

**Università degli Studi di Napoli Federico II**



**DOTTORATO DI RICERCA IN  
FISIOPATOLOGIA CLINICA E MEDICINA SPERIMENTALE**

**Indirizzo in Scienze Endocrino-Metaboliche**

**XX Ciclo – 2004 - 2007**

**Coordinatore: Prof. Gianni Marone**

**Tesi di Dottorato**

**LDL piccole e dense e sindrome metabolica in un campione di  
donne dell'area napoletana. Risultati del Progetto Atena.**

**TUTOR**

**Chiar.mo**

**Prof. Salvatore Panico**

**CANDIDATO**

**Dott. Marco Gentile**

## **Introduzione**

La sindrome metabolica (SM) è definita come un insieme di fattori di rischio, comprendenti l'ipertensione, l'obesità, la dislipidemia e l'alterato metabolismo del glucosio, associati alla malattia cardiovascolare. La prevalenza della Sindrome Metabolica è fortemente aumentata negli ultimi anni nella popolazione generale ed in particolare nelle donne.

Recentemente sono stati proposti dall'American Heart Association e dal National Heart Lung and Blood Institute nuovi criteri biochimico-clinici per la diagnosi di SM negli adulti (1).

Numerose evidenze sperimentali hanno dimostrato che la popolazione di individui con MS include un eterogeneo gruppo di malattie a differente rischio cardiovascolare (2).

Le LDL piccole e dense (sd-LDL) sono fra i fattori associati con le anomalie metaboliche della SM (3,4).

La presenza di sd-LDL aumenta di 2-3 volte il rischio di sviluppare malattia cardiovascolare (5), ed è associata ad una alterazione del profilo lipidico, in particolare aumento dei trigliceridi e diminuzione del colesterolo HDL (6); inoltre le sd-LDL mostrano una maggiore suscettibilità agli stress ossidativi ed elevata affinità per la parete arteriosa (7,8,9).

Cambiamenti nella composizione dietetica (aumento degli introiti calorici soprattutto grassi di origine animale) insieme ad uno stile di vita sedentario hanno prodotto un aumento di prevalenza di sovrappeso, obesità, ridotta tolleranza al glucosio e diabete in particolare nelle donne (10,11), anche nell'area mediterranea (11,12).

Il seguente lavoro è stato realizzato su di un campione di donne con sindrome metabolica dell'area napoletana appartenente al Progetto Atena, per valutare la prevalenza della SM e l'associazione con le sd-LDL.

Individui con SM possono avere valori normali di colesterolo LDL quindi la misura delle sd-LDL potrebbe essere uno strumento utile per identificare un sottogruppo di pazienti con SM a più alto rischio di evento cardiovascolare.

## **Metodi**

Studio della popolazione.

Il Progetto ATENA

Il Progetto ATENA (13) è un'indagine epidemiologica che si propone di studiare le cause ambientali (intese nel senso più ampio di habitat e stile di vita degli individui della popolazione),

biologiche e genetiche delle principali malattie cronico-degenerative nella donna. L'indagine utilizza insieme ad altri dati e informazioni, una banca di campioni biologici ibernati in azoto liquido (-196°C), appositamente costruita ed organizzata per rispondere agli obiettivi principali della ricerca.

Le malattie cronico-degenerative oggetto prioritario dell'indagine sono le malattie cardiovascolari (infarto del miocardio, ictus cerebrale) e i tumori più frequenti nella donna (mammella, polmone). Queste malattie sono la causa del 65% delle morti nella popolazione femminile italiana e rappresentano oltre il 70% del carico di lavoro del sistema sanitario.

Tra il maggio 1993 e l'ottobre 1996 sono state visitate oltre 5.000 donne, residenti nell'area napoletana, di età compresa tra i 30 ed i 69 anni e non affette dalle malattie di cui la ricerca si propone di studiare le cause. Circa 400 di queste donne provenivano da una selezione casuale effettuata dalle liste anagrafiche della città di Napoli. Le restanti hanno risposto volontariamente all'appello per la strutturazione di una banca dati e di una banca di campioni biologici. Tutte le partecipanti hanno sottoscritto il consenso informato per far sì che i dati raccolti, i campioni biologici ibernati e le notizie riguardanti eventuali ricoveri futuri o le certificazioni di morte possano essere utilizzati a fini scientifici, nel rispetto della legislazione sulla tutela dei dati personali. Alla visita basale sono state escluse partecipanti con precedente diagnosi di infarto del miocardio, ictus o cancro. Dopo un periodo di circa 10 anni dalla visita basale 210 donne, scelte fra le più anziane, sono state richiamate nel periodo 2002-2004. Tutte le partecipanti richiamate, tutte in menopausa, sono state sottoposte a esami biochimico-clinici. I dati osservati hanno costituito il campione studiato: un prelievo di sangue è stato effettuato per le analisi biochimiche comprendenti il dosaggio delle sd-LDL. Tutte le partecipanti hanno sottoscritto il consenso informato e lo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università di Napoli Federico II.

