

DOTTORATO DI RICERCA

In

FISIOPATOLOGIA CLINICA E MEDICINA SPERIMENTALE



XXII Ciclo

Coordinatore Prof. G. Marone

Le LDL piccole e dense nella iperlipidemia combinata familiare sono associate ad un aumentato rischio cardiovascolare, indipendentemente dalla sindrome metabolica

Tutor Prof. Paolo Rubba

Dottoranda Dott. Angela Baiano

1. Introduzione

L'iperlipidemia combinata familiare (FCHL) è un complesso disordine metabolico associato ad un elevato rischio cardiovascolare (CVD) [1,2] e ad una aumentata prevalenza di particelle di LDL piccole e dense (sdLDL) [3,4,5]. Molti pazienti con FCHL soddisfano i criteri per la diagnosi di sindrome metabolica (SM), poiché sia la SM, che la FCHL presentano una bassa concentrazione plasmatica di lipoproteine ad alta densità (HDL-C) ed alta di trigliceridi (Tg) [6].

La SM, come la FCHL, è accompagnata da un'aumentata prevalenza di sdLDL [7,8], ciò è dovuto all'insulina resistenza, all'accumulo di grasso viscerale ed all'aumento dei livelli plasmatici dei trigliceridi [9]. Perciò, non è chiaro se le sdLDL siano un fattore indipendente di FCHL in pazienti che presentano anche diagnosi di SM. L'importanza delle sdLDL è rappresentata dalla loro proprietà aterogene [9]. Diversi, ampi, studi prospettici, della popolazione generale, usando un gradiente elettroforetico in gel per separare nelle varie dimensioni le LDL confermano la relazione tra le sdLDL e gli eventi coronarici [10-13], benché non tutti gli studi trovano che tale ruolo sia indipendente dalle HDL-C e dai trigliceridi. Nessuna informazione è disponibile sulla possibile relazione tra alti livelli di sdLDL e rischio cardiovascolare in pazienti con FCHL, considerando anche HDL-C, trigliceridi e possibile presenza di SM.

Gli scopi di questo studio sono:

- Valutare il ruolo delle sdLDL come marcatore della FCHL, indipendentemente dall'eventuale presenza di SM.
- Investigare la relazione tra alti livelli di sdLDL e le malattie cardiovascolari, come espressione di eventi sia personali che familiari, nei pazienti con FCHL.

1.1 Pazienti

Dopo esclusione di cause secondarie di dislipidemia e dopo esclusione di pazienti che utilizzino qualsiasi farmaco che interferisce con il metabolismo dei lipidi, sono stati inclusi nello studio 135 pazienti con FCHL (30% donne), appartenenti ognuno a famiglie diverse, e reclutati consecutivamente presso l'ambulatorio delle dislipidemie dell'Università di Napoli "Federico II".

La diagnosi di FCHL è stata posta in base ai criteri recentemente suggeriti da un comitato di esperti [14-6]: trigliceridemia > 200 mg/dL e/o apolipoproteina B (apo B) nel siero > 130 mg/dL e/o colesterolo delle lipoproteine a bassa densità (LDL-C) nel siero > 160mg/dL nei probandi più

variabilità fenotipica in almeno un parente di primo grado, e/o storia di malattia cardiovascolare prematura nei probandi e/o nei parenti di primo grado.

La SM è stata diagnosticata in base ai criteri suggeriti dall'American Heart Association Statement [15] e con l'esclusione dei pazienti che utilizzavano farmaci ipolipidemizzanti, i criteri sono stati soddisfatti in 94 pazienti con FCHL (69,6%). 11 pazienti avevano diabete di tipo 2, 10 di essi erano in terapia con ipoglicemizzanti orali, nessuno era in terapia con insulina.

I soggetti di controllo provenivano dalle liste di tre medici di base dell'area napoletana. Sono stati invitati ad eseguire un controllo clinico e biochimico 200 soggetti clinicamente sani (50% donne), con età compresa tra 25 e 65 anni, senza storia di malattie metaboliche, cardiovascolari e/o croniche: la percentuale di accettazione è stata dell'85%.

