

Il ruolo del laboratorio clinico nella valutazione di fattori e marcatori di rischio aterosclerotico

Martina Montagnana, Giuseppe Lippi, Gian Luca Salvagno,
Massimo Franchini, Giovanni Targher, Gian Cesare Guidi

Riassunto. La prevalenza delle malattie cardiovascolari su base aterosclerotica è in costante aumento in tutto il mondo ed il progressivo invecchiamento della popolazione rende questo andamento difficilmente reversibile. Si tratta di una patologia diffusa, sistemica e cronica, che inizia precocemente nell'infanzia e progredisce in modo silente fino all'età adulta. Le manifestazioni cliniche comprendono la patologia coronarica, l'ischemia cerebrale, gli attacchi ischemici transitori e la vasculopatia periferica occlusiva. La comprensione della patogenesi è stata completamente rivoluzionata nel corso degli anni e più di 300 fattori di rischio sono stati associati a genesi, progressione e complicanze di questa complessa patologia. In modo particolare, fattori di rischio e marcatori biochimici svolgono un ruolo determinante nelle diverse tappe che caratterizzano il processo aterosclerotico e rivestono una sostanziale importanza nella stratificazione del rischio e della prevenzione.

Parole chiave. Aterosclerosi, colesterolo, fattori di rischio, fibrinogeno, lipidi, marcatori, omocisteina.

Summary. *Role of biochemical risk factor and markers in the atherosclerosis process.*

The prevalence of atherosclerotic cardiovascular disorders is constantly increasing worldwide, and the aging of the population will make this trend rather unlikely to be reversed. It is a diffuse, systemic, chronic disorder that starts early in childhood and progresses asymptotically throughout the adult life. Later in life, it is clinically manifested as coronary artery disease, stroke, transient ischemic attack and peripheral occlusive arterial disease. The notions on the pathogenesis have been almost revolutionized over the past decades and over 300 risk factors have been associated with genesis, progression and complication of this challenging disorder. Particularly, biochemical risk factors and markers play a crucial role in all steps of atherosclerosis process, and entail a great relevance in risk stratification and early prevention.

Key words. Atherosclerosis, cholesterol, fibrinogen, homocysteine, lipids, markers, risk factors.

Introduzione

L'aterosclerosi e le sue complicanze occupano tuttora il primo posto tra le cause di mortalità e morbilità nei Paesi occidentali¹. La prevalenza è in costante progressione anche nei paesi non industrializzati, e si stima che nel 2020 le patologie su base aterosclerotica rappresenteranno la principale causa di mortalità in tutto il mondo².

L'aterosclerosi è definita convenzionalmente come malattia infiammatoria sistemica cronica, che può rimanere silente per molti anni prima della comparsa di sintomi clinici indicativi, rappresentati principalmente dalla malat-

tia coronarica, dall'ischemia cerebrale su base occlusiva e dall'arteriopatia periferica³. Il termine latino *ateroma* è stato proposto per la prima volta nel 1755 da Albrecht von Halles, ad indicare una placca che origina nella parete delle arterie. Nel 1940, Félix Marchand suggerì l'utilizzo del termine *atherosclerosis*, derivato dall'unione di due parole greche: *atere* che significa letteralmente "pap-pa", ad indicare il materiale grasso, poltaceo, contenuto nelle placche, e *sclerosis* che significa "indurimento"⁴. La lesione iniziale è la cosiddetta "stria lipidica", lesione infiammatoria ricca di macrofagi e linfociti T, preceduta da un'infiltrazione nell'intima di lipoproteine a bassa densità (LDL).

¹Sezione di Chimica e Microscopia Clinica, Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche; ²Sezione di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo, Dipartimento di Scienze Biomediche e Chirurgiche, Università, Verona; ³Servizio di Immunoematologia e Trasfusione, Azienda Ospedaliera, Verona.

Pervenuto il 3 agosto 2007.

Queste lipoproteine possono a loro volta subire una complessa serie di rimaneggiamenti fisici e biochimici (ossidazione, glicosilazione, autoaggregazione, formazione di immunocomplessi) che le rendono in ultima istanza maggiormente aterogene⁵. **Le lesioni aterosclerotiche tendono ad evolversi nel tempo.** Esse originano nell'infanzia come strie lipidiche potenzialmente reversibili, per poi trasformarsi in vere e proprie placche aterosclerotiche che determinano la stenosi del lume arterioso nelle fasi avanzate o si ulcerano, complicandosi con una trombosi sovrapposta che può occludere parzialmente o completamente il lume del vaso.

