

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI

“FEDERICO II”



FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

XXIII CICLO DEL DOTTORATO IN RICERCA IN FISIOPATOLOGIA CLINICA E

MEDICINA SPERIMENTALE

INDIRIZZO SCIENZE CARDIOVASCOLARI

Direttore Prof. Gianni Marone

TESI DI DOTTORATO

***ECOGENICITÀ DELLA PLACCA ATEROSCLEROTICA FEMORALE E
RISCHIO CARDIOVASCOLARE NELL' ARTERIOPATIA OBLITERANTE
DEGLI ARTI INFERIORI***

RELATORE

Chiar.mo Dott.

Giovanni Esposito

CANDIDATO

Dott. Vittorio Schiano

ANNO ACCADEMICO 2010

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	pag. 3
2. PAZIENTI E METODI.....	pag. 5
2.1 Popolazione di studio.....	pag. 5
2.2 Storia clinica.....	pag. 6
2.3 Analisi visiva delle placche femorali.....	pag. 6
2.4 Analisi Gray-Scale Median	pag. 7
2.5 Misurazione della percentuale di stenosi	pag.7
2.6 Valutazione degli eventi cardiovascolari.....	pag. 7
2.7 Analisi statistiche.....	pag. 8
3. RISULTATI.....	pag. 9
3.1 Ecogenicità della placca femorale e rischio cardiovasc.	pag. 9
4. DISCUSSIONE.....	pag. 12
5.1 Limiti e punti di forza dello studio.....	pag. 14
5.2 Conclusioni.....	pag. 14
5. BIBLIOGRAFIA.....	pag. 16
6. LEGENDA ALLE FIGURE	pag. 22
7. TABELLE.....	pag.23
8.1 Tabella 1.....	pag.23
8.2 Tabella 2.....	pag.24
8. FIGURE	pag. 25
9.1 Figura 1.....	pag. 25
9.2 Figura 2.....	pag. 26

1. INTRODUZIONE

L'arteriopatia obliterante degli arti inferiori (AOAI) è una delle più comuni manifestazioni dell'aterosclerosi ed è associata ad un'elevata morbilità e mortalità cardiovascolare (1-3). In particolare, i pazienti con AOAI hanno una mortalità circa 3 volte superiore rispetto ad una popolazione di controllo, ed un'incidenza media annua di eventi fatali di circa il 5%, pertanto dopo 10 anni il 50% di questi pazienti andrà incontro a morte prevalentemente per infarto miocardio acuto ed ictus cerebrale ischemico (1-3). L'elevata mortalità di questi pazienti, tuttavia, è solo parzialmente spiegata dai comuni fattori di rischio cardiovascolare e dalla coesistenza di una patologia aterosclerotica nel distretto coronarico e/o carotideo (1-3). Ciò suggerisce che, nei pazienti con AOAI, altri fattori intervengono nel condizionare la prognosi.

Le placche aterosclerotiche instabili, contraddistinte da un cappuccino fibroso sottile, un ampio nucleo lipidico e necrotico e da una rilevante infiltrazione di cellule infiammatorie, caratteristiche che le rendono suscettibili alla rottura, trombosi ed embolizzazione distale, rivestono un ruolo centrale nello sviluppo di eventi ischemici acuti in differenti distretti vascolari (4-7). Nel distretto coronarico è infatti noto che le placche aterosclerotiche risultano più suscettibili alla rottura quando maggiore è il loro contenuto lipidico (4,5). Similmente, studi istopatologici hanno dimostrato che alcune caratteristiche dell'ateroma carotideo, come la presenza di un grosso nucleo lipidico separato dal lume arterioso da un sottile e discontinuo cappuccio fibroso, così come la presenza di emorragia intrapacca, sono associate ad un'elevata incidenza di ictus cerebrale (6,7). Al contrario, ad oggi, non sono note le implicazioni fisiopatologiche e il valore prognostico delle placche aterosclerotiche instabili nell'albero arterioso degli arti inferiori di pazienti affetti da AOAI.

La valutazione dell'ecogenicità della placca aterosclerotica, con imaging ecografico bidimensionale, è un strumento semplice, economico ed affidabile nel predire la composizione della placca (8,9). Placche che appaiono ipo-ana-ecogene all'esame ultrasonografico presentano elevata infiltrazione infiammatoria e sono ricche di lipidi ovvero sono placche instabili, mentre quelle iperecogene hanno un maggiore contenuto di tessuto fibroso e calcio, caratteristiche che le rende

più stabili (8,9). Oggi è ampiamente dimostrato che l'aterosclerosi è una patologia sistemica che comunemente coinvolge più distretti arteriosi, ma è da sottolineare che studi recenti suggeriscono che anche l'instabilità della placca aterosclerotica è spesso un processo sistemico, infatti la presenza di una placca aterosclerotica instabile può non essere confinata ad un singolo territorio vascolare ma coinvolgere più distretti arteriosi simultaneamente (10-14). Ed infatti è noto che pazienti con placche femorali o carotidee instabili hanno maggiore probabilità di avere placche instabili nell'arteria controlaterale (10,11). In pazienti affetti da AOAI la presenza di una placca femorale con caratteristiche ecografiche di instabilità, ovvero una placca ipo-ana-ecogena, si associa ad un'elevata prevalenza di placche ipo-ana-ecogene anche nel distretto carotideo (12). Inoltre soggetti con placca carotidea ipo-ana-ecogena sono a maggiore rischio non solo di sviluppare un evento cerebrovascolare acuto ma anche una sindrome coronarica acuta (13,14) rispetto a soggetti con placche carotidee iperecogene. Nonostante tali premesse, ad oggi non è noto l'impatto dell'ecogenicità della placca femorale sull'incidenza di eventi ischemici acuti sistemici in pazienti affetti da AOAI. Questa rappresenta una grave lacuna in considerazione: 1) dell'elevato rischio cardiovascolare cui sono esposti i pazienti affetti da AOAI, 2) che l'incidenza di eventi ischemici acuti in tali pazienti è scarsamente correlata con i comuni fattori di rischio e la comorbilità cardiovascolare e pertanto è importante identificare nuovi markers di rischio cardiovascolare nell'AOAI 3) che lo studio ultrasonografico dell'ecogenicità della placca femorale è uno strumento semplice, economico ed affidabile nel predire la composizione della placca aterosclerotica. Pertanto, abbiamo disegnato uno studio prospettico teso a valutare il valore predittivo dell'ecogenicità della placca aterosclerotica femorale sul rischio di sviluppare eventi cardiovascolari hard in un gruppo omogeneo di pazienti affetti da AOAI allo stadio II di Fontaine.

