

**Università degli Studi di Napoli Federico II**



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

**Indirizzo in Scienze Dermatologiche**

**XXIV Ciclo – 2008 - 2011**

**Coordinatore: Prof. Gianni Marone**

**Tesi di Dottorato**

**Associazione fra LDL piccole e dense e segni iniziali di  
aterosclerosi carotidea in un campione di donne dell'area  
napoletana**

**TUTOR**

**Chiar.mo**

**Prof. Paolo Rubba**

**CANDIDATO**

**Dott.ssa Stefania Ubaldi**

## **Introduzione**

Le LDL piccole e dense (sd-LDL) sono una sottoclasse lipoproteica eterogenea delle lipoproteine a bassa densità (LDL) caratterizzate da un diametro medio più piccolo e da una densità lievemente superiore alle normali LDL. Le sd-LDL hanno destato molta attenzione tra i marcatori biochimici correlati alla Sindrome Metabolica (SM) (1,2,3). Una predominanza di sd-LDL è associata con un aumento da due a tre volte del rischio di sviluppare malattie delle coronarie (4) ed è inoltre caratterizzata da numerose anomalie del profilo lipidico plasmatico, trigliceridi particolarmente elevati e basse concentrazioni di HDL-C (5); inoltre, le sd-LDL hanno una maggiore suscettibilità alle modifiche ossidative rispetto alle LDL native e maggiore affinità per la parete arteriosa (6,7). Infine, le sd-LDL possono risultare un marcatore utile sia per la diagnosi che per la prognosi della sindrome metabolica (8). L'ultrasonografia ad alta risoluzione B-mode è una metodica affidabile e non invasiva per rilevare precoci alterazioni strutturali della parete arteriosa. L'aumentato spessore medio-intimale della carotide (IMT) è un marcatore strutturale di aterosclerosi che correla con diversi fattori di rischio vascolari, che si associa all'estensione della patologia arteriosa coronarica, e che predice la probabilità di eventi cardiovascolari (9,10). Lo spessore medio-intimale dell'arteria carotide (CA-IMT) è stato utilizzato come uno dei marcatori surrogati di patologia cardiovascolare in varie popolazioni (11). CA-IMT è aumentato in popolazioni ad elevato rischio come negli anziani (12), negli ipertesi, nel diabete mellito e nelle malattie renali croniche (13). In questo studio abbiamo verificato se le particelle sd-LDL fossero associate con lo spessore medio-intimale della parete della carotide comune in un campione di donne in menopausa del Sud-Italia che hanno partecipato ad un ampio studio prospettico, in corso presso il Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Napoli Federico II (Progetto Atena). E' stato inoltre valutato il ruolo della sindrome metabolica e dell'Apo B nello sviluppo dell'aterosclerosi precoce.

## **Metodi**

### **Caratteristiche della popolazione studiata**

Il Progetto ATENA (14) 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, lo studio è stato approvato dal comitato etico delle istituzioni coinvolte (14). E' stato successivamente eseguito, dopo un periodo di circa 10 anni dalla prima visita, un richiamo di 228 donne, randomizzate tra le più anziane. Sono state eseguite numerose indagini biologiche e biochimiche su queste partecipanti, tutte in menopausa. Il nostro campione di osservazione è costituito dai dati derivati dalle analisi biochimiche, incluso il dosaggio delle sd-LDL.

Tutte le donne hanno fornito un consenso informato, e lo studio è stato approvato dal comitato etico.

## **Valutazione clinica e biochimica**

Sono stati utilizzati i criteri dell'American Heart Association per classificare le donne che avevano la Sindrome Metabolica sulla base della presenza di 3 o più dei seguenti fattori di rischio: (1) circonferenza addominale > 88 cm, (2) trigliceridemia a digiuno  $\geq 150$  mg/dL, (3) HDL <50 mg/dL, (4) ipertensione (pressione arteriosa sistolica  $\geq 130$  mm Hg, pressione arteriosa diastolica  $\geq 85$  mm Hg) e (5) glicemia a digiuno  $\geq 100$  mg/dL (15). Le misurazioni antropometriche sono state eseguite con le pazienti vestite e senza scarpe. E' stato calcolato l'indice di massa corporea, utilizzato come indice di obesità, dividendo il peso (chilogrammi) con l'altezza (in metri quadri). La circonferenza addominale come marcatore di obesità addominale è stata misurata a metà fra la parte inferiore della gabbia toracica e l'estremità 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 riguardo alle abitudini al fumo. Sono stati raccolti campioni di sangue dopo 12-14 ore di digiuno, dalle 8.00 alle 9.30 del mattino, per ridurre l'influenza della variazione circadiana. Le concentrazioni di colesterolo totale e di trigliceridi sono state misurate usando metodi enzimatici standard (16,17). Il colesterolo HDL è stato misurato dopo la precipitazione di lipoproteine a densità molto bassa e di lipoproteine a bassa densità con acido fosfotungstenico (18), e il colesterolo LDL è stato calcolato con la formula di Friedewald. I livelli di glucosio a digiuno sono stati determinati enzimaticamente con il metodo della perossidasi. I livelli di insulina a digiuno sono stati determinati utilizzando un dosaggio immuno-enzimatico (Elisa Ultrasensibile Insulina, Merckodia, Svezia). L'errore del metodo è stato valutato in 2 sieri a concentrazione bassa ed alta di insulina ed è risultato del 10%. L'apolipoproteina B e la PCR ultrasensibile (hs-PCR) sono state misurate con metodo turbidimetrico automatizzato (Cobas-Mira,