## **Materiali e Metodi**

I criteri dell'American Heart Association Scientific Statement sono stati usati per classificare le donne con Sindrome Metabolica sulla base della presenza di 3 o più dei seguenti fattori di rischio: (1) circonferenza addominale >88 cm, (2) trigliceridi a digiuno  $\geq 150$  mg/dl, (3) colesterolo HDL <50 mg/dl, (4) ipertensione (Pressione sanguigna sistolica  $\geq 130$  mm Hg, pressione sanguigna diastolica  $\geq 85$  mm Hg), e (5) glicemia a digiuno  $\geq 100$  mg/dl (1). Le misure antropometriche sono state effettuate presso gli ambulatori del Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Napoli Federico II. L'indice di massa corporea (IMC) usato come marcatore di obesità è stato calcolato come rapporto fra peso (Kg) e altezza (metri al quadrato). La circonferenza addominale come marcatore di obesità addominale è stata misurata a metà fra la parte inferiore

della gabbia toracica e la parte superiore della cresta iliaca. La pressione brachiale sanguigna a riposo è stata misurata 2 volte dopo un intervallo  $\geq 5$  minuti a riposo usando uno sfigmomanometro a zero-casuale. Un questionario standard è stato usato per raccogliere informazioni sulle abitudini al fumo. Il prelievo di sangue è stato effettuato in ambulatorio tra le ore 8.00 e le 9.30 con la partecipante a digiuno da almeno 12 ore, per ridurre l'influenza delle variazioni circadiane. Il colesterolo totale ed i trigliceridi sono stati misurati usando un metodo enzimatico standardizzato (14,15). Il colesterolo HDL è stato misurato dopo precipitazione delle lipoproteine a bassissima densità VLDL e delle lipoproteine a bassa densità LDL con acido fosfotungstico (16) ed il colesterolo LDL è stato calcolato con la formula di Friedewald. Il glucosio a digiuno è stato determinato enzimaticamente con il metodo della perossidasi. L'insulina a digiuno è stata determinata con un dosaggio immunoenzimatico ad alta sensibilità (Ultrasensitive Insulin Elisa, Mercodia, Svezia), l'errore del metodo, valutato utilizzando 2 sieri di controllo con livelli bassi ed alti di insulina, è risultato essere  $<10\%$ . L'Apolipoproteina B e la proteina C reattiva con metodica ultrasensibile sono state misurate con metodo automatizzato (Cobas-Mira, Roche, Italia). L'errore del metodo è stato valutato analizzando sieri di controllo ed è risultato essere  $<5\%$ . L'indice di insulino resistenza (HOMA) è stato calcolato moltiplicando il valore dell'insulina ( $\mu\text{U}/\text{mL}$ ) a digiuno per il valore del glucosio ( $\text{mM}$ ) a digiuno e dividendo il risultato per 22.5 come descritto da Matthews et al. (17).

### **Dosaggio LDL piccole e dense**

La separazione delle LDL piccole e dense è stata effettuata utilizzando il Sistema Lipoprint (Quantimetrix Inc., Redondo Beach, California). Questo metodo si basa sulla elettroforesi delle frazioni lipidiche, pre-colorate con Sudan black, in un gradiente non denaturante di poliacrilamide al 3%. Sono state separate 7 subfrazioni a grandezza decrescente e a crescente densità e mobilità elettroforetica (Rf). I coefficienti di variazioni inter- e intra-dosaggio per il colesterolo nelle 7 subfrazioni sono risultati essere  $<10\%$ . Il valore medio del diametro delle LDL (MPD) è stato calcolato con un programma computerizzato sulla base della media geometrica dei diametri delle 7 subfrazioni con differente mobilità elettroforetica (18,19). Questo parametro, determinato nel nostro laboratorio con il Sistema Lipoprint in 5 soggetti (2 donne normolipidemiche, di 27 e 35 anni, e 3 uomini ipertrigliceridemiche di 51, 55 e 64 anni), ha mostrato un alto grado di correlazione con il picco del diametro delle subfrazioni (PPD) determinato negli stessi soggetti nel Laboratorio del Dr. Krauss, Università di Berkley, California (20) (Spearman  $\rho = 0,900$ ,  $p=0,037$ ). Il rapporto percentuale (LDL score) fra le concentrazioni di colesterolo nelle subfrazioni 3-7 (LDL piccole e dense) e le concentrazioni di colesterolo nell'intera area delle LDL (subfrazioni 1-7) è stata