Per essere inclusi nello studio la loro pressione arteriosa doveva essere inferiore a 140/90 mmHg e il colesterolo LDL e i trigliceridi plasmatici dovevano essere minori di 160 e 200 mg/dL, rispettivamente. 146 soggetti (58% donne) sono risultati idonei.

Al momento del prelievo ematico nessuno dei partecipanti allo studio riferiva o mostrava segni di infiammazione o di altre malattie concomitanti.

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

2. Metodi

Il sangue è stato prelevato dalla vena antecubitale dopo 12 ore di digiuno, dalle 8:00 alle 9:30 del mattino, per ridurre l'influenza della variazione circadiana.

Le concentrazioni di colesterolo e trigliceridi sono state misurate con metodi enzimatici standardizzati (20,21).

Il colesterolo delle lipoproteine ad alta densità (HDL) è stato dosato dopo precipitazione delle lipoproteine a densità molto bassa (VLDL) e delle LDL con acido fosfotungstico (22), Il colesterolo LDL è stato calcolato con la formula di Friedewald in caso di trigliceridi inferiori a 400mg/dL. Nei pazienti con Tg>400mg/dL ($n=20$) non è stato calcolato.

I livelli di glucosio a digiuno sono stati determinati enzimaticamente con il metodo della perossidasi. I livelli di insulina a digiuno sono stati determinati con metodo immunoenzimatico (Ultrasensitive Insulin Elisa, Mercodia, Sweden). L'errore della metodica è stato valutato su due sieri ad alta e bassa concentrazione di insulina, ed è risultato <10%.

L'apo B e la PCR ad alta sensibilità (hs-PCR) sono state dosate con metodo turbidimetrico automatico (Cobas-Mira, Roche, Italia). L'indice Homeostasis Model Assessment (HOMA) è stato

usato per valutare l'insulino-resistenza ed è stato calcolato moltiplicando l'insulina sierica ($\mu\text{U}/\text{mL}$) per la glicemia sierica a digiuno (mM), e dividendo per 22,5.

2.1 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% [7]. Sono state separate 7 subfrazioni a grandezza decrescente ed a crescente densità e mobilità elettroforetica (R_f). 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. 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. Tutti i pazienti con FCHL hanno risposto ad un nostro questionario che indagava sulle malattie cardiovascolari sia del paziente che dei familiari di primo grado. La variabile categorica dell'evento cardiovascolare è stata considerata positiva quando il paziente o un parente di primo grado erano stati colpiti da infarto del miocardio (IMA), angina stabile o instabile, ictus o attacco ischemico transitorio, malattia periferica vascolare.

I pazienti FCHL ed i soggetti di controllo sono stati considerati fumatori se fumavano, al momento della visita, almeno 5 sigarette al giorno o se avevano smesso entro i 12 mesi precedenti.

2.2 Analisi statistica

I valori dei trigliceridi, Homa e sdLDL, che sono variabili non normalmente distribuite, sono stati trasformati in maniera logaritmica prima di essere confrontati tra i gruppi. Una normale distribuzione era stata realizzata solo per i trigliceridi e Homa (Shapiro-Wilk test). Il T-test è stato usato per confrontare le variabili a distribuzione normale, il Mann-Whitney per confrontare le variabili che non sono distribuite normalmente.

Il χ^2 è stato usato per confrontare la distribuzione di variabili categoriche tra i gruppi. La regressione logistica binaria è stata usata per valutare la relazione fra i livelli di sdLDL, espresso come LDL score (variabile indipendente) con la diagnosi di FCHL (variabile dipendente). LDL score è stato il primo inserito come variabile continua nella regressione logistica binaria aggiustata