A fronte di questa chiara progressione di eventi, **la patogenesi appare piuttosto complessa** ed è ancora oggi oggetto di studio. Gli eventi iniziali dell'aterogenesi sono identificati nel danno o disfunzione endoteliale e nell'accumulo e successiva alterazione delle LDL nell'intima delle arterie, due eventi che s'influenzano mutuamente. I successivi momenti, o tappe patogenetiche, riconoscono diversi attori, che debbono essere necessariamente distinti tra fattori di rischio veri e propri e fattori che possono essere invece considerati solo dei marcatori.

Fattori di rischio o marcatori patogenetici?

Per essere definito **“fattore di rischio”** una variabile (ambientale o genetica) deve soddisfare alcuni criteri essenziali: 1) essere legata causalmente alla malattia (studi prospettici devono stabilire una sequenza causale tra fattore e malattia); 2) l'associazione deve essere forte, indipendente e possedere meccanismi biologicamente plausibili e 3) interventi atti a ridurre l'impatto o eliminare completamente tale variabile dovrebbero ripercuotersi favorevolmente sull'incidenza o la prevalenza della malattia^{6,7}.

Un **“marcatore di rischio”** presenta invece una associazione meno evidente, e, soprattutto, per essere tale non è necessaria la dimostrazione di un rapporto causale. Il **“marcatore di rischio”** deve però aggiungere

informazioni indipendenti su rischio e prognosi (tramite studi prospettici e/o di caso/controllo), giustificare una quota significativa del rischio associato alla malattia, il dosaggio dello stesso deve presentare una buona riproducibilità e deve essere sensibile, specifico, dotato di elevato valore predittivo e disponibile ampiamente e non solo a scopo di ricerca^{8,9}.

Poste queste premesse, è necessario sottolineare come in letteratura i due termini siano spesso confusi, tanto che sovente i marcatori vengono utilizzati ed interpretati come fattori di rischio e viceversa¹⁰.

D'Agostino ha ben definito le tappe che devono guidare il processo di valutazione di nuovi fattori di rischio¹¹.

Tabella 1. *Principali fattori e marcatori di rischio aterosclerotico.*

Marcatori di infiammazione ed instabilità di placca	Proteina C reattiva Interleuchine (IL-6, TNF, in particolare) Amilode sierica A (SAA) Fattore C3 del complemento Molecole di adesione vascolare e cellulare (ad es. VCAM e ICAM) CD40 Ligand solubile (sCD40L) Conta leucocitaria
Marcatori emostatici	Inibitore 1 dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1) D-dimero Fibrinopeptide A Frammenti 1 e 2 della protrombina
Fattori di rischio emostatici	Fibrinogeno Fattore di von Willebrand (VWF) Fattore VIII della coagulazione
Fattori di rischio legati alle piastrine	Iperattività piastrinica Forma e volume piastrinico (PDV)
Fattori di rischio lipidici	Colesterolo totale Colesterolo LDL Colesterolo HDL Colesterolo non-LDL Rapporto tra colesterolo totale ed HDL Ipertrigliceridemia Indice aterogenico del plasma (log/trigliceridi/HDL colesterolo) Fenotipo delle lipoproteine bassa densità (LDL) Lipoproteina (a) «Remnants» lipoproteici Apolipoproteine A1 e B Sottotipi delle lipoproteine ad alta densità (HDL) LDL ossidate
Altri fattori	Omocisteina Microalbuminuria Resistenza insulinica Metalloproteinasi Chemochine e citochine Genotipo del PAI-1 Genotipo dell'ACE (enzima di conversione dell'angiotensina) Genotipo dell'apolipoproteina E Agenti infettivi (Cytomegalovirus, <i>Chlamydia Pneumonia</i> , <i>Helicobacter Pylori</i> , <i>Herpes simplex virus</i>)