Roche, Italia). L'errore del metodo è stato valutato analizzando giornalmente un campione di plasma ed è risultato del 5%. L'indice di insulino-resistenza (HOMA) è stato calcolato utilizzando la seguente formula: insulina a digiuno (uU/ml) x glucosio sierico a digiuno (mM)/22,5, come descritto da Matthew set al. (19).

## **Dosaggio delle sd-LDL**

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 poliacrilammide. Sono state separate 7 subfrazioni a grandezza decrescente e a crescente densità e mobilità elettroforetica (Rf) (Figura 1). 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 delle diverse aree sotto la curva delle 7 subfrazioni con differente mobilità elettroforetica (8,20). Questo parametro, determinato nel nostro laboratorio con il Sistema Lipoprint in 5 soggetti (2 giovani donne normolipidemiche, di 27 e 35 anni, e 3 uomini ipertrigliceridemicici di 51, 55 e 64 anni), ha mostrato un alto grado di correlazione con il picco del diametro delle subfrazioni (PPD) determinato negli stessi 5 soggetti nel Laboratorio del Dr. Krauss, Università di Berkley, California (21) (Rho di Spearman = 0,900, p=0,037). E' stato calcolato 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). Il diametro delle frazioni LDL al punto di separazione fra le subfrazioni 1-2 e le subfrazioni 3-7 è risultato 251 Å. L'LDL score, dimostratosi collegato significativamente alla malattia cardiovascolare (CHD) nelle analisi multivariate (23,24), si è mostrato associato in modo significativo al diametro medio delle particelle nella popolazione studiata (n=228, Rho di Spearman =0,885, p<0,0001).

## **Ultrasonografia carotidea B-mode ad alta risoluzione**

E' stata effettuata l'ultrasonografia carotidea B-mode ad alta risoluzione (Figura 2) da un sonografista esperto utilizzando un apparecchio Biosound 2000 II s.a. (Biosound Inc.) ed il software *EPIX ® XCAP V3.0 for Windows*. Scopo di tale protocollo era di fornire misurazioni valide e affidabili dell'IMT carotideo a livello delle pareti lontane e vicine del tratto distale (pari ad 1,0 cm) delle carotidi comuni. E' stato utilizzato come repere anatomico lo sperone all'origine della biforcazione. In ogni esame, il sonografista usava diversi angoli di scannerizzazione (anteriore, laterale e posteriore) per identificare lo spessore massimo dell'IMT in ogni parete. Le immagini sono state registrate su cassette Super VHS 0,5 per le analisi successive (25). Per la lettura sono state selezionate boxes per ciascuno degli 4 segmenti (2 per lato) di parete carotidea con il maggiore IMT. La media dei valori massimi degli spessori carotidei misurati rappresentava l'end-point ultrasonico dello studio. E' stato possibile ottenere le misurazioni dell'IMT della carotide comune in tutti in 228 soggetti reclutati nello studio. Dati di controllo qualità continuamente monitorizzati, derivanti da un grande trial multicentrico internazionale (Studio ELSA), condotto in quel periodo nella Divisione di Ricerca Ultrasonografica Vascolare, hanno mostrato un coefficiente di riproducibilità per l'IMT della carotide comune di 0,85. Questo parametro include la variabilità di strumentazione, sonografista, e lettore (26).

## **Analisi statistiche**

Le analisi statistiche sono state effettuate usando l' SPSS versione 11.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois). Le variabili continue sono state descritte come deviazione standard; l'analisi della covarianza è stata usata per ottenere le medie corrette per età di variabili fisiche e biochimiche. E' stata usata un'analisi logistica multivariata per testare la relazione indipendente tra IMT della carotide comune (al di sopra del 90° percentile del livello di IMT come risultato) (variabile dipendente) ed età, Apo B, Sindrome Metabolica e diametro medio delle LDL (inferiore al livello del 25°

percentile 269 Å) o LDL score (superiore al 50° percentile, 1,93 g/L) (variabili indipendenti). Gli Odds Ratio (OR) per la presenza di IMT della carotide comune sono stati calcolati tramite una regressione binaria logistica incondizionata e sono stati elaborati il 95% degli intervalli di confidenza (IC) per l'errore standard del coefficiente di regressione.