(per età, sesso, BMI, HOMA, apo B e diagnosi di SM) e non aggiustata. Nelle sotto analisi questo parametro è stato inserito come variabile dicotomica: valori superiori o inferiori il 50°, 75°, 90° e 95° percentile del gruppo controllo (11,54, 4,44, 10,23, 13,11%, rispettivamente). Quando l'aggiustamento è stato fatto per i componenti della SM, invece che per la diagnosi di SM, i livelli trigliceridi sono stati inseriti come valore dicotomico (sopra o sotto 150 mg/dL, limite utilizzato per definizione della SM), anche considerando la distribuzione bimodale ed una forte asimmetria a dx (=2.49) di tutta la popolazione che includeva soggetti controllo normotrigliceridemicici e pazienti FCHL prevalentemente ipertrigliceridemicici. La regressione logistica binaria è stata utilizzata per valutare il ruolo dei percentili dell' LDL score come predittori di eventi cardiovascolari (variabile dipendente dicotomica), nella popolazione FCHL, aggiustando per età, sesso, diagnosi di SM, colesterolo ed apoB, tale relazione è stata testata anche con aggiustamento per i singoli componenti della SM, includendo anche i livelli dei trigliceridi. Le analisi statistiche sono state effettuate usando il programma SPSS versione 12.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois).

3. Risultati

La **Tabella 1** illustra le caratteristiche cliniche e biochimiche dei soggetti di controllo e dei pazienti con FCHL. La percentuale di uomini e l'età sono risultate significativamente maggiori nel gruppo FCHL rispetto al gruppo dei soggetti sani. Significativamente diversi sono risultati, come previsto, il profilo lipidico e gli indicatori di resistenza all'insulina, come IMC e HOMA.

Nel gruppo FCHL il 63% dei pazienti ha riferito una storia di evento cardiovascolare personale e/o familiare. Valori di LDL score sopra il 90° e 95° percentile dei valori del gruppo controllo (10,23 e 13,11, rispettivamente) sono stati riscontrati nel 77% e 67% dei pazienti con FCHL, rispettivamente. Sensibilità e specificità dell'LDL score per la diagnosi di FCHL sono risultati, rispettivamente, del 78% e 89% per il 90° percentile dell'LDL score e 67 e 94% per il 95° percentile dell'LDL score.

E' stata valutata mediante regressione logistica binaria (**Tabella 2**) la relazione tra l'aumento dell'LDL score, variabile indipendente dicotomizzata, al di sopra al di sotto del 50°, 75°, 90° e 95° percentile dell'LDL score osservati nel gruppo controllo, e la diagnosi di FCHL, variabile dipendente. Le regressioni sono presentate non aggiustate ed aggiustate per anni, sesso, BMI e HOMA, per i livelli di apo B e per la presenza o assenza di SM. Il completo aggiustamento ha lasciato significativa la relazione tra alti livelli di LDL score, al di sopra del 90° e del 95° percentile dei valori del gruppo controllo e la diagnosi di FCHL. Il colesterolo HDL, i trigliceridi e la pressione diastolica sono risultati essere significativi predittori al 75°, 90° e 95° percentile dell'LDL

score nella nostra popolazione. Nella regressione logistica aggiustata con il 95° percentile dell'LDL score, usato come variabile dipendente, i livelli di p sono risultati 0,047, 0,001 e 0,015 per la relazione con HDL colesterolo, trigliceridi e pressione arteriosa diastolica, rispettivamente. Perciò, nell'altro modello di regressione logistica il completo aggiustamento delle relazioni tra i percentili dell'LDL score e la diagnosi di FCHL sono stati utilizzati invece della diagnosi di SM, i singoli componenti della SM, espressi come variabile continua, e i trigliceridi sierici espressi come valori sopra sotto i 150mg/dL. La significativa relazione dei valori dell'LDL score al di sopra del 90° e del 95° percentile del gruppo controllo con la diagnosi di FCHL sono stati confermati: odds ratio (OR)=7,41, 95% intervallo di confidenza (IC)=1,78-30,81, p=0,006, e OR=11,35, 95% IC=2,61-49,29, p=0,001, rispettivamente. Nella regressione logistica aggiustata per età e SM, utilizzata separatamente per gli uomini e le donne, aveva dimostrato una relazione indipendente tra i valori dell'LDL score al di sopra del 50°, 75°, 90° e del 95° percentile del gruppo controllo e la diagnosi di FCHL in tutti e due i sessi, benché più marcata negli uomini (dati non mostrati).