In base a questo approccio, appare fondamentale (a) definire la popolazione d'interesse, (b) definire gli obiettivi d'interesse, (c) scegliere quali fattori di rischio pre-esistenti includere nella valutazione, (d) selezionare il modello appropriato ed i test statistici più opportuni nella valutazione di un nuovo marcatore. Per quanto riguarda quest'ultimo punto, la significatività statistica è condizione inalienabile. Una misura chiave dell'utilità clinica è data dalla capacità di discriminare tra i soggetti che hanno l'evento morboso oggetto dello studio e quelli che invece ne sono esenti. Sono stati proposti diversi strumenti statistici e l'approccio mediante curve Receiver Operative Characteristic (ROC) risulta essere quello più valido e diffuso¹². Un altro utile parametro per valutare la forza dell'associazione tra fattore e malattia è il Rischio Relativo (RR). Esso esprime il rapporto fra il rischio di malattia in presenza del fattore, rispetto al rischio in assenza dello stesso ($RR=R+/R-$). Il rischio attribuibile esprime invece la "differenza" tra il rischio di malattia in presenza del fattore ed il rischio corso in assenza dello stesso ($RA= R\pm R-$). Esso rappresenta quindi la quota di malati che potrebbe essere evitata se venisse completamente rimosso il fattore di rischio in esame^{13,14}.

In linea generale, i marcatori possono essere suddivisi in base all'evento patogenetico cui contribuiscono (tabella 1). Alcuni di questi possono anche essere definiti come fattori di rischio, poiché autorevoli studi, quali ad esempio il Framingham¹⁵ o il Munster Heart Study (PROCAM)¹⁶, ne hanno dimostrato il legame causale con la malattia. Nel 1999 una Commissione congiunta tra l'American Heart Association (AHA) e l'American College of Cardiology (ACC), ha emanato nuove linee guida per la valutazione del rischio cardiovascolare, utilizzando un algoritmo multiparametrico nel quale i **fattori di rischio (sia clinici, sia di laboratorio) vengono classificati in "maggiori", "pre-disponenti" e "condizionali"**¹⁷. Questi ultimi sono così definiti perché il loro contributo quantitativo, causale ed indipendente, deve essere ancora completamente stabilito, malgrado siano comunque associati ad un'augmentata incidenza di malattia.

Per quanto riguarda i parametri biochimici, aumentati livelli di colesterolo totale e di LDL e bassi livelli di HDL sono considerati fattori maggiori ed indipendenti; aumentati livelli di trigliceridi, omocisteina, lipoproteina(a), fibrinogeno, proteina C reattiva e fenotipo B delle LDL sono inclusi tra i fattori condizionali¹⁷.

Parametri lipidici tradizionali

I fattori di rischio lipidici maggiori o "tradizionali" identificati nello studio Framingham sono ben conosciuti ed includono livelli elevati di colesterolo totale e di LDL e bassi livelli di HDL¹⁸. Le linee guida del NCEP (National Cholesterol Education Program), contenute nel più recente Adult

Treatment Panel III (ATP III)¹⁹, raccomandano un valore ottimale per il colesterolo LDL <160 mg/dL in pazienti con meno di due fattori di rischio, <130 mg/dL in pazienti con due o più fattori di rischio ed un rischio globale a 10 anni inferiore od uguale al 20% (calcolato con il punteggio Framingham) e <100 mg/dL in pazienti con malattia coronarica accertata, altre forme cliniche di malattia aterosclerotica, diabete mellito, sindrome metabolica o pazienti con rischio a 10 anni superiore al 20%. Nel 2005 è stata anche avanzata l'ipotesi di abbassare il target ideale per i pazienti con diabete ad un colesterolo LDL addirittura <70 mg/dL²⁰. Al momento, il calcolo delle LDL mediante la formula di Friedewald sembra offrire risultati più attendibili e clinicamente utili rispetto alle tecniche di determinazione diretta²¹. Ridotti livelli di colesterolo HDL sono un indice indipendente predittivo di cardiopatia coronarica²².

Il più recente target proposto dal National Cholesterol Education Program (NCEP) per il colesterolo HDL è un valore >40 mg/dL. Nell'Adult Treatment Panel III (ATP III), bassi livelli di colesterolo sono categoricamente definiti quando inferiori a <40 mg/dl, elevando quindi la soglia dei 35 mg precedentemente definiti nell'ATP II. Mentre è stabilito che l'aumento isolato del colesterolo LDL rappresenta un fattore di rischio maggiore per aterosclerosi coronarica, nel caso dell'aterosclerosi delle arterie periferiche il rapporto tra colesterolo totale e HDL è definito quale fattore lipidico maggiore (un valore >5 definisce un rischio aumentato).