## **Risultati**

Il profilo di rischio cardiovascolare dello studio di popolazione del Progetto Atena all'età di reclutamento (1992 – 1996; n= 5062 donne) divise nel sottocampione con conseguente determinazione delle sd-LDL (N=228) e la rimanente coorte (N=4834) è mostrato nella Tabella 1. Dopo correzione per età, non vi erano significative differenze nel profilo di rischio tra il sottocampione e la rimanente coorte. Le caratteristiche biochimico-cliniche delle partecipanti allo studio sono mostrate nella Tabella 2. E' stata diagnosticata la Sindrome Metabolica in 93 (40,8%) delle 228 partecipanti. Le donne con un diametro medio delle LDL, inferiore a 269 Å (25° percentile della popolazione studiata) hanno mostrato un IMT medio della carotide comune significativamente maggiore rispetto agli altri partecipanti con un diametro medio delle LDL superiore a 269 Å (25° percentile della popolazione studiata); (media 1,05 mm vs. 1,12 mm, p=0,026 con Mann Whitney) (Figura 3). Abbiamo valutato con un'analisi logistica multivariata l'associazione tra IMT della carotide comune (superiore a 1,29 mm) ed il diametro medio delle LDL utilizzando vari modelli di correzione (Tabella 3). Le donne con un diametro medio di LDL inferiore a 269 Å, hanno mostrato la seguente probabilità, Odds Ratio (OR) di avere un IMT della carotide comune superiore a 1,29 mm: OR= 7,80 (p=0,016), corretto per età e Sindrome Metabolica; OR = 6,38 (p=0,034), corretto per età, Sindrome Metabolica e Apo B. In un'analisi successiva è stata valutata l'associazione tra l'IMT della carotide comune (superiore a 1,29 mm) e l'LDL score, utilizzando vari modelli di correzione (Tabella 4). Le donne con LDL score superiore a 1,93 mg/dL, hanno mostrato la seguente probabilità di avere un IMT carotideo superiore a 1,29 mm (90° percentile

della popolazione studiata) con il seguente OR: 12,15 (p=0,029), corretto per età e Sindrome Metabolica; OR= 10,13 (p=0,029), corretto per età, Sindrome Metabolica e Apo B.

## **Discussione**

Il risultato principale del presente studio è l'associazione tra l'IMT della carotide comune ed il diametro medio delle LDL o LDL score indipendentemente da età, Apo B e Sindrome Metabolica in un gruppo di donne in menopausa. In modo particolare, abbiamo mostrato un livello specifico di LDL piccole e dense associato ad aterosclerosi subclinica: diametro medio delle LDL inferiore a 269 Å o LDL score superiore a 1,93 mg/dL. L'LDL score, che è il rapporto percentuale tra le piccole particelle di LDL (subfrazioni 3-7) e l'intera area delle LDL (subfrazioni 1-7), è risultato significativamente correlato alla malattia cardiovascolare (CHD) nelle analisi multivariate (22-24). L'IMT carotideo è un ben noto marcatore di aterosclerosi precoce, si associa ai fattori di rischio tradizionali (26) ed è collegato alla severità ed all'estensione della patologia cardiovascolare (27). Le LDL piccole e dense si sono dimostrate più aterogene rispetto alle LDL di diametro superiore in studi cross-sezionali (5,6) e prospettici (24). La fase postmenopausale (p-m) nelle donne è caratterizzata da un aumentato rischio cardiovascolare (28). Sono stati riscontrati elevati livelli plasmatici di LDLox in donne p-m rispetto a donne fertili (29). Nelle donne p-m il metabolismo lipidico e lipoproteico è significativamente alterato (30) così come la massa grassa e l'adiposità viscerale (31). Le donne in postmenopausa hanno livelli di lipoproteine a bassa densità (LDL-C) e di colesterolo totale maggiori rispetto alle donne in premenopausa ( $P < 0,05$ ). I livelli plasmatici di LDL-C e di ApoB risultano essere significativamente più elevati nelle donne in fase menopausale tardiva rispetto alle donne in premenopausa ( $P < 0,05$ ) (30).

Solo un esiguo numero di studi ha valutato la relazione tra LDL piccole e dense e IMT carotideo. In un recente lavoro (1) Shoji et al. hanno dimostrato una associazione positiva tra IMT carotideo e sd-LDL dopo correzione per età, sesso,