La relazione tra sdLDL, espresse come variabile continua intermini assoluti (mg/dL del colesterolo nelle sub-frazioni 3-7), con la diagnosi di FCHL era stata valutata anche dopo aggiustamento per età, sesso, apo B e SM, ed risultata significativa: OR=1,25; 95% IC 1,08-1,44, p=0,002.

Nella **Tabella 3** sono riportate le caratteristiche cliniche e biochimiche dei FCHL con e senza CVD personali o familiari. I pazienti con CVD mostravano età maggiore, più elevati livelli plasmatici di colesterolo ed un alto LDL score rispetto ai pazienti senza CVD. I valori di Apo B ed i singoli componenti della SM erano più elevati nei pazienti con CVD, ma non statisticamente significativi.

Nella **Tabella 4** la relazione tra aumento di percentile dell'LDL score nei pazienti FCHL e presenza o assenza di CVD (variabile dipendente dicotomizzata) è stata valutata mediante una regressione logistica binaria, la relazione tra i valori LDL score al 95° percentile del gruppo controllo e CVD nei FCHL dopo aggiustamento per età, sesso, presenza di SM, colesterolemia e Apo B è risultata significativa anche dopo aggiustamento per diabete mellito. Valori di LDL score al di sopra del 95° dei valori del gruppo controllo mostravano una relazione statisticamente significativa con gli eventi CVD: OR=4,11, IC 95% 1,24-13,58, p=0,02, tale relazione rimaneva significativa anche correggendo l'analisi per tutti i singoli componenti della SM, incluso i livelli plasmatici dei trigliceridi, espressi come variabile continua: OR=27,37, IC 95%, p=0,03.

La relazione tra le sdLDL, espresse come variabile continua in termini assoluti (mg/dL del colesterolo nelle sub-frazioni 3,7), con gli eventi CVD è stata analizzata anche aggiustando per età, sesso e diagnosi di SM ed è risultata significativa: OR=1,04; IC 95% 1,00-1,07, p=0,049.

4. Discussione

Il presente studio ha portato alla conclusione che elevati livelli plasmatici di sdLDL sono risultati marcatori altamente specifici di diagnosi di FCHL, indipendentemente dalla presenza di SM. Nei pazienti con FCHL alti livelli di sdLDL erano associati ad eventi cardiovascolari, indipendentemente dalla coesistenza di SM e dai livelli sierici di colesterolo e apoB.

Un'aumentata concentrazione di sdLDL è un ben noto indicatore di FCHL. La maggiore conseguenza di questa osservazione è stata la frequente presenza di ipertrigliceridemia in questi pazienti [16], sebbene un aumento della concentrazione di sdLDL è stato trovato anche nei fenotipi normotrigliceridemici dei pazienti FCHL [5]. In aggiunta all'alta prevalenza di ipertrigliceridemia, il nostro campione conferma che i pazienti con FCHL sono anche in sovrappeso ed insulino resistenti rispetto ai soggetti controllo [17]. Una chiara relazione esiste tra questi due parametri e le sdLDL [18], il ruolo indipendente delle sdLDL nei pazienti con FCHL è stato testato e verificato dopo aggiustamento per BMI ed HOMA. L'insulino resistenza, correlata all'obesità addominale ed alla circonferenza addominale, è un possibile componente della SM, un gruppo di alterazioni metaboliche che spesso includono l'ipertrigliceridemia e bassi livelli di HDL colesterolo. A circa il 70% dei nostri pazienti con FCHL è stata diagnosticata anche la SM, e le sdLDL sono risultate essere elevate prevalentemente in entrambi i sessi con SM. [18,7]. Simile risultato si è ottenuto con l'aggiustamento della relazione tra sdLDL e diagnosi FCHL per la presenza di SM. Un ruolo indipendente degli elevati livelli di sdLDL come predittori di diagnosi di FCHL è stato confermato dopo tali aggiustamenti e anche dopo sostituzione nei modelli sia dei singoli componenti della SM che per la diagnosi di SM come variabile dicotomica. Lo studio sull'ereditarietà di alti livelli di sdLDL nei FCHL, espresso come pattern B, suggeriva una trasmissione come singolo gene autosomico dominante [19], strettamente associato con aumento sierico del livello di apo B e dei trigliceridi e riduzione delle HDL colesterolo. Comunque, anche i familiari dei pazienti affetti da FCHL con pattern A mostravano aumento dei livelli di apo B. Così, il locus per elevati livelli di apo B nei FCHL non può spiegarsi per le sottoclassi pattern B nei FCHL, e nel nostro campione l'aggiustamento per apo B della relazione tra LDL score e diagnosi di FCHL non cambiava la significatività statistica.