calcolata in tutti i campioni analizzati. Il diametro delle frazioni LDL al punto di separazione fra le subfrazioni 1-2 e le subfrazioni 3-7 è risultato 251 Å. I soggetti con un LDL score nel quinto quintile della popolazione studiata sono stati definiti come Pattern B (presenza di LDL piccole e dense) mentre i soggetti al di sotto del quinto quintile sono stati definiti come pattern A (assenza di LDL piccole e dense). Il più basso MPD corrispondente al pattern A è stato 268 Å. Usando questo valore per separare il pattern A dal pattern B un alto livello di concordanza è stato trovato con la separazione basata sul valore del quinto quintile dell'LDL score (Spearman rho e Kendall coefficiente di concordanza entrambe =0,860,  $p < 0,001$ ).

### **Analisi statistiche**

Le analisi statistiche sono state effettuate usando il programma SPSS versione 11,0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois). Le variabili continue sono state descritte come media e deviazione standard; l'analisi della covarianza è stata usata per il confronto aggiustato per l'età delle medie delle variabili biochimico/fisiche. I confronti fra donne con e senza Sindrome Metabolica sono stati effettuati usando il test t di Student per campioni indipendenti e test non parametrici, U- Mann-Whitney per variabili (us-PCR e Trigliceridi, Homa) non normalmente distribuite. Le analisi di regressione logistica univariata e multivariata sono state usate per testare la relazione indipendente fra LDL score (variabile dipendente discreta: definita come valore superiore o inferiore al quintile alto della distribuzione dell' LDL score), diagnosi di MS, componenti della MS: Trigliceridi (Logaritmicamente (Ln) trasformati per approssimarli ad una distribuzione normale), HDL-C, Glicemia, Pressione sistolica Pressione diastolica, Circonferenza addominale) ed età, insulina e apo B (variabile indipendente continua). I singoli componenti della SM non sono stati inclusi nello stesso modello insieme alla diagnosi di SM a causa del rischio di sovraggiustamento. Odds ratio (OR) per la presenza di LDL score è stato calcolato con la regressione logistica e il 95% di intervallo di confidenza è stato calcolato per l'errore standard degli odds ratio.

### **Risultati**

Il profilo di rischio cardiovascolare della popolazione del Progetto Atena all'età del reclutamento (1992-1996;  $n=5062$ ), divisa nel subgruppo sul quale sono state dosate successivamente le sd-LDL ( $N=210$ ) e la restante coorte ( $N=4852$ ) è mostrato in Tabella 1. Dopo l'aggiustamento per l'età, non sono risultate differenze statisticamente significative fra il subgruppo e la rimanente coorte.

Le caratteristiche chimico-cliniche delle partecipanti allo studio sono mostrate nella tabella 2-3. Su 86 (40,9%) delle 210 partecipanti è stata diagnosticata la SM. In aggiunta alle ovvie differenze nei

componenti della SM (Tabella 2), le donne con SM hanno uno score LDL (% sd-LDL) significativamente più alto rispetto alle donne senza SM (mediana 0 vs. 3,6,  $p < 0,001$  test Mann Whitney) (Figura 1). Il gruppo con MS mostra una età media più alta e livelli più alti di Colesterolo totale, Colesterolo-LDL, apo B, insulina, Proteina C reattiva ultrasensibile (us-PCR), inoltre in questo gruppo vi sono valori più alti di Indice di Massa Corporea (IMC) e Indice di insulino-resistenza (HOMA) rispetto al gruppo senza SM (Tabella 3).

L'analisi logistica univariata (Tabella 4) mostra una correlazione statisticamente significativa fra la SM, alcuni componenti della SM, apo B e insulina ed i livelli di score LDL (OR 4,80; 95% CI 2,29 -10,18;  $p < 0,001$  per diagnosi di SM); (OR 1,01; 95% CI 0,99 -1,03;  $p = 0,167$  per pressione sistolica); (OR 0,99; 95% CI 0,96-1,04;  $p = 0,887$  per pressione diastolica); (OR 0,92; 95% CI 0,89-0,95;  $p < 0,001$  per HDL-C); (OR 1,03; 95% CI 0,99-1,06;  $p = 0,070$  per circonferenza addominale); (OR 14,82; 95% CI 5,24-41,88;  $p < 0,001$  per Ln Trigliceridi); (OR 1,01; 95% CI 0,99-1,02;  $p = 0,075$  per glicemia); (OR 31,56; 95% CI 5,58-178,29;  $p < 0,001$  per apo B); (OR 1,07; 95% CI 1,00-1,15;  $p < 0,05$  per insulina).