2. PAZIENTI E METODI

2.1 Popolazione di studio. Sono stati reclutati nello studio 246 pazienti giunti consecutivamente presso il nostro ambulatorio di patologia vascolare per sospetta claudicatio intermittens, che rispettavano i criteri di inclusione ed esclusione dello studio. La diagnosi di arteriopatia obliterante degli arti inferiori fu confermata all'esame ecocolorDoppler in base ad un indice pressorio caviglia/braccio (*ankle brachial index* ABI) $\leq 0,90$ ed alla presenza di almeno una stenosi emodinamicamente significativa lungo l'asse arterioso degli arti inferiori valutata con esame ecocolor-Doppler. Tutti i pazienti inclusi nello studio erano affetti da AOAI al II stadio della classificazione di Fontaine e presentavano almeno una placca aterosclerotica in una o entrambe le arterie femorali nell'area compresa 4 cm prossimale ed 1 cm distale la biforcazione femorale con uno spessore $\geq 1,3$ mm, valore di riferimento proposto dalla Prevention Conference V (15). I pazienti con placche femorali di spessore minore ($< 1,3$ mm) furono esclusi in quanto tali placche sono indistinguibili da un diffuso aumento dello spessore intima-media (15). Altri criteri di esclusione furono: 1) assenza di placche femorali nell'area di interesse (4 cm prossimale e 1 cm distale la biforcazione femorale); 2) presenza di placche femorali calcifiche con cono d'ombra (perché tecnicamente impossibile rilevarne l'ecogenicità in modo accurato); 3) pregressa rivascolarizzazione delle arterie femorali comuni (assumendo che l'arteria rivascolarizzata sia quella a più alto rischio); 4) occlusione delle arterie femorali nel tratto esplorato. Inoltre, furono esclusi: 1) i pazienti che nei 6 mesi precedenti avevano avuto una sindrome coronarica acuta, un evento cerebrovascolare o procedure di rivascolarizzazione coronarica e/o periferica; 2) pazienti affetti da malattie infiammatorie, da insufficienza renale o epatica clinicamente significative, da scompenso cardiaco refrattario o da malattie neoplastiche. Tutte le donne incluse nello studio erano in menopausa, e nessuna assumeva terapia ormonale sostitutiva. Tutti i pazienti, all'inizio dello studio, firmarono il consenso informato redatto in conformità alle linee guida del comitato etico della nostra Università.

2.2 Storia Clinica. Al momento dell'arruolamento fu raccolta l'anamnesi e si prese visione dei certificati medici e delle analisi ematochimiche di ciascun paziente al fine di identificare i fattori di rischio e la comorbilità cardiovascolare. L'ipertensione arteriosa fu diagnosticata nei pazienti con valori di pressione sistolica ≥ 140 mmHg e/o di pressione diastolica ≥ 90 mmHg o in quelli sottoposti a terapia con farmaci anti-ipertensivi. La presenza di diabete mellito fu definita dai valori di glicemia a digiuno > 126 mg/dl o dall'uso di farmaci ipoglicemizzanti. L'ipercolesterolemia fu diagnosticata nei pazienti con concentrazioni plasmatiche di colesterolo totale > 200 mg/dl, o di colesterolo LDL > 130 mg/dl, o in quelli che assumevano farmaci ipolipemizzanti per storia clinica di ipercolesterolemia. Furono considerati fumatori i soggetti con storia attuale o pregressa di tabagismo.

La storia di pregresso infarto miocardico o ictus cerebrale fu valutata prendendo visione delle cartelle cliniche e certificati di dimissione di precedenti ricoveri ospedalieri.

L'ABI fu calcolato dopo che ogni paziente rimase supino per 5 minuti utilizzando la metodica Doppler (sonda 8-MHz e sfigmomanometro). La pressione sistolica fu misurata ad entrambe le arterie brachiali ed alle arterie tibiali anteriore e posteriore di entrambi gli arti. L'ABI di ogni gamba fu determinato dividendo il più alto dei due valori pressori ottenuti dall'arteria tibiale anteriore e posteriore di ciascun arto per il più alto valore rilevato tra le due arterie brachiali. Il più basso valore di ABI calcolato tra i due arti inferiori fu considerato nelle analisi statistiche.

2.3 Analisi visiva delle placche femorali. Le immagini ultrasonografiche delle arterie femorali di tutti i pazienti arruolati nello studio furono valutate con analisi visiva e registrate su videocassetta VHS da un unico operatore in modo da assicurare l'uniformità dei criteri ultrasonografici applicati. L'operatore non era a conoscenza dello stato clinico del paziente. In particolare, come precedentemente riportato, fu valutata l'ecogenicità solo delle placche aterosclerotiche femorali comprese entro 4 cm prossimali e 1 cm distale la biforcazione femorale. Le placche furono classificate secondo una versione modificata della classificazione di Gray-Weale e coll. (16,17) e definite come anaecogene (tipo 1), prevalentemente ipoecogene (tipo 2), prevalentemente

iperecogene (tipo 3), ed iperecogene (tipo 4). Successivamente la popolazione di studio fu suddivisa in due gruppi in base alla ecogenicità della placca femorale: pazienti con placca ipoecogena (tipo 1 e 2) e pazienti con placca iperecogena (tipo 3 e 4). Nel caso in cui entrambe le biforcazioni femorali presentavano una placca aterosclerotica, solo quella con minore ecogenicità fu considerata per la classificazione.

