pm202.6 | 175.2\pm136.2 | 0.000 |
| HDL-C (mg/dL) | 34.9\pm7.46 | 46.3\pm10.7 | 0.000 |
| APO B (mg/dL) | 139.0\pm33.2 | 145.2\pm34.9 | NS |
| HOMA | 2.24\pm1.45 | 1.43\pm0.66 | 0.000 |
| PAS (mmHg) | 140.0\pm16.7 | 131.2\pm16.0 | 0.014 |
| PAD (mmHg) | 87.3\pm8.85 | 83.7\pm7.52 | 0.038 |

Tabella 4. MARCATORI INFIAMMATORI NEI PAZIENTI FCHL CON E SENZA SINDROME METABOLICA IN PARAGONE AI SOGGETTI DI CONTROLLO .

| | Non aggiustati | Aggiustati† |
|----------------------------------|------------------------|-----------------------|
| ODDS RATIO* (95% C.I.) | | |
| CON SINDROME METABOLICA | | |
| hs-CRP | 1.761 (0.939-3.301) | 1.936 (0.954-3.929) |
| TNF α | 2.164 (1.509-3.103)** | 2.177 (1.478-3.207)** |
| SENZA SINDROME METABOLICA | | |
| hs-CRP | 1.754 (0.752-4.089) | 2.054 (0.833-5.067) |
| TNF α | 3.403 (1.376-8.418)*** | 3.207 (1.276-8.059) ¶ |

† aggiustati per età e sesso (più BMI nel gruppo senza sindrome metabolica)

* Di avere un valore più alto del quinto quintile del gruppo di controllo

** p < 0.0001

*** p = 0.008

¶ p = 0.013