L'analisi logistica multivariata fra LDL score, diagnosi di SM, componenti della SM ed altre covariate è riportata nella Tabella 5. Dopo l'aggiustamento per età, insulina e apo B (Modello 1), la diagnosi di sindrome metabolica è indipendentemente correlata ad elevato LDL score (quintile alto) (OR 4,00; 95% CI 1,76-9,09;  $p < 0,001$  per diagnosi di SM).

E' stata effettuata una analisi successiva nella quale sono stati analizzati i singoli componenti della SM in relazione all' LDL score (Modello 2). E' stata dimostrata una significativa ed indipendente relazione fra due componenti della SM, trigliceridi e HDL-C, (OR 4,41; 95% CI 1,22-15,87;  $p < 0,023$  per Ln Trigliceridi); (OR 0,94; 0,89-0,98;  $p < 0,009$  per HDL-C) ed elevato LDL score. In questo modello la associazione indipendente dell'apo B è stata confermata.

La sensibilità e la specificità dello score LDL in relazione alla MS è risultata essere del 33% e 90% rispettivamente, mentre il valore predittivo positivo è risultato nel campione analizzato essere del 70,7% e il valore predittivo negativo essere il 66,2%.

## **Discussione**

La prevalenza della Sindrome Metabolica nella popolazione studiata è risultata essere del 41%. Questo alto tasso per una popolazione residente nell'area mediterranea è risultato simile a quello di altre popolazioni residenti nell'Europa del Nord (24), nella popolazione Americana dello stesso range di età (25) e inoltre di recente riscontrato in altri campioni di popolazioni in Italia e in Grecia (26,27).

Il cambiamento delle abitudini alimentari (aumento del consumo calorico, dei grassi di origine animale, e dei cibi ad elevato indice glicemico), insieme ad uno stile di vita sedentario, hanno causato un elevato incremento nella prevalenza del sovrappeso, dell'obesità e della ridotta tolleranza al glucosio soprattutto nelle donne. Oltre al gruppo dei fattori di rischio usuali rilevati nelle partecipanti con sindrome metabolica, è stata riscontrata una significativa prevalenza di score LDL (sd-LDL) rispetto alle donne senza sindrome metabolica. La prevalenza di sd-LDL nella nostra popolazione è circa il 5% più bassa rispetto agli studi di Rizzo M. et al. (28), ma in linea con altri studi condotti su donne in menopausa in popolazioni non mediterranee (24). Usando criteri simili per definire le LDL piccole e dense la prevalenza delle sd-LDL è risultata del 35-45 % negli uomini, 5-10 % negli uomini con età inferiore ai 20 anni e nelle donne in pre-menopausa e 15-25% in donne in menopausa (29).

È stata osservata una forte associazione fra LDL score e diagnosi di SM, indipendentemente dalle altre covariate (età, insulina ed apo B). I componenti della SM significativamente correlati ad elevato LDL score sono risultati essere elevati livelli di trigliceridi e ridotti livelli di HDL-C. L'inversa relazione fra LDL score e HDL-C può essere spiegata con l'arricchimento in trigliceridi delle frazioni delle LDL e HDL osservato in molti pazienti con SM a causa della aumentata attività della proteina di trasferimento degli esteri del colesterolo (CETP). Questo arricchimento rende le HDL-C e le LDL maggiormente suscettibili all'attività lipolitica della Lipasi Epatica che riduce il contenuto degli esteri del colesterolo in entrambe le frazioni (30).

L' LDL score che rappresenta il rapporto percentuale fra le concentrazioni di colesterolo nelle subfrazioni 3-7 (LDL piccole e dense) e le concentrazioni di colesterolo nell'intera area delle LDL (subfrazioni 1-7) è stato associato significativamente alle malattie cardiovascolari in analisi multivariata (21,22,23).

Solo uno studio (31) ha suggerito che la misura delle sd-LDL non aggiunge informazioni indipendenti rispetto al colesterolo LDL e agli altri fattori di rischio. In ogni modo in questo studio l'analisi del diametro delle LDL è stata effettuata con una metodologia differente (risonanza magnetica nucleare) e il campione della popolazione analizzata risulta molto limitato.

La misura del diametro delle LDL è considerata un importante predittore degli eventi cardiovascolari e della progressione della malattia coronarica e le sd-LDL sono state classificate come fattore di rischio emergente dal National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (32).

Nella nostra popolazione l'LDL score ha mostrato una sensibilità relativamente bassa (33%) ma una alta specificità (90%). Poiché un test altamente specifico è raramente positivo in assenza di malattia il dosaggio delle sd-LDL potrebbe essere utile fra le donne, il cui sangue è conservato in banche

biologiche; può essere usato come test di conferma, in aggiunta agli usuali fattori di rischio, per la diagnosi della sindrome metabolica nella popolazione generale.