diabete mellito, ipertensione, fumo, velocità di filtrazione glomerulare e PCR. In un altro studio recente (32), gli autori hanno confrontato le associazioni di ApoB, colesterolo non-HDL (NHDL-C), e colesterolo LDL (LDL-C) con la Sindrome Metabolica e la sua relazione con la stenosi coronarica significativa (SCS) in 192 pazienti sottoposti ad coronarografia. Questo studio suggerisce che l'ApoB e il NHDL-C sembrano essere più correlati alla SCS nella Sindrome Metabolica con ipertrigliceridemia che all' LDL-C. Il nostro studio è stato eseguito in un campione di donne in menopausa che hanno partecipato ad uno studio di coorte nell'area metropolitana di Napoli (Progetto Atena), in un'area geografica in cui l'introito di carboidrati risulta elevato nelle abitudini alimentari a causa dell'aumentato apporto calorico e dell'aumentato consumo di grassi animali. L'attuale regime calorico unito alle abitudini alimentari hanno portato ad un'elevata prevalenza di sovrappeso e obesità soprattutto nelle donne (8,33). Considerando che lo spessore della parete carotidea riflette la presenza di patologia aterosclerotica preclinica in altri siti come per esempio le arterie coronarie (34) e risulta un predittore indipendente di eventi cardiovascolari futuri (35), e che la presenza di sd-LDL è associata ad un aumento del rischio di patologia coronarica da 2 a 3 volte (4), potrebbe risultare utile includere la valutazione carotidea ultrasonografica e il dosaggio delle sd-LDL nello screening di donne in menopausa per identificare quelle a maggiore rischio cardiovascolare che potrebbero richiedere una terapia più aggressiva. Sono necessari ulteriori e più ampi studi prospettici per confermare i nostri dati. In conclusione, i nostri risultati suggeriscono un'associazione tra le sd-LDL e l'IMT della carotide comune in modo indipendente dalla Sindrome Metabolica, dall'ApoB e dall'età. Questi risultati indicano che le sd-LDL sono marcatori di precoce aterosclerosi carotidea, e suggeriscono che la misurazione quantitativa delle sd-LDL fornisce delle informazioni utili nella valutazione del rischio cardiovascolare in particolare nelle donne in menopausa.

## **Bibliografia**

- 1) Shoji T, Hatsuda S, Tsuchikura S, Shinohara K, Kimoto E, Koyama H, Emoto M, Nishizawa Y. Small dense low-density lipoprotein cholesterol concentration and carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2009;202:582-8.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Rizzo M, Berneis K, Corrado E, Novo S. The significance of low-density-lipoproteins size in vascular diseases. *Int Angiol*. 2006;25:4-9.
- 7) Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med*. 1997; 337:408–416.
- 8) 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.
- 9) Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation* 1993; 87(3 Suppl):II56-II65.
- 10) Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study,1987-1993. *Am J Epidemiol* 1997;146:483- 94.
- 11) Nishizawa Y, Shoji T, Maekawa K, et al. Intima-media thickness of carotid artery predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003;41:S76–9.

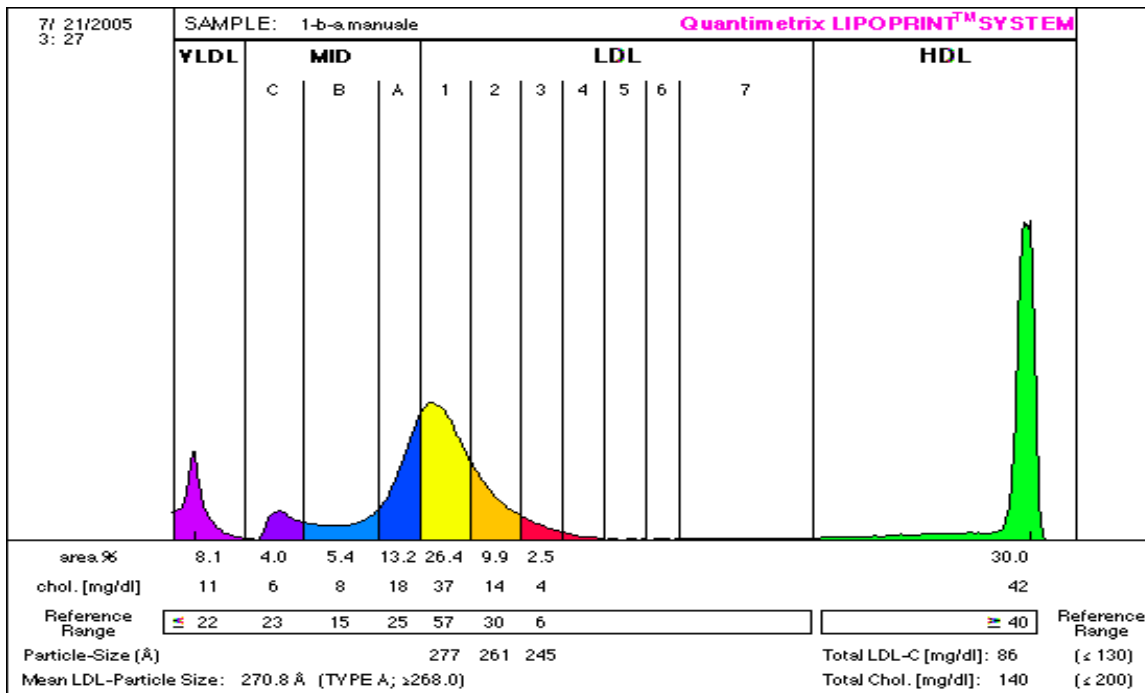
- 12) O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Thickening of the carotid wall. A marker for atherosclerosis in the elderly? Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *Stroke* 1996;27:224–31.
- 13) Shoji T, Emoto M, Tabata T, et al. Advanced atherosclerosis in pre dialysis patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 2002;61:2187–92.
- 14) Panico S, Dello Iacovo R, Celentano E, Galasso R, Muti P, Salvatore M, Mancini M. Progetto Atena, a study on the etiology of major chronic diseases in women: design, rationale and objectives. *Eur J Epidemiol.* 1992;8:601-8.
- 15) Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F. 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.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) Hoefner DM, Hodel SD, O'Brien JF, Branum EL, Sun D, Meissner I, McConnell JP. Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clin Chem.* 2001;47:266-74.