Ipertrigliceridemia

Una recente metanalisi, che ha considerato diversi studi prospettici, ha confermato il ruolo dell'ipertrigliceridemia come fattore di rischio indipendente per la malattia aterosclerotica²³. Dati aggiuntivi del PROCAM Study hanno confermato l'associazione tra trigliceridi e malattia coronarica, indipendentemente dalla presenza di ipercolesterolemia e bassi livelli di HDL²⁴. **Le linee guida del NCEP espresse nello ATP III, identificano in <150 mg/dL il valore desiderabile per i trigliceridi**¹⁹.

Fenotipo delle lipoproteine a bassa densità

Le LDL caratterizzate da dimensioni minori e densità maggiore (comunemente note come "fenotipo B") appaiono più aterogene rispetto a quelle di dimensioni maggiori e minore densità (fenotipo A), poiché verosimilmente contenenti una maggiore quantità di colesterolo e maggiormente suscettibili all'ossidazione²⁵. Le tecniche analitiche oggi disponibili per l'analisi fenotipica delle LDL sono tuttavia molto complesse e costose e si basano essenzialmente su elettroforesi a gradiente in condizioni non denaturanti. Tecniche ancor più sofisticate sono l'HPLC e la spettrometria di massa²⁶.

Lipoproteine a bassa densità ossidate

Lo stress ossidativo, in particolare l'ossidazione delle LDL, può influenzare lo sviluppo della malattia aterosclerotica ed alcuni marcatori di ossidazione delle LDL (LDL ossidate circolanti e autoanticorpi anti-LDL ossidate) potrebbero essere utili marcatori di ATS²⁷. **Come già descritto in precedenza, l'ossidazione delle LDL è un evento chiave nello sviluppo della reazione infiammatoria cronica dell'intima, poiché esse tendono ad accumularsi preferenzialmente in sede di danno endoteliale.** L'ossidazione delle LDL è sostenuta da enzimi e substrati ossidanti prodotti dalle cellule della parete arteriosa, soprattutto dalle cellule del complesso monocitico-macrofagi, che sono reclutate nell'intima a seguito di danni endoteliali di varia eziologia. Si suppone che le alterazioni biochimiche di lipidi e proteine che contraddistinguono le lipoproteine ossidate possano generare importanti modificazioni strutturali, alterandone il potenziale di legame ai recettori, fenomeno comune anche alle lipoproteine acetilate. Le lipoproteine ossidate seguirebbero quindi vie metaboliche alternative e maggiormente responsabili del processo aterogenico²⁸. Inoltre esse svolgerebbero un'azione citotossica diretta e un'azione mitogena su cellule muscolari lisce, macrofagi, fibroblasti e cellule endoteliali.

Colesterolo non-HDL

Alcuni studi clinici hanno recentemente suggerito che la misurazione del colesterolo non-HDL, che riflette il colesterolo totale meno il colesterolo HDL, possa essere un parametro più efficace rispetto al solo colesterolo totale o allo stesso colesterolo LDL²⁹. In pratica, il colesterolo non HDL esprime non solo il colesterolo incluso nella formula di Friedewald e quindi contenuto nelle LDL, Lp(a) ed IDL, ma anche quello contenuto in altre particelle potenzialmente aterogene quali VLDL, chilomicroni e "remnants".

L'ATP III suggerisce un target terapeutico per il colesterolo non HDL superiore di 30 mg/dL rispetto a quello per il colesterolo LDL, e quindi generalmente <130 mg/dL¹⁹.

Lipoproteina(a)

La Lp(a) è una variante genetica delle LDL, in cui la glicoproteina apolipoproteina(a) [apo(a)] è legata tramite un singolo ponte legame covalente alla apo B³⁰. La apo(a) presenta una spiccata omologia strutturale e funzionale con il plasminogeno, proteina plasmatica deputata alla dissoluzione dei trombi. A causa dell'identità strutturale alle proteine del sistema fibrinolitico, Lp(a) interferisce attivamente nel corretto sviluppo della fibrinolisi, riducendo l'entità di lisi dei trombi *in vivo*³¹. Inoltre, Lp(a) si lega ai macrofagi mediante un recettore che promuove generazione di cellule schiumose ("foam cells"), ele-

menti chiave nell'aterogenesi, e deposizione di larghe quantità di colesterolo nelle placche aterosclerotiche. Nella parete delle arterie, Lp(a) è anche in grado di promuovere la crescita e la differenziazione delle cellule muscolari lisce ed endoteliali, aggravando e precipitando il danno in sede di placca³².