In conclusione, dal momento che l'intervento terapeutico sulle sd-LDL è possibile e favorisce la riduzione del rischio coronario (31), il dosaggio delle sd-LDL potrebbe essere utile nell'identificare un subgruppo di pazienti ad alto rischio, con prevalenti alterazioni lipidiche, fra quelli con diagnosi di sindrome metabolica (33) che necessitano di terapia ipolipemizzante.

Futuri studi epidemiologici sono auspicabili per esplorare il contributo specifico di questo marcatore nella valutazione del rischio cardiovascolare.



## **Bibliografia**

- 1) Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American heart association/national heart, lung, and blood institute scientific statement: executive summary. *Circulation* 2005; 112:285-90.
- 2) Carr MC, Brunzell JD. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2601-7.
- 3) Hulthe J, Bokemark L, Wikstrand J, Fagerberg B. The metabolic syndrome, LDL particle size, and atherosclerosis: the Atherosclerosis and Insulin Resistance (AIR) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:2140-7.
- 4) Mykkanen L, Kuusisto J, Haffner SM, Laakso M, Austin MA. LDL size and risk of coronary heart disease in elderly men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19:2742-8.
- 5) Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1988; 260:1917-21.
- 6) Austin MA, King MC, Vranizan KM, Krauss RM. Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation* 1990; 82:495-506.
- 7) Rizzo M, Berneis K, Corrado E, Novo S. The significance of low-density-lipoproteins size in vascular diseases. *Int Angiol* 2006; 25:4-9.
- 8) Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med* 1997; 337:408-416.
- 9) Maggi E, Chiesa R, Melissano G, et al. LDL oxidation in patients with severe carotid atherosclerosis: a study of in vitro and in vivo oxidation markers. *Arterioscler Thromb* 1994; 14:1892-99.
- 10) Wyatt SB, Winters KP, Dubbert PM. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Am J Med Sci* 2006; 331:166-74.

- 11) Palmieri L, Trojani M, Vanuzzo D, et al. Distribution of the global cardiovascular risk in the Italian population: results from the cardiovascular epidemiologic observatory. *Ital Heart J Suppl* 2005; 6:279-84.
- 12) Barbagallo CM, Cavera G, Sapienza M, et al. Prevalence of overweight and obesity in a rural southern Italy population and relationships with total and cardiovascular mortality: the Ventimiglia di Sicilia project. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25:185-90.
- 13) Panico S, Dello Iacovo R, Celentano E, et al. Progetto Atena, a study on the etiology of major chronic diseases in women: design, rationale and objectives. *Eur J Epidemiol* 1992; 8:601-8.
- 14) Siedel J, Schlumberger H, Klose S, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Improved reagent for enzymatic determination of serum cholesterol. *J Clin Chem Biochem* 1981; 19:838-9.
- 15) Wahlefeld AW. Triglyceride determination after enzymatic hydrolysis, Bergmeyer H.U. (Ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 4, 2nd Ed (1974), Academic Press, New York. p. 1831.
- 16) Lopes-Virella M.F, Stone P, Ellis S, Colwell JA. Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods. *Clin Chem* 1977; 23:882-4.
- 17) Matthews DR, Hosker, JP, Rudenski, AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28:412-9.
- 18) Kazumi T, Kawaguchi A, Hozumi T, et al. Low density lipoprotein particle diameter in young, nonobese, normolipidemic Japanese men. *Atherosclerosis* 1999; 142:113-9.
- 19) Hoefner DM, Hodel SD, O'Brien JF, et al. Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clin Chem* 2001; 47:266-74.
- 20) Krauss RM, Burke DJ. Identification of multiple subclasses of plasma low-density lipoproteins in normal humans. *J Lipid Res* 1982; 23:97-104.