2.4 Analisi Gray-Scale Median. Tutte le immagini delle placche aterosclerotiche femorali registrate su VHS e classificate con analisi visiva furono successivamente trasferite su di un personal computer e digitalizzate mediante software Pixel View, Hi speed USB 2.0 TV/ Capture box (PROLINK Microsystems Corp, Tapei, Taiwan). Il programma Image Processing and Analysis in Java (Image J) fu utilizzato per la standardizzazione e per l'analisi computerizzata delle placche ateromasiche. L'ecogenicità fu valutata da un unico operatore, ignaro dei risultati dell'analisi visiva, con la misurazione del Gray-Scale Median (GSM). Questa metodica si basa sulla misurazione della distribuzione dei grigi dei pixel all'interno della placca. La standardizzazione fu ottenuta come precedentemente riportato (18). Fu delineato il contorno della placca e la sua ecogenicità fu valutata mediante la scala di grigi GSM con un range compreso tra 0 (nero) e 255 (bianco). Il valore di GSM così ottenuto fu corretto linearmente, cosicché la mediana del GSM del sangue fosse 0 e quella dell'avventizia 190.

2.5 Misurazione della percentuale di stenosi. La percentuale di stenosi determinata dalle placche aterosclerotiche femorali fu misurata da una proiezione longitudinale del distretto femorale selezionato per l'analisi dell'ecogenicità di placca. Il diametro di riferimento dell'arteria (diametro vero del vaso) ed il diametro del lume residuo nel punto di massima stenosi furono ottenuti sfruttando il cursore della strumentazione ecografica. La percentuale di stenosi fu ottenuta rapportando il diametro residuo al diametro vero del vaso.

2.6 Valutazione degli eventi cardiovascolari. I pazienti inclusi nello studio furono contattati con cadenza trimestrale e fu valutata prospetticamente l'incidenza di infarto del miocardio ed ictus cerebrale ischemico. Il minimo periodo di follow-up fu di 6 mesi. Le cartelle cliniche ed certificati

medici dei pazienti che ebbero un evento cardiovascolare furono verificati da un cardiologo ignaro dall'ecogenicità delle placche femorali. Nel caso lo stesso paziente avesse manifestato più di un evento, fu considerato per l'analisi solo il primo.

2.7 Analisi statistiche. Le analisi statistiche furono eseguite utilizzando i software SPSS 12.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) e Stata 10.0 (Stata Corp., College Station, TX, USA).

Le variabili furono espresse come numero assoluto e percentuale, o come media \pm deviazione standard o come mediana [25° e 75° percentile]. I confronti furono eseguiti usando il test χ^2 , il test t di student per campioni non appaiati e il test Mann-Whitney U, in maniera appropriata. La correlazione tra il tipo di placca valutato con analisi visiva ed il GSM femorale fu calcolata mediante l'analisi di Spearman. Al fine di accertare la riproducibilità intra-operatore, furono rivalutate in cieco 50 placche dallo stesso esaminatore. La riproducibilità intra-operatore fu calcolata con la κ statistic. La concordanza tra due valutazioni ripetute della stessa placca era eccellente sia per l'analisi visiva ($\kappa = 0,85$) sia per il GSM ($\kappa = 0,89$).

Per verificare se il GSM femorale (variabile continua) e la presenza di placca femorale ipoecogena all'analisi visiva (variabile categorica) erano associati all'incidenza di infarto del miocardio o ictus cerebrale fu usata l'analisi di Cox. Le seguenti covariate, che possono influenzare il rischio cardiovascolare, furono incluse nel modello corretto: età, sesso, fumo, diabete mellito, ipercolesterolemia, ipertensione, pregresso infarto del miocardio o ictus cerebrale, ABI, % di stenosi della placca femorale.

Per identificare il cut-off di GSM che meglio prediceva il rischio cardiovascolare, mediante l'analisi dell'area sotto la curva "receiver-operating characteristic" (ROC) (19) scegliemmo quello in cui la somma di specificità e sensibilità nel predire l'evento era massima. Per testare la robustezza dei risultati, abbiamo utilizzato la metodica "bootstrap" (20). Dopo aver ottenuto 200 ricampionamenti della popolazione dello studio mediante sostituzione random, abbiamo calcolato la media e l'intervallo di confidenza (IC) al 95% delle 200 stime di cut-off ottenute. Questo valore medio è stato considerato come il migliore cut-off.

Successivamente l'incidenza cumulativa di eventi nei pazienti con valore di GSM al di sotto ed al di sopra del cut-off ottenuto con metodica "bootstrap" è stata confrontata con le curve di Kaplan-Meier seguite dal log-rank test e sono stati ottenuti gli hazard ratios (HRs) con l'analisi di Cox. Le curve di Kaplan-Meier furono eseguite anche per confrontare la sopravvivenza libera di eventi nei pazienti con placca femorale ipoecogena all'analisi visiva rispetto a quelli con placca femorale iperecogena.

Tutti i test statistici erano a due code e una $p < 0,05$ fu considerata come statisticamente significativa.

3. RISULTATI

La tabella 1 mostra le caratteristiche cliniche dell'intera popolazione di studio. La tabella 2 riporta le caratteristiche cliniche della popolazione di studio divisa in base alla presenza di una placca ipoecogena o iperecogena nel distretto femorale all'analisi visiva. E' interessante notare che i pazienti con placche ipoecogene, rispetto a quelli con placche iperecogene, erano più giovani ed avevano una maggiore prevalenza di infarto del miocardio. Al contrario, non c'erano differenze tra i due gruppi per quel che concerne la prevalenza dei classici fattori di rischio cardiovascolare, la severità della malattia periferica valutata come ABI e la percentuale di stenosi determinata dalla placche femorali oggetto di studio.