Nel Framingham Heart Study vi sono dati che indicherebbero la Lp(a) come un possibile predittore indipendente di infarto e di malattia cardiovascolare.

Apolipoproteine A e B

Le apolipoproteine (apo) A e B sono proteine strutturali rispettivamente delle lipoproteine ad alta densità (HDL) e di quelle a densità molto bassa (VLDL-LDL). In generale, le lipoproteine contenenti apo B trasportano lipidi dal fegato ai siti periferici di primario utilizzo o deposito (sintesi delle membrane cellulari, di ormoni steroidei, accumulo come riserva energetica), mentre le particelle contenenti apo A mediano il trasporto inverso, riportando l'eccesso di lipidi (soprattutto colesterolo) dai tessuti periferici al fegato, il solo organo capace di eliminarlo in elevata quantità attraverso la bile. Apo AI è in grado anche di attivare la lecithincholesterol acyl transferase (LCAT), l'enzima responsabile per l'esterificazione del colesterolo, presupposto essenziale affinché il meccanismo di trasporto inverso del colesterolo sia efficiente³³. L'apo B fornisce una misura diretta del numero di particelle contenenti colesterolo che contribuiscono alla patogenesi del processo aterosclerotico.

Recenti studi clinici hanno indicato che la stima delle apo B sia sovrapponibile a quella del colesterolo non-HDL nell'identificazione e la stratificazione del rischio di eventi vascolari^{34,35}.

Rapporto apo B/apo A

Il rapporto tra le concentrazioni di apoB e apoA (apoB/A) è stato proposto come un utile strumento per valutare l'equilibrio tra due processi opposti: l'internalizzazione del colesterolo nelle arterie ed il trasporto inverso del colesterolo stesso al fegato^{36,37}. Questo indice dovrebbe rappresentare una stima del numero di particelle lipoproteiche proaterogene e antiaterogene e sembra fornire informazioni più attendibili sul rischio di aterosclerosi rispetto anche alle LDL³⁸.

Iperomocisteinemia

Rappresenta **uno dei fattori emergenti di rischio cardiovascolare³⁹**. L'omocisteina è un amminoacido solforato che si genera durante il metabolismo di un amminoacido essenziale, la metionina, il cui fabbisogno è prossimo ad un grammo/die, mentre l'introduzione media è più o meno il doppio.

I livelli di omocisteina sono regolati da una serie di complesse reazioni enzimatiche (la più importante è quella catalizzata dalla metiltetraidrofolato reduttasi o MTHFR), con la partecipazione di coenzimi, principalmente vitamina B6, B12 e acido folico⁴⁰. In caso di diminuzione dell'attività enzimatica o di deficit dei coenzimi, può originare iperomocisteinemia, che porta a diverse conseguenze a livello vascolare, tra le quali stress ossidativo (aumento dei radicali liberi dell'ossigeno e perossidazione lipidica), disfunzione endoteliale (inibizione di prostaciclina endoteliale e diminuita disponibilità di ossido nitrico), aumento della proliferazione delle cellule muscolari lisce, aumentato rilascio di fattori della coagulazione (fattori V, X e fibrinogeno)⁴¹, attivazione piastrinica e produzione di trombosano A2, internalizzazione delle LDL nei macrofagi, ossidazione delle LDL, formazione di cellule schiumose.

Recentemente, è stato anche suggerito che concentrazioni patologiche rilevanti di omocisteina possano indurre espressione di molecole di adesione leucocitarie, processo chiave nel reclutamento periferico di elementi cellulari che contribuiscono alla patogenesi dell'aterosclerosi⁴². Nonostante queste importanti proprietà fisiopatologiche dell'omocisteina siano state ampiamente dimostrate, i principali studi clinici che hanno avuto come oggetto l'effetto della somministrazione di vitamine del complesso B su mortalità e morbilità cardiovascolare, non hanno dimostrato benefici rilevanti nel gruppo dei pazienti trattati^{43,44}.