- 21) Austin MA, Hokanson JE, Brunzell JD. Characterization of low-density lipoprotein subclasses: methodologic approaches and clinical relevance. *Curr Opin Lipidol* 1994; 5:395-403.
- 22) Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low-density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *JAMA* 1996; 276:875-81.
- 23) St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, et al. Low-density lipoprotein subfractions and the long-term risk of ischemic heart disease in men: 13-year follow-up data from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:553-9.
- 24) Maki KC, Davidson MH, Cyrowski MS, Maki AC, Marx P. Low-density lipoprotein subclass distribution pattern and adiposity-associated dyslipidemia in postmenopausal women. *J Am Coll Nutr* 2000; 19:23-30.
- 25) Butler J, Rodondi N, Zhu Y, et al. Metabolic syndrome and the risk of cardiovascular disease in older adults. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47:1595-602.
- 26) Maggi S, Noale M, Gallina P, et al. Metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular disease in an elderly Caucasian cohort: the Italian Longitudinal Study on Aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006; 61:505-10.
- 27) Athyros VG, Bouloukos VI, Pehlivanidis AN, et al. The prevalence of the metabolic syndrome in Greece: the MetS-Greece Multicentre Study. *Diabetes Obes Metab* 2005; 7:397-405.
- 28) Rizzo M, Barbagallo CM, Severino M, et al. Low-density-lipoprotein peak particle size in a Mediterranean population. *Eur J Clin Invest* 2003; 33:126-33.
- 29) Rizzo M, Berneis K. Low-density lipoprotein size and cardiovascular risk assessment. *QJM* 2006; 99:1-14.
- 30) Kwiterovich PO Jr. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol* 2002; 90:30-47.

31) Blake GJ, Otvos JD, Rifai N, Ridker PM. Low-density lipoprotein particle concentration and size as determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy as predictors of cardiovascular disease in women. *Circulation* 2002; 106:1930-7.

32) 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.

33) Rizzo M, Berneis K, Corrado E, Novo S. The significance of low-density-lipoproteins size in vascular diseases. *Int Angiol* 2006; 25:4-9.

**Tabella 1: Profilo di rischio cardiovascolare del Progetto Atena all'età del reclutamento (1992 – 1996; n= 5062 donne) diviso nel subgruppo con successivo dosaggio delle LDL piccole e dense e la rimanente popolazione <sup>1</sup>**

	<b>Subgruppo</b> (N =210)	<b>Coorte rimanente</b> (N=4852)
<b>Età (anni)</b>	<b>52,7 ± 0,5 *</b>	<b>49,9 ± 0,1</b>
<b>Indice Massa corporea (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>27,0 ± 0,6</b>	<b>27,0 ± 0,2</b>
<b>Pressione sanguigna (mm Hg)</b>		
<b>Sistolica</b>	<b>133,8 ± 0,2</b>	<b>133,9 ± 0,3</b>
<b>Diastolica</b>	<b>81,3 ± 0,1</b>	<b>81,4 ± 0,1</b>
<b>Colesterolo (mg/dL)</b>		
<b>Totale</b>	<b>236,5 ± 0,6</b>	<b>236,8 ± 0,02</b>
<b>HDL-C</b>	<b>62,5 ± 0,2</b>	<b>61,8 ± 0,01</b>
<b>LDL</b>	<b>151,8 ± 0,5</b>	<b>150,8 ± 0,01</b>
<b>Trigliceridi (mg/dL)</b>	<b>112,0 ± 0,8</b>	<b>106,1 ± 0,02</b>

<sup>1</sup> Media ± ES, valori aggiustati per età.

\* Significativamente differenti dalla rimanente coorte, P <0,01.

**Table 2: Caratteristiche cliniche ed biochimiche delle donne con o senza Diagnosi di Sindrome Metabolica (SM) (Variabili incluse nella Diagnosi di SM)**

<b>Variabile</b>	<b>No (n = 124)</b>	<b>Si (n = 86)</b>
<b>Età (anni)</b>	<b>61,9 ± 8,7</b>	<b>63,9 ± 7,3</b>
<b>Trigliceridi (mg/dL)^</b>	<b>89,8 ± 30</b>	<b>136,6 ± 59,3**</b>
<b>HDL-C (mg/dL)</b>	<b>62,3 ± 13</b>	<b>51,3 ± 11,2**</b>
<b>Glicemia (mg/dL)</b>	<b>97,5 ± 18</b>	<b>115,7 ± 32**</b>
<b>Pressione sanguigna sistolica (mm Hg)</b>	<b>137,3 ± 21</b>	<b>150,8 ± 19,3**</b>
<b>Pressione sanguigna diastolica (mm Hg)</b>	<b>79,9 ± 9,2</b>	<b>84,3 ± 7,2**</b>
<b>Circonferenza addominale (cm)</b>	<b>86,6± 9,2</b>	<b>98,9 ± 9,1 **</b>

Valori espressi come media ± DS.

\* p <0.05; \*\* p <0.001.