- 21) Krauss RM, Burke DJ. Identification of multiple subclasses of plasma low-density lipoproteins in normal humans. *J Lipid Res.* 1982; 23:97-104.
- 22) Austin MA, Hokanson JE, Brunzell JD. Characterization of low-density lipoprotein subclasses: methodologic approaches and clinical relevance. *Curr Opin Lipidol.* 1994;5:395-403
- 23) 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.
- 24) St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, Mauriege P, Bernard PM, Despres JP, Lamarche B. 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.
- 25) De Michele M, Panico S, Iannuzzi A, Celentano E, Ciardullo AV, Galasso R, Sacchetti L, Zarrilli F, Bond MG, Rubba P. Association of obesity and central fat distribution with carotid artery wall thickening in middle-aged women. *Stroke.* 2002 Dec;33(12):2923-8
- 26) Tang R, Hennig M, Thomasson B, Sherz R, Ravinetto R, Catalini R, Rubba P, Zanchetti A, Bond MG. Baseline reproducibility of B-modeultrasonic measurement of carotid artery intima-media thickness: the European Lacidipine Study on Atherosclerosis (ELSA). *J Hypertens.* 2000;18:197–201
- 27) Hosomi N, Mizushige K, Ohyama H, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition with enalapril slows progressive intima-media thickening of the common carotid artery in patients with non-insulindependent diabetes mellitus. *Stroke* 2001;32:1539- 45.
- 28) Van Baal WM, Kooistra T, Stehouwer CD. Cardiovascular disease risk and hormone replacement therapy (HRT): a review based on randomised, controlled studies in postmenopausal women. *Curr Med Chem* 2000;7:499–517.

- 29) Signorelli SS, Neri S, Sciacchitano S, et al. Behaviour of some indicators of oxidative stress in postmenopausal and fertile women. *Maturitas* 2006;53:77-82.
- 30) Carr MC, Kim KH, Zambon A, Mitchell ES, Woods NF, Casazza CP, Purnell JQ, Hokanson JE, Brunzell JD, Schwartz RS. Changes in LDL density across the menopausal transition. *J Investig Med.* 2000;48:245-50.
- 31) Deibert P, Koning D, Vitolins MZ, et al. Effect of a weight loss intervention on anthropometric measures and metabolic risk factors in pre- versus postmenopausal women. *Nutr J* 2007;6:31.
- 32) Boumaiza I, Omezzine A, Rejeb J, Rebhi L, Kalboussi N, Rejeb NB, Nabli N, Abdelaziz AB, Boughazala E, Bouslama A. Apolipoprotein B and Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol Are Better Risk Markers for Coronary Artery Disease than Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Hypertriglyceridemic Metabolic Syndrome Patients. *Metab Syndr Relat Disord.* 2010;8:515-22.
- 33) Gentile M, Panico S, Rubba F, Mattiello A, Chiodini P, Jossa F, Marotta G, Pauciullo P, Rubba P. Obesity, overweight, and weight gain over adult life are main determinants of elevated hs-CRP in a cohort of Mediterranean women. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64:873-8.
- 34) Crouse JR, Craven TE, Hagaman AP, Bond MG. Association of coronary disease with segment-specific intimal-medial thickening of the extracranial carotid artery. *Circulation.* 1995;92:1141-1147.
- 35) Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation.* 1997;96:1432-1437.