Fattori protrombotici

La trombogenicità della lesione aterosclerotica dipende soprattutto dalla presenza nelle placche del fattore tissutale (TF), che è in grado di attivare la cascata coagulativa. Il TF, anche noto come tromboplastina, rappresenta la proteina chiave nell'innescare della cascata coagulativa, in quanto è in grado di attivare direttamente il fattore X, dando il via alla complessa serie di eventi che contraddistinguono il "burst" coagulativo e che portano, in ultimo, in generazione di fibrina⁴⁵. Anche le piastrine svolgono un ruolo importante, poiché esse aderiscono alle fibrille di collagene subintimali e al fattore di von Willebrand (VWF), stimolando la chemiotassi leucocitaria, determinando la formazione dei complessi piastrina-monocita, o con altri meccanismi⁴⁶. Negli ultimi anni, diversi studi hanno esaminato le alterazioni dell'emostasi e della fibrinolisi, potenzialmente predittive di eventi cardiovascolari. Da queste ricerche è emerso che **l'associazione tra fattori emostatici e aterosclerosi è prevalente per il fibrinogeno**. Esso infatti aumenta la viscosità plasmatica, stimola adesione e chemotassi cellulare, favorisce l'aggregazione piastrinica, può stimolare la vasocostrizione e stimola la proliferazione delle cellule muscolari lisce vascolari⁴⁷. Il fibrinogeno è in parte modulato da fattori genetici e può aumentare nella menopausa, nel diabete e nei fumatori⁴⁸.

Chemochine

È stato recentemente palesato un considerevole interesse nei confronti delle citochine chemotattiche, o chemochine, nell'ambito della patologia aterosclerotica, poiché esse mediano la chemotassi dei leucociti, tipica di questo processo^{49,50}. **Un'aumentata espressione delle chemochine CCL19 (chemokine ligand 19) e CCL21 (chemokine ligand 21) e del loro recettore comune CCR7 (chemokine receptor 7) contribuisce alla progressione della malattia aterosclerotica**, mediante il reclutamento di linfociti T e di macrofagi e promuovendo la risposta infiammatoria⁵¹. Esiste inoltre uno stretto legame tra piastrine e chemochine, in quanto le piastrine possono rilasciare chemochine e a loro volta quest'ultime potenziano l'aggregazione e l'adesione piastrinica, facilitando l'arresto di monociti circolanti in sede di placca⁵².

Marcatori di infiammazione

L'infiammazione è oggi universalmente considerata un aspetto essenziale nella patogenesi del processo aterosclerotico.

In modo particolare, il processo infiammatorio locale può determinare instabilità di placca⁵³. A questo riguardo hanno assunto importanza pre-dittiva alcune proteine della fase acuta come le interleuchine, la proteina sierica amiloide A (SAA), le molecole di adesione vascolare, il Tumor Necrosis Factor (TNF)-alfa ed il fibrinogeno. La proteina C reattiva (PCR) è coinvolta primariamente nella patogenesi dell'aterosclerosi⁵⁴. Una recente valutazione prospettica su 11 marcatori plasmatici associati con l'insorgenza di arteriopatia, ha dimostrato che il rapporto colesterolo totale/HDL e la PCR misurata con tecniche ad alta sensibilità (HS-PCR) appaiono essere i più forti predittori di sviluppo della malattia⁵⁵. La PCR sembra avere un ruolo diretto nella patogenesi dell'aterosclerosi: promuove l'assorbimento delle LDL da parte dei macrofagi, induce l'espressione di molecole di adesione da parte delle cellule endoteliali, che richiamano monociti nel sito della placca e si lega e attiva fattori del complemento⁵⁶. Anche aumentati livelli del terzo componente (C3) del complemento sono associati indipendentemente con il rischio di patologia su base aterosclerotica⁵⁷.

Metalloproteinasi

Le metalloproteinasi della matrice (MMPs) sono una famiglia di endopeptidasi zinco e calcio-dipendenti, coinvolte nel rimodellamento e nell'omeostasi fisiologica della matrice extracellulare (ECM)⁵⁸. Sono, inoltre, implicate in molti processi patologici caratterizzati sia da degradazione del tessuto connettivo, sia da stati pro-infiammatori, tra i quali l'aterosclerosi⁵⁹. Questi enzimi mediano la progressione da una forma stabile ad una instabile della placca aterosclerotica, interagendo con le cellule muscolari lisce del vaso. Il meccanismo alla base di questo processo non è stato però ancora compreso⁶⁰.