^ U-Mann-Whitney

**Table 3: Caratteristiche cliniche ed biochimiche delle donne con o senza Diagnosi di Sindrome Metabolica (SM) (Variabili non incluse nella Diagnosi di SM)**

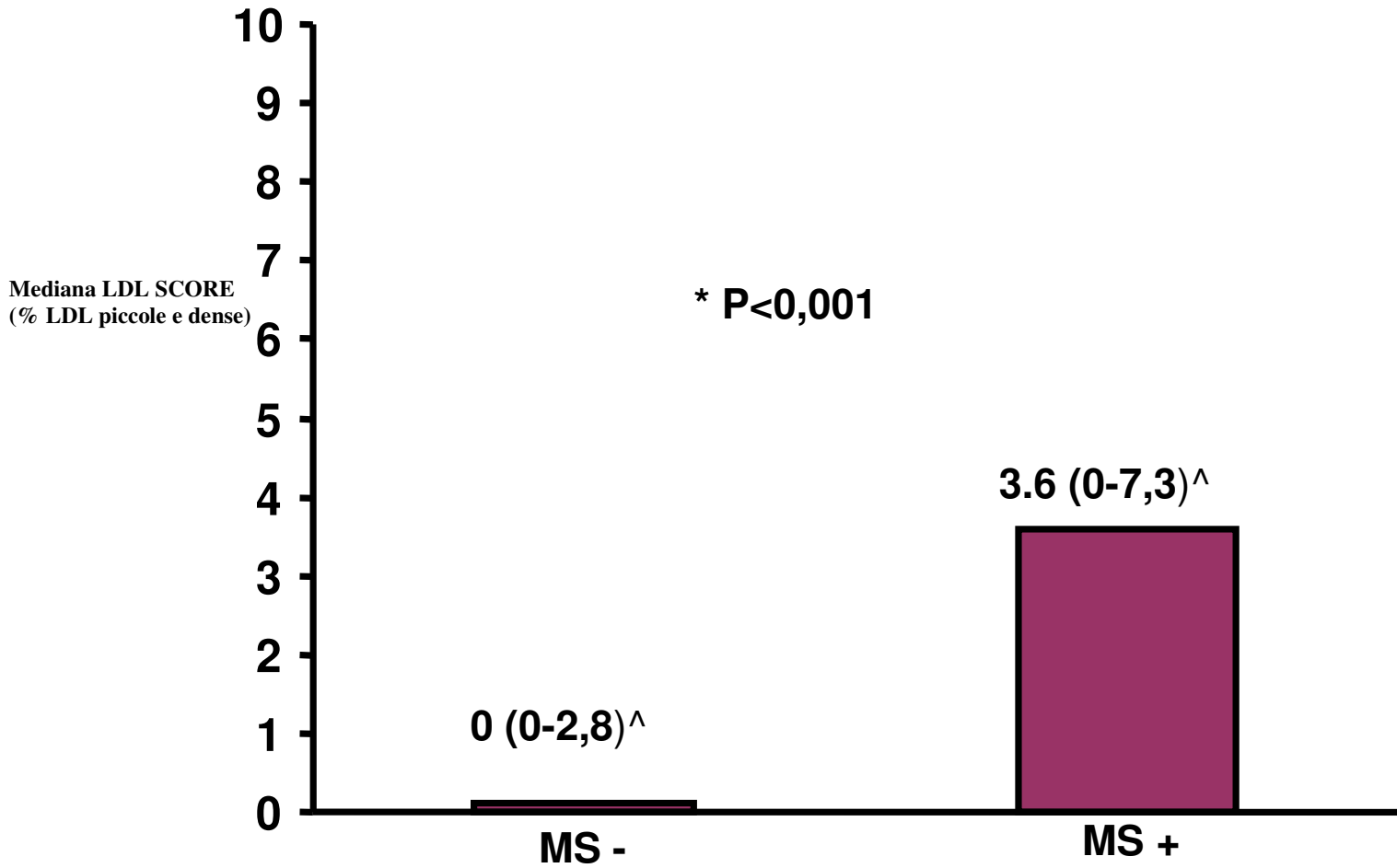
<b>Variabile</b>	<b>No (n = 124)</b>	<b>Yes (n = 86)</b>
<b>Colesterolo totale (mg/dL)</b>	<b>219 ± 35</b>	<b>230,1 ± 39,3*</b>
<b>LDL-C (mg/dL)</b>	<b>139,4 ± 31</b>	<b>151,5 ± 34*</b>
<b>Apolipoproteina B (g/L)</b>	<b>1,0 ± 0,2</b>	<b>1,1 ± 0,2*</b>
<b>Us-PCR (mg/L)^</b>	<b>2,4 ± 2,7</b>	<b>3,2 ± 5,6*</b>
<b>Insulina (mU/L)</b>	<b>5,6 ± 3</b>	<b>8,4 ± 5,3**</b>
<b>Indice di massa corporea (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>26,5 ± 4,2</b>	<b>30,7 ± 4,2**</b>
<b>Indice di insulino resistenza (HOMA)</b>	<b>1,3 ± 0,8</b>	<b>2,4 ± 1,5**</b>
<b>Diametro medio LDL (Å)</b>	<b>272 ± 2,5</b>	<b>269 ± 3,7 **</b>

Valori espressi come media ± DS.