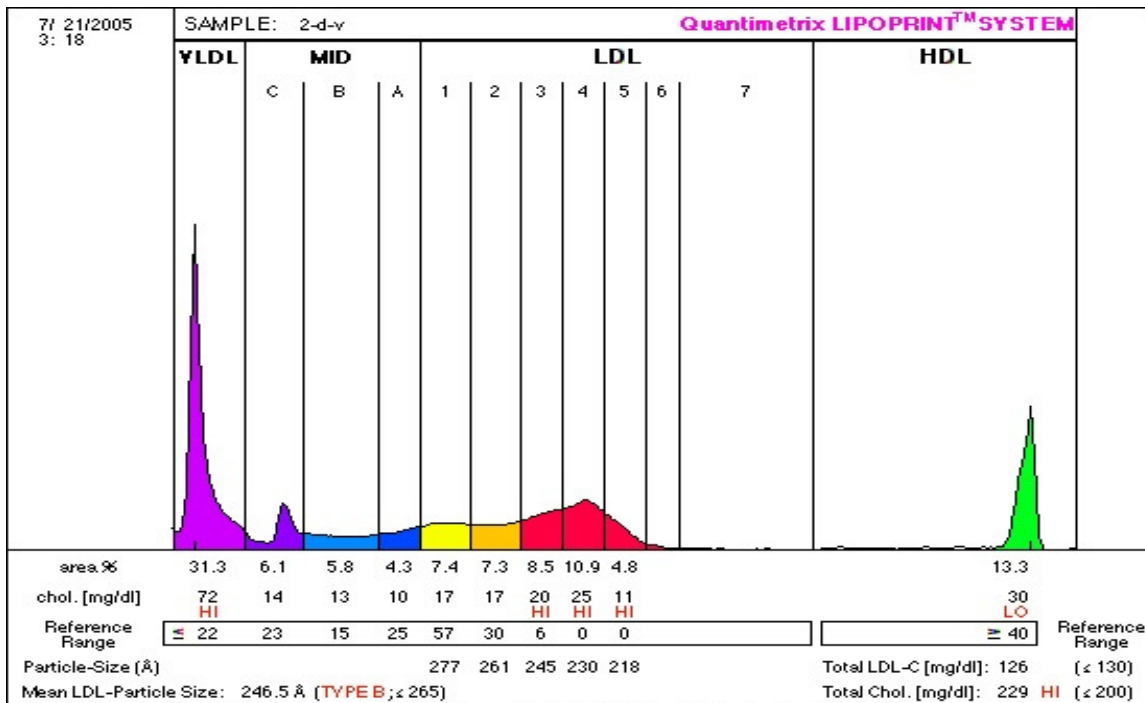
**Figura 1 Profilo LDL normale (1) o con presenza di sd-LDL (2)**

1



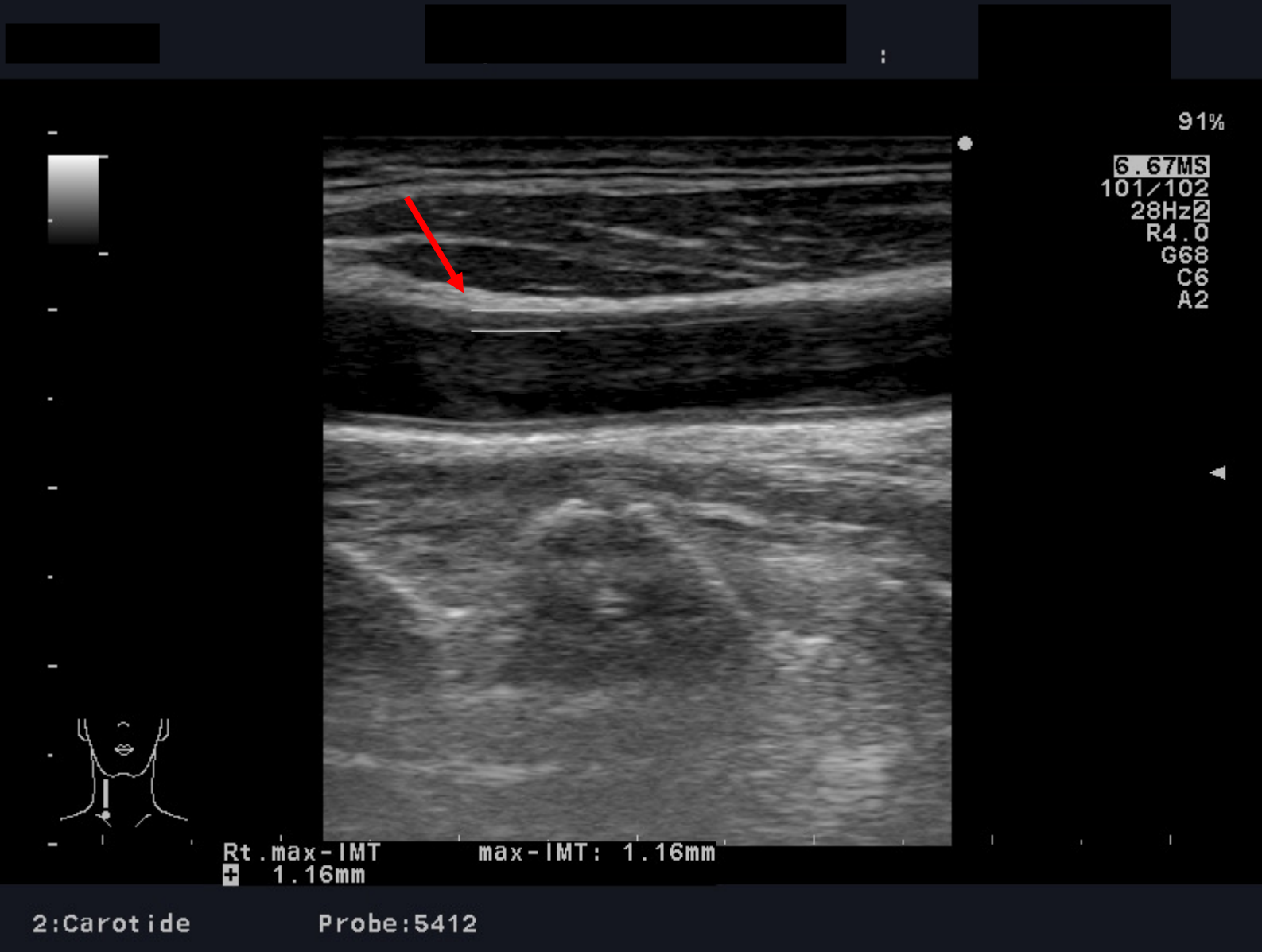
\*Reference ranges derived from 125 serum samples that met the NCEP ATPIII guidelines for desirable lipid status  
 \*\*LDL-C is comprised of the sum of cholesterol in Mid bands C through A as well as all the subfractions