Se l'apo B e tutti i componenti della SM non possono spiegare la relazione tra LDL score (al di sopra di 10) e la diagnosi di FCHL, può essere ipotizzato che gli aumenti di sdLDL sono sotto diverso controllo genetico. Non sono statisticamente significative le associazioni attualmente trovate tra i livelli di sdLDL e svariati geni dell' upstream stimulatory factor (USF) 1, un gene

candidato del FCHL [20]. Nella popolazione del Quebec Study le differenze non significative del massimo diametro delle LDL si sono riscontrate nei portatori di differenti varianti del gene USF 1, i quali sono tuttavia associati in maniera significativa ai parametri relativi agli adipociti [21].

Il principale risultato di questo lavoro è la relazione indipendente tra gli elevati livelli di LDLscore e gli eventi cardiovascolari nei pazienti FCHL. L'LDLscore, che è rappresentato dal rapporto tra le LDL piccole (sub-frazioni 3-7) e tutte le LDL (tutte le sub-frazioni 1-7), è risultato significativamente associato alle malattie cardiovascolari in un grande studio prospettico[12]. Il confronto delle caratteristiche cliniche e biochimiche dei pazienti FCHL con e senza evento cardiovascolare ha mostrato una significativa differenza nell'età, colesterolo sierico e nelle subfrazioni delle LDL sia nel diametro che nello score. Inoltre, tutti i componenti della SM sono risultati differenti nei due gruppi, con trigliceridemia e pressione sistolica vicino alla significatività statistica. Tutti questi fattori confondenti possono essere considerati nella valutazione della possibile relazione tra alti livelli di LDLscore con gli eventi cardiovascolari. L'aggiustamento per età, sesso, diagnosi di SM, colesterolemia e livelli di apo B, tutti considerati fattori di rischio cardiovascolare, ha lasciato come indicatore di rischio cardiovascolare l'LDL score al di sopra di 13. La possibile causa della relazione tra la presenza di eventi cardiovascolari e sdLDL può essere spiegata con le proprietà aterogene delle sdLDL, che includono il ridotto riconoscimento da parte dei recettori LDL, l'aumentata interazione con i recettori scavenger dei macrofagi ed aumento della suscettibilità all'ossidazione [9]. Tutte queste alterazioni sono associate ad una lunga emivita sierica rispetto alle LDL normali, e alla disfunzione endoteliale; entrambe le condizioni possono promuovere l'aterosclerosi.

Le conclusioni di questo studio possono avere implicazioni nella pratica clinica:

- a) Un alto LDLscore, al di sopra di 10,0, può essere un utile strumento di diagnosi di FCHL, particolarmente nei dislipidemici senza una storia familiare dimostrabile;
- b) Un alto LDL score, al di sopra di 13,0, nei pazienti con diagnosi definitiva di FCHL, può essere un marcatore prognostico di rischio cardiovascolare.

In conclusione questo studio indica che l'aumento delle concentrazioni plasmatiche delle sdLDL, indipendentemente dalla SM, è un marcatore per la diagnosi di FCHL e rappresenta inoltre un marcatore prognostico di rischio cardiovascolare nei pazienti FCHL.