3.1 Ecogenicità della placca femorale e rischio cardiovascolare. Durante un follow-up mediano di 30,0 (13,0-41,0) mesi, 32 dei 246 pazienti (13%) ebbero un evento cardiovascolare hard: 26 un infarto miocardico acuto e 6 un ictus cerebrale ischemico. Nel gruppo di pazienti in cui si verificò un evento cardiovascolare durante il follow-up, il valore di GSM della placca femorale, ottenuto con analisi computerizzata oggettiva, era significativamente più basso ($42,9 \pm 26,2$ vs $58,8 \pm 19,3$; $p=0,002$) e la prevalenza di placche femorali ipoecogene, all'analisi visiva soggettiva, significativamente più elevata (68,8% vs 19,6%, $p<0,001$).

Il GSM femorale, considerato come variabile continua, risultò inversamente associato al rischio cardiovascolare (HR = 0,96; IC al 95% 0,95-0,98; $p<0,001$). Tale associazione rimaneva statisticamente significativa anche dopo correzione per i classici fattori di rischio cardiovascolare, ABI, percentuale di stenosi determinata dalla placca femorale, pregresso infarto miocardico o ictus cerebrale (HR corretto =0,97; IC al 95% 0,96-0,98; $p<0,001$).

L'analisi di Spearman dimostrava una forte correlazione tra il valore di GSM femorale ed il tipo di placca femorale ottenuto dall'analisi visiva ($\rho=0,905$; $p<0,001$) (Fig.1). Pertanto, l'analisi di Cox mostrava che la presenza di una placca femorale ipoecogena all'analisi visiva si associava ad un aumentato rischio di sviluppare un infarto del miocardio o un ictus cerebrale (HR = 7,15; IC 95% 3,38-15,11; $p<0,001$), anche dopo correzione per i possibili fattori confondenti (HR corretto

7,83; IC al 95% 3,40-18,03; $p < 0,001$). Le analisi eseguite con la curva ROC mostravano che il valore cut-off di GSM femorale associato alla massima somma di specificità e sensibilità nel predire il rischio cardiovascolare era 30,2. La c-statistic (area sotto la curva) per questo valore di GSM era 0,68 (IC al 95% 0,63-0,73; $p < 0,001$). Il valore cut-off di GSM ottenuto con metodica “bootstrap” era di 31,4 (IC al 95% 25,2-35,7).

Le curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier mostravano che l’incidenza di infarto miocardio ed ictus cerebrale acuto era significativamente più elevata nei pazienti con un valore di GSM femorale $\leq 31,4$ rispetto a quelli con valore di GSM femorale più elevato (Fig.2). Simili risultati furono osservati nei pazienti categorizzati in base alla presenza di una placca ipo- o iper-ecogena all’analisi visiva (Fig. 2). In particolare, all’analisi di Cox corretta per i potenziali fattori confondenti, i pazienti con valori di GSM femorale $\leq 31,4$ presentavano un rischio di 7,5 volte maggiore (IC al 95% 3.29-17.03) di sviluppare un evento cardiovascolare rispetto ai pazienti con valori di GSM $> 31,4$.

4. DISCUSSIONE

I risultati del presente studio prospettico dimostrano, per la prima volta, che in pazienti affetti da AOAI la presenza di una placca aterosclerotica ipo-ana-ecogena nel distretto femorale si associa ad un rischio significativamente più elevato di sviluppare infarto del miocardio e ictus cerebrale rispetto ai pazienti con placche femorali iperecogene. Questo dato è stato ottenuto valutando l'ecogenicità della placca femorale sia con analisi computerizzata oggettiva (misurazione del GSM) sia con analisi visiva soggettiva (distinzione tra placche ipo o iper-ecogene). Il valore di GSM femorale, infatti, era inversamente correlato con il rischio cardiovascolare (quanto minore era il valore di GSM, tanto maggiore era il rischio cardiovascolare) e la presenza di una placca femorale ipoecogena, valutata con analisi visiva, comportava un rischio 7 volte maggiore di sviluppare infarto del miocardio e ictus cerebrale ischemico. I risultati rimanevano sostanzialmente invariati all'analisi multivariata dopo correzione per i classici fattori di rischio cardiovascolare, la presenza di pregresso infarto del miocardio o ictus cerebrale, la % di stenosi determinata dalla placca femorale e l'ABI, che ad oggi rappresenta il più importante fattore prognostico in tale popolazione (6,21).

Le placche femorali sono state valutate mediante ecografia bidimensionale, metodica affidabile, non invasiva e relativamente poco costosa, impiegata per lo studio delle lesioni aterosclerotiche in diversi distretti vascolari. Numerosi studi hanno dimostrato che lo sviluppo di eventi ischemici acuti correla molto più strettamente con le caratteristiche istopatologiche delle placche aterosclerotiche piuttosto che con il numero delle placche presenti o con l'entità delle stenosi (4,22,23). A tal riguardo, l'ecografia bidimensionale risulta essere un valido strumento per la valutazione della ecogenicità della placca, la quale correla con le caratteristiche istopatologiche della lesione aterosclerotica (9,16). In particolare, le placche che appaiono ipoecogene all'analisi ultrasonografica bidimensionale presentano una più marcata attività infiammatoria, un elevato contenuto in lipidi e una maggiore predisposizione alla rottura (8,24,25); al contrario le placche

iperecogene sono formate prevalentemente da tessuto fibroso, collagene e calcio, costituenti che le rendono più stabili (8,9).