2



\*Reference ranges derived from 125 serum samples that met the NCEP ATPIII guidelines for desirable lipid status  
 \*\*LDL-C is comprised of the sum of cholesterol in Mid bands C through A as well as all the subfractions

Figura 2 Misurazione ultrasonografica di IMT carotideo



**Tabella 1: Profilo di rischio cardiovascolare del Progetto Atena all'età di reclutamento (1992 – 1996; n= 5062 donne) divise nel sottogruppo con successivo dosaggio delle sd-LDL e la rimanente coorte <sup>1</sup>**

	<b>Sottogruppo (N =228)</b>	<b>Rimanente coorte (N=4834)</b>
<b>Età (anni)</b>	<b>53,0 ± 0,5 *</b>	<b>50,1 ± 0,1</b>
<b>Indice di Massa Corporea (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>27,2 ± 0,6</b>	<b>27,0 ± 0,2</b>
<b>Pressione Arteriosa (mmHg)</b>		
<b>Sistolica</b>	<b>134,0 ± 0,2</b>	<b>133,9 ± 0,3</b>
<b>Diastolica</b>	<b>81,2 ± 0,1</b>	<b>81,4 ± 0,1</b>
<b>Colesterolo (mg/dL)</b>		
<b>Totale</b>	<b>237,1 ± 0,6</b>	<b>236,9 ± 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>150,6 ± 0,01</b>
<b>Trigliceridi (mg/dL)</b>	<b>111,8 ± 0,8</b>	<b>106,1 ± 0,02</b>

<sup>1</sup> Media ± ES. Valori corretti per età.

\* Significativamente diversi dalla restante coorte, P <0,01.



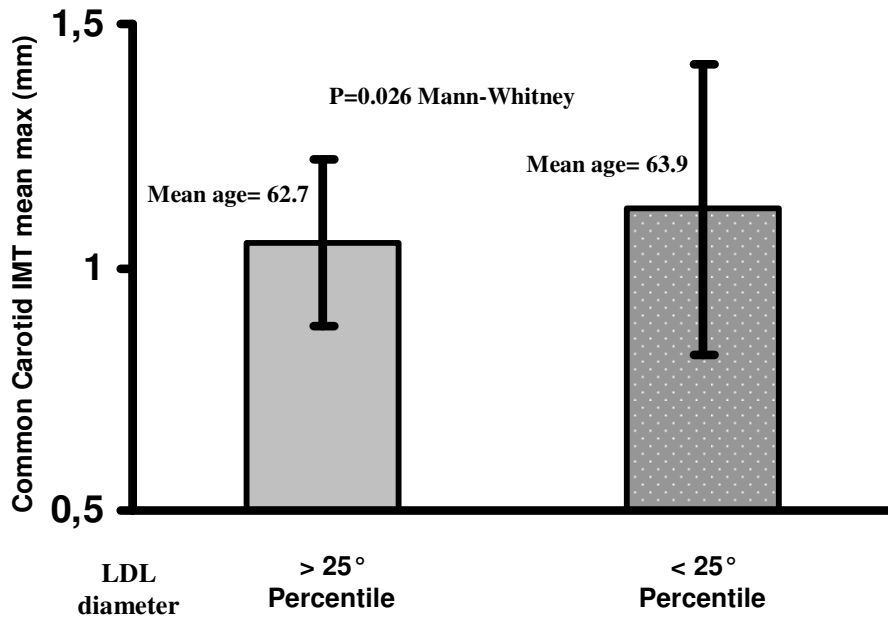
**Tabella 2: Caratteristiche cliniche e biochimiche della popolazione studiata**