Bibliografia

- [1] Genest JJ, Martin-Munley SS, McNamara JR, et al. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation* 1992;85:2025-33.
- [2] Hopkins PN, Heiss G, Ellison RC, et al. Coronary artery disease risk in familial combined hyperlipidemia and familial hypertriglyceridemia: a case-control comparison from the National Heart, Lung and Blood Institute Family Heart Study. *Circulation* 2003; 108:519-23.
- [3] Demacker PN, Veerkamp MJ, Bredie SJ, et al. Comparison of the measurement of lipids and lipoproteins versus assay of apolipoprotein B for estimation of coronary heart disease risk: a study in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2000;153:483-90.
- [4] McNeely MJ, Edwards KL, Marcovina SM, et al. Lipoprotein and apolipoprotein abnormalities in familial combined hyperlipidemia: a 20-year prospective study. *Atherosclerosis* 2001;159:471-81.
- [5] Ayyobi AF, McGladdery SH, McNeely MJ, et al. Small, dense LDL and elevated apolipoprotein B are the common characteristics for the three major lipid phenotypes of familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1289-94.
- [6] Pauciullo P, Gentile M, Marotta G, et al. Tumor Necrosis Factor- α is a marker of familial combined hyperlipidemia, independently of metabolic syndrome. *Metabolism* 2008;57:563-8.
- [7] Gentile M, Panico S, Jossa F, et al. Small dense LDL particles and metabolic syndrome in a sample of middle-aged women. Findings from Progetto Atena *Clin Chim Acta* 2008;388:179-83.
- [8] Rizzo M, Berneis K. Small, dense low density lipoproteins and metabolic syndrome. *Diab Metab Res Rev* 2007;23:14-20.
- [9] Kwiterovich Jr PO. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol* 2002;90:30-47.
- [10] 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.
- [11] Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1996;276:882-8.
- [12] 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 Bio* 2005;25:553-9.

- [13] Lamarche B, Tchernof A, Moojani S, et al. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective result from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* 1997;95:69-75.
- [14] Gaddi A, Galletti C, Pauciullo P, Arca M, Familial combined hyperlipoproteinemia: expert panel position on diagnostic criteria for clinical practice. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1999;9:304-11.
- [15] 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. *Circulation* 2005;112:2735-52.
- [16] Vakkilainen J, Jauhiainen M, Ylitalo K, et al. LDL particle size in familial combined hyperlipidemia: effect of serum lipids, lipoprotein-modifying enzymes, and lipid transfer proteins. *J Lipid Res* 2002;43:598-603.
- [17] 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.
- [18] Hunthe 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.
- [19] 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.
- [20] Van der Vleuten GM, Isaac A, Hijmans A, et al. The involvement of upstream stimulatory factor 1 in Dutch patients with familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2007;48:193-200.
- [21] Choquette AC, Bouchard L, Houde A, et al. Associations between USF1 gene variants and cardiovascular risk factors in the Quebec Family Study. *Clin Genet* 2007;71:245-53.

Tabella 1

Caratteristiche cliniche e biochimiche della popolazione studiata

Variabili	Soggetti di controllo (n=133)	FCHL (n=135)
% donne	54	30**
Età	44,6 ±9,5	46,3 ±12,5*
Colesterolo tot, (mg/dL)	187,3 ±26,9	285,1 ±66,4**
Trigliceridi (mg/dL)	87,8 ±40,7	255,4 ±186,3**
Colesterolo-HDL (mg/dL)	50,7 ±12,8	39,2 ±10,6**
Colesterolo-LDL (mg/dL)	119,0 ±23,0	200,2 ±62,6**
Glicemia (mg/dL)	94,6 ± 10,7	102,2±21,2**
Apolipoproteina B (mg/dL)	89,8 ±15,4	140 ±30**
IMC (Kg/m ²)	25,5 ±3,8	27,4 ±4,5**
HOMA	1,3 ±0,7	1,9 ±1,2**
Pressione arteriosa sistolica(mmHg)	118,9±16,5	135,4±6,9**
Pressione arteriosa diastolica(mmHg)	76,7±10,0	85,5±8,4**
Indice di densità LDL (Fraz, 3-7/1-7)***	3,3±5,0	21,7±14,1**
diametro medio LDL (Angstrom)***	271,1±2,8	262,9±5,4**
fumatori (%)	40,6	33,9
LDL score > 90th percentile del gruppo controllo		77%