Che la malattia aterosclerotica sia un processo sistemico, è oggi un principio ampiamente condiviso, ma studi recenti suggeriscono che anche l'instabilità della placca aterosclerotica sia un fenomeno sistemico per cui placche instabili possono presentarsi simultaneamente in differenti distretti arteriosi nello stesso individuo. E' già noto, infatti, che pazienti con sindrome coronarica acuta mostrano un'alta prevalenza non solo di multiple placche aterosclerotiche instabili nel distretto coronarico, ma anche di placche instabili nel distretto carotideo (26-28). Inoltre pazienti con placche carotidee ipoecogene, ovvero verosimilmente instabili, hanno un'elevata incidenza non solo di ictus cerebrale ma anche di infarto miocardico acuto (13,14,23).

Differentemente, ad oggi non vi sono dati circa il ruolo predittivo sul rischio cardiovascolare dell'ecogenicità della placca aterosclerotica femorale nella AOAI. Ciò è particolarmente limitante per diverse ragioni. In primis, nella popolazione generale, la presenza di una placca nel distretto arterioso femorale è indice di una diffusa malattia aterosclerotica e di una maggiore suscettibilità a sviluppare eventi cardiovascolari (29-31). Per di più, l'AOAI, oltre ad essere una patologia molto comune è associata ad una elevata incidenza di eventi cardiovascolari maggiori (6,7), sebbene tale alto rischio risulta essere scarsamente correlato con i classici fattori di rischio (7,32). A tal riguardo altri parametri sono stati descritti come predittori di rischio indipendenti in questi pazienti, tra i quali la severità della malattia periferica degli arti inferiori valutata come ABI, la disfunzione endoteliale ed un profilo infiammatorio più accentuato (6,21,33-37). I nostri risultati mostrano che la presenza di una placca femorale ipoecogena potrebbe essere considerata un nuovo marker di rischio cardiovascolare nell'AOAI e supportano l'attuale ipotesi che l'instabilità di placca sia un fenomeno sistemico. Difatti, l'alta incidenza di infarto del miocardio ed ictus cerebrale ischemico nei nostri pazienti con placche aterosclerotiche femorali instabili potrebbe essere spiegata dalla coesistenza di placche aterosclerotiche instabili nel distretto carotideo e coronarico.

La letteratura scientifica suggerisce che l'instabilità di placca è solo in parte determinata da fattori locali in considerazione del fatto che anche fattori sistemici quali infezioni, infiammazione, processi autoimmuni e una predisposizione genetica potrebbero rivestire un ruolo etiopatogenetico determinante (38-41). In particolare, è stato dimostrato che elevati livelli sistemici di molecole infiammatorie sono associati alla presenza di placche instabili in multipli distretti vascolari (27,42). A tale riguardo, nell'AOAI, il letto vascolare iliaco-femoro-popliteo-tibiale fornisce una ampia superficie che, in presenza di placche instabili, potrebbe rappresentare una importante fonte di rilascio di molecole infiammatorie che potrebbero contribuire a danneggiare le arterie di altri distretti vascolari come quello coronarico e carotideo. Tuttavia ulteriori studi sono necessari per supportare queste ipotesi (53)

4.1 Limiti e punti di forza dello studio. I nostri risultati non possono essere estesi a tutti i pazienti con AOAI poiché sono stati arruolati nel nostro studio solo soggetti con claudicatio intermittens (stadio II della classificazione di Fontaine). Sono dunque necessari ulteriori studi tesi a valutare l'impatto prognostico della ecogenicità della placca femorale in pazienti affetti da critical limb ischemia (stadio III e IV della classificazione di Fontaine), e ancor di più nei pazienti con AOAI asintomatici (stadio I della classificazione di Fontaine). Quest'ultimi infatti rappresentano la maggior parte dei pazienti affetti da AOAI, e in tale gruppo il rischio cardiovascolare non è di molto più basso rispetto a quello dei soggetti claudicanti (43).

Uno dei principali punti di forza del nostro lavoro è la sua natura prospettica e la conferma degli eventi cardiovascolari dopo la revisione delle cartelle cliniche e dei certificati medici. Inoltre, l'analisi visiva, l'analisi GSM e il follow-up sono stati effettuati da tre differenti cardiologi che non erano a conoscenza dei risultati ottenuti da ognuno degli altri. Infine per distinguere le placche valutate mediante l'analisi GSM in ipoecogene ed iperecogene, fu utilizzato un valore cut-off di GSM ottenuto dall'analisi della curva ROC e validato con metodica "bootstrap".

4.2 Conclusioni. La presenza di placche aterosclerotiche ipoecogene nelle arterie femorali comporta un aumentato rischio di sviluppare infarto del miocardio e ictus cerebrale nei pazienti

affetti da AOAI. Tale informazione può essere ottenuta sia con l'analisi visiva soggettiva sia con l'analisi computerizzata oggettiva con misurazione del GSM. Il nostro studio, oltre a confermare ed estendere i precedenti risultati che indicano che l'instabilità della placca aterosclerotica potrebbe essere un processo polidistrettuale, può avere notevoli implicazioni cliniche. Difatti la semplice analisi visiva della ecogenicità della placca femorale risulta essere una metodica semplice, rapida, riproducibile ed economica per identificare nell'ambito dell'arteriopatia obliterante degli arti inferiori quei pazienti potenzialmente esposti ad un più elevato rischio cardiovascolare che potrebbero beneficiare di maggiori approfondimenti diagnostici e di un'impostazione terapeutica più aggressiva.