<b>Variabili</b>	<b>n = 228</b>
<b>Età (anni)</b>	<b>63,1 ± 8,1</b>
<b>Colesterolo Totale (mg/dL)</b>	<b>224,5 ± 38,4</b>
<b>Trigliceridi (mg/dL)</b>	<b>110,9 ± 56,6</b>
<b>Colesterolo HDL (mg/dL)</b>	<b>57,8 ± 13,5</b>
<b>Colesterolo LDL (mg/dL)</b>	<b>144,5 ± 34,4</b>
<b>Glicemia a digiuno (mg/dL)</b>	<b>105,1 ± 25,7</b>
<b>Apolipoproteina B (g/L)</b>	<b>1,10 ± 0,2</b>
<b>PCR ultrasensibile (mg/L)</b>	<b>2,67 ± 4,1</b>
<b>Insulina (mU/L)</b>	<b>6,8 ± 4,3</b>
<b>Indice di Massa Corporea (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>28,1 ± 4,6</b>
<b>Circonferenza addominale (cm)</b>	<b>91,4± 11,1</b>
<b>Indice di insulino resistenza (HOMA)</b>	<b>1,8 ± 1,3</b>
<b>Pressione arteriosa sistolica (mm Hg)</b>	<b>143,0 ± 21,2</b>
<b>Pressione arteriosa diastolica (mm Hg)</b>	<b>81,5 ± 8,8</b>
<b>Diametro medio delle LDL (Å)</b>	<b>270,6 ± 3,3</b>
<b>LDL score (% sd-LDL)</b>	<b>3,6 ± 6,1</b>

I valori sono espressi come media ± DS. Sistema Internazionale di conversione dei fattori: per convertire i trigliceridi in millimoli per litro, moltiplicare per 0,0113; per convertire le HDL in millimoli per litro, moltiplicare per 0,02586; per convertire la glicemia in millimoli per litro, moltiplicare per 0,05551; per convertire il colesterolo totale e LDL in millimoli per litro, moltiplicare per 0,02586.

**Figura 3: Relazione fra spessore medio intimale carotideo (IMT) della Carotide Comune ed i valori di diametro medio delle sd-LDL.**

Barre di Errore indicano valori di deviazione standard. N=228



**Tabella 3: Relazione tra IMT della carotide comune, diametro medio delle LDL (inferiore a 269 Å) ed altre variabili (N=228):**

**Analisi Logistica Multivariata**

Variabili predittive	Variabile dipendente IMT carotide comune *		
	p	OR	95.0% IC per OR inferiore - superiore
Diametro medio LDL (1)	0,016	7,80	1,47-41,39
Età (2)	0,023	1,13	1,01-1,26
Sindrome Metabolica (1)	0,200	0,33	0,06-1,78
Diametro medio LDL (1)	0,034	6,38	1,14-35,56
Età (2)	0,028	1,13	1,01-1,26
Sindrome Metabolica (1)	0,178	0,31	0,05-1,70
Apo B (2)	0,400	4,53	0,13 – 153,25

(1) Variabili discrete con Diametro medio inferiore a 269 Å; Sindrome Metabolica si/no

(2) Variabili continue

\* variabile discreta con IMT superiore a 1,29 mm come risultato

**Tabella 4: Relazioni tra IMT della carotide comune, LDL score ed altre variabili (N=228): Analisi Logistica Multivariata**

<b>Variabili Predittive</b>	<b>Variabile Dipendente IMT carotide comune *</b>		
	<b>p</b>	<b>OR</b>	<b>95.0% CI per OR Inferiore-Superiore</b>
<b>LDL score (1)</b>	<b>0,029</b>	<b>12,15</b>	<b>1,29 -114,36</b>
<b>Età (2)</b>	<b>0,017</b>	<b>1,15</b>	<b>1,02-1,29</b>
<b>Sindrome Metabolica (1)</b>	<b>0,202</b>	<b>0,35</b>	<b>0,72-1,74</b>
<b>LDL score (1)</b>	<b>0,043</b>	<b>10,13</b>	<b>1,07 – 95,71</b>
<b>Età (2)</b>	<b>0,022</b>	<b>1,14</b>	<b>1,01-1,28</b>
<b>Sindrome Metabolica (1)</b>	<b>0,315</b>	<b>0,16</b>	<b>0,61-1,62</b>
<b>Apo B (2)</b>	<b>0,332</b>	<b>6,06</b>	<b>0,15 – 230,63</b>

(1) Variabili discrete con LDL score superiore a 1,93 mg/L; Sindrome Metabolica si/no

(2) Variabili continue

\* variabile discreta con IMT superiore a 1,29 mm come risultato