Valori espressi come media ± DS

* p< 0,05

** p<0,00

*** valori espressi come mediana (I.C. 95%)

Tabella 2

Rischio relativo di FCHL secondo i percentili dell' LDL score derivanti dalla distribuzione nei soggetti controllo (analisi uni variata e multivariata, variabile dipendente FCHL, FCHL n=135, soggetti controllo n=146)

		Analisi uni variata			Analisi multivariata *			Analisi multivariata**		
percentile	LDLscore	OR	95% IC	P	OR	95% IC	P	OR	95% IC	P
50°	>1,54	17,00	6,97-41,44	<0,0001	15,05	5,53-40,89	<0,0001	2,60	0,48-13,86	0,263
75°	>4,44	21,52	10,87-44,18	<0,0001	19,82	8,91-44,08	<0,0001	5,41	0,94-31,01	0,058
90°	>10,23	32,03	15,43-66,51	<0,0001	26,07	11,86-57,28	<0,0001	13,28	1,99-88,39	0,007
95°	>13,11	35,71	15,11-84,39	<0,0001	30,43	12,43-74,51	<0,0001	56,06	5,27-596,27	<0,0001

* Età, sesso, BMI e HOMA

** Età, sesso, apoB e presenza di SM

Tabella 3

Caratteristiche cliniche e biochimiche della popolazione FCHL senza e con eventi cardiovascolari (n= 118).

Variabili	FCHL CVD- (n=45)	FCHL CVD+(n=73)	p
% donne	27,9	34,2	0,386
Anni	42,7 ±13,5	48,6 ±11,5	0,019
Colesterolo tot, (mg/dL)	267,4 ±59,3	293,5±70,7	0,034
trigliceridi (mg/dL)	224,0±175,4	265,2±187,0	0,057
Colesterolo-HDL (mg/dL)	38,9±8,7	40,1±11,6	0,512
Colesterolo-LDL (mg/dL)	189,9±57,4	206,5±63,0	0,172
Glicemia (mg/dL)	99,0 ±14,8	103,7±25,1	0,211
Apolipoproteina B (mg/dL)	137,0±15,4	143,9±34,7	0,282
IMC (Kg/m ²)	26,9±3,4	27,6±5,1	0,383
HOMA	1,91±1,12	1,91±1,32	0,755
Pressione arteriosa sistolica(mmHg)	132,3±15	138±18,2	0,083
Pressione arteriosa diastolica(mmHg)	84,3±7,2	86,4±9	0,190
Indice di densità LDL (%)	16,9±15,3	22,7±12,7	0,015
diametro medio LDL (Angstrom)	264,6±6,1	262,4±4,8	0,015
fumatori (%)	47,6	25,8	0,120

Valori espressi come media ± DS

Tabella 4

Rischio relativo di CVD secondo i percentili dell' LDL score derivanti dalla distribuzione nei pazienti FCHL (analisi uni variata e multivariata, variabile dipendente CVD, FCHL n=118).

percentile	LDLscore	Analisi uni variata			Analisi multivariata *			Analisi multivariata**		
		OR	95% IC	P	OR	95% IC	P	OR	95% IC	P
50°	>1,54	4,14	0,71-23,99	0,113	5,94	0,68-51,67	0,106	5,42	0,60-48,93	0,132
75°	>4,44	2,52	0,76-8,28	0,128	3,80	0,76-19,07	0,104	4,17	0,77-22,64	0,098
90°	>10,23	3,00	1,11-8,04	0,029	3,56	1,02-12,45	0,047	3,56	0,98-12,96	0,054
95°	>13,11	3,00	1,21-7,42	0,018	3,50	1,20-10,24	0,022	4,18	1,30-13,46	0,016

* Et , sesso e presenza di SM

** Et , sesso, colesterolo, apoB e presenza di SM