5. BIBLIOGRAFIA

1. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FG. Inter-society consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II). *J Vasc Surg.* 2007;45 Suppl S:S5–S67
2. Criqui MH, Langer RD, Fronek A, Feigelson HS, Klauber MR, McCann TJ, Browner D. Mortality over a period of 10 years in patients with peripheral arterial disease. *N Engl J Med* 1992; 326:381-386.
3. Brevetti G, Martone VD, Perna S, Cacciatore F, Corrado S, Di Donato A, Di Iorio A. Intermittent claudication and risk of cardiovascular events. *Angiology.* 1998;49:843-8.
4. Kleber FX, Dopfmer S, Thieme T. Invasive strategies to discriminate stable and unstable coronary plaques. *Eur Heart J* 1998; Suppl C:44-49.
5. Yamagishi M, Terashima M, Awano K, Kijima M, Nakatani S, Daikoku S, Ito K, Yasumura Y, Miyatake K. Morphology of vulnerable coronary plaque. Insights from follow-up of patients examined by intravascular ultrasound before an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:106-111.
6. Oliver MF, Davies MJ. The atheromatous lipid core. *Eur Heart J* 1998; 19:16-18.
7. Spagnoli LG, Mauriello A, Sangiorgi G, Fratoni S, Bonanno E, Schwartz RS, Piepgras DG, Pistolese R, Ippoliti A, Holmes DR Jr. Extracranial thrombotically active carotid plaque as a risk factor for ischemic stroke. *JAMA* 2004; 292:1845-1852.
8. Grønholdt ML, Nordestgaard BG, Wiebe BM, Wilhjelm JE, Sillesen H. Echo-lucency of computerized ultrasound images of carotid atherosclerotic plaques are associated with increased levels of triglyceride-rich lipoproteins as well as increased plaque lipid content. *Circulation* 1998; 97:34-40.
9. Lal BK, Hobson RW 2nd, Pappas PJ, Kubicka R, Hameed M, Chakhtoura EY, Jamil Z, Padberg FT Jr, Haser PB, Durán WN. Pixel distribution analysis of B-mode ultrasound scan

- images predicts histologic features of atherosclerotic carotid plaques. *J Vasc Surg* 2002;35:1210-1217.
10. Goldstein JA. Angiographic plaque complexity: the tip of the unstable plaque iceberg. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:1464-7.
 11. Rothwell PM, Villagra R, Gibson R, Donders RC, Warlow CP. Evidence of a chronic systemic cause of instability of atherosclerotic plaques. *Lancet* 2000;355:19-24.
 12. Sirico G, Brevetti G, Lanero S, Laurenzano E, Luciano R, Chiariello M. Echolucent femoral plaques entail higher risk of echolucent carotid plaques and a more severe inflammatory profile in peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 2009;49:346-351.
 13. Liapis CD, Kakisis JD, Dimitroulis DA, Kostakis AG. The impact of the carotid plaque type on restenosis and future cardiovascular events: a 12-year prospective study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2002;24:239-44.
 14. Cao JJ, Arnold AM, Manolio TA, Polak JF, Psaty BM, Hirsch CH, Kuller LH, Cushman M. Association of carotid artery intima-media thickness, plaques, and C-reactive protein with future cardiovascular disease and all-cause mortality: the Cardiovascular Health Study. *Circulation* 2007;116:32-38.
 15. Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP, Bond MG, Clark LT, Criqui MH, Crouse JR 3rd, Friedman L, Fuster V, Herrington DM, Kuller LH, Ridker PM, Roberts WC, Stanford W, Stone N, Swan HJ, Taubert KA, Wexler L. Prevention Conference V : Beyond Secondary Prevention : Identifying the High-Risk Patient for Primary Prevention : Noninvasive Tests of Atherosclerotic Burden : Writing Group III. *Circulation* 2000;101:e16-e22.
 16. Gray-Weale AC, Graham JC, Burnett JR, Byrne K, Lusby RJ. Carotid artery atheroma: comparison of preoperative B-mode ultrasound appearance with carotid endoarterectomy specimen pathology. *J Cardiovasc Surg* 1988;29:676-681.

17. Joakimsen O, Bonna KH, Stensland-Bugge E. Reproducibility of ultrasound assessment of carotid plaque occurrence, thickness, and morphology. The Tromsø Study. *Stroke* 1997;28:2201-2207.
18. Elatrozy T, Nicolaides A, Tegos T, Zarka AZ, Griffin M, Sabetai M. The effect of B mode ultrasonic image standardisation on the echodensity of symptomatic and asymptomatic carotid bifurcation plaques. *Int Angiol* 1998;17:179-186.
19. Heagerty PJ, Lumley T, Pepe MS. Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker. *Biometrics* 2000;56:337-344.
20. Efron B, Tibshirani RJ. An Introduction to the Bootstrap. London, UK: Chapman & Hall; 1993.
21. Newman AB, Shemanski L, Manolio TA, Cushman M, Mittelmark M, Polak JF, Powe NR, Siscovick D. Ankle-arm index as a predictor of cardiovascular disease and mortality in the Cardiovascular Health Study. The Cardiovascular Health Study Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 538-45.
22. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992;326:242-250.
23. Mathiesen EB, Bønaa KH, Joakimsen O. Echolucent plaques are associated with high risk of ischemic cerebrovascular events in carotid stenosis: the Tromsø study. *Circulation* 2001;103:2171-2175.
24. Jander S, Sitzer M, Schumann R, Schroeter M, Siebler M, Steinmetz H, Stoll G. Inflammation in high-grade carotid stenosis: a possible role for macrophages and T cells in plaque destabilization. *Stroke* 1998;29: 1625-1630.
25. Grønholdt ML. Ultrasound and lipoproteins as predictors of lipid-rich, rupture-prone plaques in the carotid artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2-13.