\* p <0,05; \*\* p <0,001.

^ U-Mann-Whitney

**Fig.1 Mediana LDL score in donne con (N=86) o senza (N=124) Diagnosi di Sindrome Metabolica (SM)**



<sup>^</sup>Mediana (range interquartile);

\* Mann-Whitney





**Table 4: Relazione fra score LDL, Diagnosi di Sindrome Metabolica e altre variabili: analisi logistica univariata**

Variabili Indipendenti	Variabile dipendente Score LDL*		
	P	OR	95.0% IC per OR Alto – Basso
Diagnosi Sindrome Metabolica (2)	<0,001	4,80	2,29 – 10,18
<b>Componenti Sindrome Metabolica (1):</b>			
Ln Trigliceridi	<0,001	14,82	5,24 – 41,88
HDL-C	<0,001	0,92	0,89 – 0,95
Glicemia	0,075	1,01	0,99 – 1,02
Pressione Sistolica	0,167	1,01	0,99 – 1,01
Pressione Diastolica	0,887	0,99	0,96 – 1,04
Circonferenza addominale	0,070	1,03	0,99 – 1,06
<b>Altre variabili (1):</b>			
Insulina	0,045	1,07	1,00 – 1,15
Apo B	<0,001	31,56	5,58 – 178,29
Età	0,326	1,02	0,98 - 1,06

(1) Variabili Continue

(2) Variabili Discrete

\* Variabili Discrete con quintile alto come outcome

**Table 5: Relazione fra score LDL, Diagnosi di Sindrome Metabolica e componenti: analisi logistica multivariata**

<b>Variabili Indipendenti</b>	<b>Variabile dipendente Score LDL*</b>			
	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>95.0% IC per OR</b>	
			<b>Basso – Alto</b>	
<b>Età(1)</b>	<b>0,607</b>	<b>1,01</b>	<b>0,96-1,06</b>	
<b>Diagnosi Sindrome Metabolica (2)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>4,73</b>	<b>2,23- 10,01</b>	
<b>Età (1)</b>	<b>0,736</b>	<b>1,00</b>	<b>0,96-1,06</b>	
<b>Diagnosi Sindrome Metabolica (2)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>4,00</b>	<b>1,76-9,09</b>	
<b>Insulina (1)</b>	<b>0,238</b>	<b>1,03</b>	<b>0,95-1,12</b>	
<b>Apo B (1)</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>21,41</b>	<b>3,55-128,92</b>	
<b>Età (1)</b>	<b>0,782</b>	<b>0,78</b>	<b>0,95 – 1,06</b>	
<b>Componenti Sindrome Metabolica (1):</b>				
<b>Ln Trigliceridi</b>	<b>0,001</b>	<b>7,61</b>	<b>2,31–25,04</b>	
<b>HDL-C</b>	<b>0,007</b>	<b>0,94</b>	<b>0,90–0,98</b>	
<b>Glicemia</b>	<b>0,982</b>	<b>1,00</b>	<b>0,98–1,013</b>	
<b>Pressione Sistolica</b>	<b>0,533</b>	<b>1,00</b>	<b>0,98-1,02</b>	
<b>Circonferenza addominale</b>	<b>0,587</b>	<b>0,98</b>	<b>0,95-1,02</b>	
<b>Età (1)</b>	<b>0,962</b>	<b>1,00</b>	<b>0,94-1,05</b>	
<b>Componenti Sindrome Metabolica (1):</b>				
<b>Ln Trigliceridi</b>	<b>0,023</b>	<b>4,41</b>	<b>1,22-15,87</b>	
<b>HDL-C</b>	<b>0,009</b>	<b>0,94</b>	<b>0,89-0,98</b>	
<b>Glicemia</b>	<b>0,593</b>	<b>0,99</b>	<b>0,98-1,01</b>	
<b>Pressione Sistolica</b>	<b>0,354</b>	<b>1,00</b>	<b>0,99-1,03</b>	
<b>Circonferenza addominale</b>	<b>0,448</b>	<b>0,98</b>	<b>0,94-1,02</b>	
<b>Apo B</b>	<b>0,012</b>	<b>15,71</b>	<b>1,81-135,86</b>	
<b>Insulina</b>	<b>0,304</b>	<b>1,04</b>	<b>0,96-1,13</b>	

Modello 1

Modello 2

(1) Variabili Continue

(2) Variabili Discrete

\* Variabili Discrete con quintile alto come outcome