26. Rossi A, Franceschini L, Fusaro M, Cicoira M, Eleas AA, Golia G, Bonapace S, Santini F, Sangiorgi G, Zardini P, Vassanelli C. Carotid atherosclerotic plaque instability in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2006;111:263-266.
27. Lombardo A, Biasucci LM, Lanza GA, Coli S, Silvestri P, Cianflone D, Liuzzo G, Burzotta F, Crea F, Maseri A. Inflammation as a possible link between coronary and carotid plaque instability. *Circulation* 2004;109:3158-3163.
28. Triposkiadis F, Sitafidis G, Kostoulas J, Skoularigis J, Zintzaras E, Fezoulidis I. Carotid plaque composition in stable and unstable coronary artery disease. *Am Heart J* 2005;150:782-789.
29. Belcaro G, Nicolaides AN, Ramaswami G, Cesarone MR, De Sanctis M, Incandela L, Ferrari P, Geroulakos G, Barsotti A, Griffin M, Dhanjil S, Sabetai M, Bucci M, Martines G. Carotid and femoral ultrasound morphology screening and cardiovascular events in low risk subjects: a 10-year follow-up study (the CAFES-CAVE study). *Atherosclerosis* 2001;156:379-387.
30. Dalager S, Falk E, Kristensen IB, Paaske WP. Plaque in superficial femoral arteries indicates generalized atherosclerosis and vulnerability to coronary death: an autopsy study. *J Vasc Surg* 2008;47:296-302.
31. Schmidt C, Fagerberg B, Hulthe J. Non-stenotic echolucent ultrasound-assessed femoral artery plaques are predictive for future cardiovascular events in middle-aged men. *Atherosclerosis* 2005;181:125-130.
32. Brevetti G, Martone VD, Perna S, Cacciatore F, Corrado S, Di Donato A, Di Iorio A. Intermittent claudication and risk of cardiovascular events. *Angiology*. 1998;49:843-848.
33. Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, Chiariello M. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease: additive value of flow-mediated dilation to ankle-brachial pressure index. *Circulation*;108:2093-2098.

34. Silvestro A, Brevetti G, Schiano V, Scopacasa F, Chiariello M. Adhesion molecules and cardiovascular risk in peripheral arterial disease. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 improves risk stratification. *Thromb Haemost* 2005;93:559-563.
35. Rossi E, Biasucci LM, Citterio F, Pelliccioni S, Monaco C, Ginnetti F, Angiolillo DJ, Grieco G, Liuzzo G, Maseri A. Risk of myocardial infarction and angina in patients with severe peripheral vascular disease: predictive role of C-reactive protein. *Circulation* 2002;105:800-803.
36. Brevetti G, Schiano V, Laurenzano E, Giugliano G, Petretta M, Scopacasa F, Chiariello M. Myeloperoxidase, but not C-reactive protein, predicts cardiovascular risk in peripheral arterial disease. *Eur Heart J* 2008;29:224-230.
37. Giugliano G, Brevetti G, Lanero S, Schiano V, Laurenzano E, Chiariello M. Leukocyte count in peripheral arterial disease: A simple, reliable, inexpensive approach to cardiovascular risk prediction. *Atherosclerosis* 2009; epub ahead of print.
38. Mauriello A, Sangiorgi G, Palmieri G, Virmani R, Holmes DR Jr, Schwartz RS, Pistolese R, Ippoliti A, Spagnoli LG. Hyperfibrinogenemia is associated with specific histocytological composition and complications of atherosclerotic carotid plaques in patients affected by transient ischemic attacks. *Circulation* 2000; 101:744-750.
39. Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary artery disease: is there a link? *Lancet* 1997;350:430-456.
40. Vallance P, Collier J, Bhagat K. Infection, inflammation and infarction: does acute endothelial dysfunction provide a link? *Lancet* 1997;349:1391-1392.
41. Girelli D, Russo C, Ferraresi P, Olivieri O, Pinotti M, Friso S, Manzato F, Mazzucco A, Bernardi F, Corrocher R. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:774-780.
42. Van Der Meer IM, De Maat MP, Hak AE, Kiliaan AJ, Del Sol AI, Van Der Kuip DA, Nijhuis RL, Hofman A, Witteman JC. C-reactive protein predicts progression of

atherosclerosis measured at various sites in the arterial tree: the Rotterdam Study. *Stroke* 2002;33:2750-2755.

43. Leng GC, Lee AJ, Fowkes FG, Whiteman M, Dunbar J, Housley E, Ruckley CV. Incidence, natural history and cardiovascular events in symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease in the general population. *Int J Epidemiol* 1996;25:1172-1181.

6. LEGENDA ALLE FIGURE

Figura 1. Correlazione tra la classificazione visiva della ecogenicità della placca (quattro tipi) e il valore di GSM (presentato come mediana e 25° e 75° percentile).

Figura 2. Curve di Kaplan-Meier che riportano la sopravvivenza libera da eventi nei pazienti con placca femorale ipoecogena (linea tratteggiata) e placca femorale iperecogena (linea continua). Riquadro a sinistra: analisi condotta su pazienti con valori di GSM $\leq 31,4$ (placca ipoecogena) vs pazienti con valori di GSM più elevati (placca iperecogena). Riquadro a destra: analisi condotta su pazienti con placche ipoecogene (tipo 1 e 2) vs pazienti con placche iperecogene (tipo 3 e 4) all'analisi visiva. Il numero di eventi / numero dei pazienti in ogni sottogruppo è riportato in parentesi.

7.1 Tabella 1. Caratteristiche cliniche della popolazione di studio (n=246).

	Numero	Percentuale o Media (SD) o Mediana [25 th -75 th percentile]
Età (<i>aa</i>)		65.5 (9.2)
Maschi	206	83.7%
<i>Fattori di Rischio Cardiovascolari</i>		
Fumo	224	91.1%
Iperensione arteriosa	198	80.5%
Ipercolesterolemia	194	78.9%
Diabete Mellito	98	39.8%
<i>Severità dell'AOAI</i>		
ABI		0.67 (0.19)
<i>Comorbilità Cardiovascolare</i>		
Pregresso IMA	118	48.0%
Pregresso Ictus Cerebrale	12	4.9%
<i>Farmaci</i>		
Antiaggreganti	222	90.2%
Beta Bloccanti	76	30.9%
ACE-inibitori o Sartani	160	65.0%
Statine	154	62.6%
<i>Ecogenicità Placca Femorale</i>		
Placche Ipoecogene (Analisi Visiva)	64	26.0%
GSM (Analisi Computerizzata)		61.4 [42.0 - 74.9]

SD = deviazione standard; IMA = infarto miocardico acuto; AOAI = arteriopatia obliterante degli arti inferiori, ABI = rapporto pressorio caviglia / braccio; IMA = infarto miocardico acuto; ACE = enzima di conversione dell'angiotensina; GSM = gray scale median

7.2 Tabella 2. Caratteristiche cliniche della popolazione di studio affetta da AOAI divisa in due gruppi in base alla presenza di placche femorali ipo- o iper- ecogene all'analisi visiva.

	Placca Femorale Ipoecogena (n = 64)	Placca Femorale Iperecogena (n = 182)	p
Età (aa) (SD)	63.6 (9.2)	66.1 (9.1)	0.054
Maschi (%)	54 (84.4)	152 (83.5)	0.873
<i>Fattori di Rischio Cardiovascolari</i>			
Fumo (%)	58 (90.6)	176 (91.2)	0.888
Ipertensione arteriosa(%)	50 (78.1)	148 (81.3)	0.579
Ipercolesterolemia (%)	52 (81.3)	142 (78.0)	0.586
Diabete Mellito (%)	24 (37.5)	74 (40.7)	0.657
<i>Comorbidità Cardiovascolare</i>			
Pregresso IMA (%)	38 (59.4)	80 (44.0)	0.034
Pregresso Ictus Cerebrale (%)	4 (6.2)	8 (4.4)	0.554
<i>Severità dell'AOAI</i>			
ABI (SD)	0.67 (0.17)	0.67 (0.20)	0.989
% Stenosi della placca femorale (SD)	44.7 (14.9)	43.0 (12.4)	0.365

SD = deviazione standard; IMA = infarto miocardico acuto; AOAI = arteriopatia obliterante degli arti inferiori; ABI = rapporto pressorio caviglia / braccio; IMA = infarto miocardico acuto

8 FIGURE

8.1 Figura 1

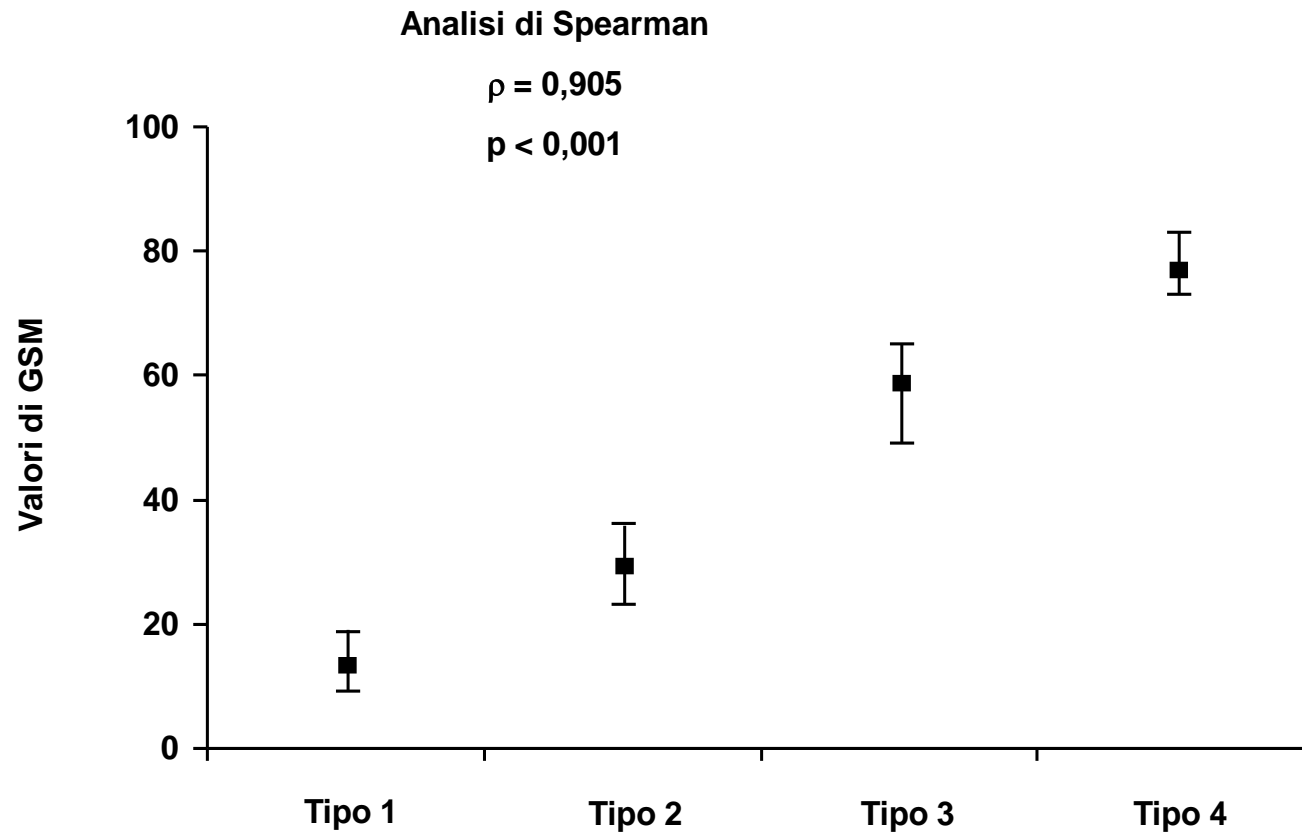


Fig. 1

8.2 Figura 2