Fattori genetici

L'aterosclerosi è una malattia multifattoriale con una forte componente ereditaria. Si ipotizza che possono essere coinvolti più di 400 geni nei processi ad essa correlati. La reale associazione con il rischio aterosclerotico deve essere stimata con cautela prima di introdurre test genetici nella pratica clinica. A questo riguardo, una recente meta-analisi che ha preso in esame un pannello di 85 mutazioni genetiche ha escluso che esse possano determinare un significativo aumento del rischio cardiovascolare in aggiunta ai tradizionali parametri di stima⁶¹. I principali geni che potrebbero conferire una maggiore suscettibilità alla patologia aterosclerotica sono fattori di trascrizione implicati nella vasculogenesi (MEF2A), molecole di segnale coinvolte nel meccanismo infiammatorio (LTA), molecole coinvolte nell'immunità innata (TLR4), geni codificanti per apolipoproteine (APOA5), molecole coinvolte nel-

l'immunità acquisita (MHC2TA), geni di disfunzione endoteliale (MTHFR) o che interessano il metabolismo di lipidi, glucidi e aminoacidi⁶². Nell'ambito dei fattori genetici più importanti di recente identificazione, vi è crescente interesse per il gene OLR1, il quale codifica per il recettore delle ox-LDL (LOX-1/OLR1), la cui espressione nelle cellule endoteliali è attiva in condizioni di stress infiammatorio e nel tessuto aterosclerotico⁶³. Va peraltro ribadito che l'attuale contributo della genomica alla stima del rischio cardiovascolare è molto limitato⁶⁴. Pertanto, l'ossessiva ricerca di associazioni genotipo-fenotipo nella stima del rischio cardiovascolare rappresenta oggettivo motivo di interesse per la ricerca scientifica, ma trova scarso riscontro, almeno in termini di costo-beneficio, nella pratica clinica, allorché la definizione del rischio verte essenzialmente su parametri tradizionalmente consolidati e di costo accettabile (colesterolo totale, LDL-colesterolo, HDL-colesterolo).



Conclusioni

Le malattie cardiovascolari rappresentano una sfida per i sistemi sanitari di tutto il mondo. La prevalenza in costante crescita determina un coinvolgimento sempre maggiore della popolazione adulta, il che si riflette in un considerevole dispendio di risorse umane ed economiche. Si tratta, inoltre, di patologie potenzialmente prevenibili, nelle quali una accurata valutazione (stratificazione) del rischio ed una ponderata strategia di prevenzione potrebbero rivelarsi molto fruttuose a medio e lungo termine. Nondimeno, la complessità della patogenesi ed il coinvolgimento di un ampio ed eterogeneo spettro di fattori di rischio complica la definizione e l'adozione di valide strategie per fronteggiare un fenomeno che potrebbe essere definito nei termini di una vera e propria pandemia. **La determinazione di alcuni fattori di rischio biochimici pone il laboratorio in una posizione strategica nella valutazione del rischio, sempre che i parametri selezionati rispondano ad una precisa logica di efficienza clinica, in cui sia dimostrabile un favorevole rapporto tra costo e beneficio.**

Bibliografia

- Jemal A, Ward E, Hao Y, Thun M. Trends in the leading causes of death in the United States, 1970-2002. *JAMA* 2005; 294: 1255-9.
- Murray CJL, Lopez LD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349: 1498-504.
- Viles-Gonzalez JF, Fuster V, Badimon JJ. Atherothrombosis: a widespread disease with unpredictable and life-threatening consequences. *Eur Heart J* 2004; 25: 1197-207.
- Li JJ, Fang CH. Atheroscleritis is a more rational term for the pathological entity currently known as atherosclerosis. *Med Hypotheses* 2004; 63: 100-2.
- Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 2005; 111: 3481-8.
- Mosca L. C-reactive protein-to screen or not to screen? *N Engl J Med* 2002; 347: 1615-7.
- Hackam DG, Anand SS. Emerging risk factors for atherosclerotic vascular disease: a critical review of the evidence. *JAMA* 2003; 290: 932-40.
- LaBaer J. So, you want to look for biomarkers. *J Proteome Res* 2005; 4: 1053-9.
- Manolio T. Novel risk markers and clinical practice. *N Engl J Med* 2003; 349: 1587-9.
- Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, et al; Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107: 499-511.
- D'Agostino RB. Risk prediction and finding new independent prognostic factors. *J Hypertension* 2006; 24: 643-5.
- Pencina MJ, D'Agostino RB, Vasan RS. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. *Stat Med* 2007 Jun 13; [Epub ahead of print].
- Grundy SM, Balady GJ, Criqui MH, Fletcher G, Greenland P, Hiratzka LF, et al. Primary prevention of coronary heart disease: guidance from Framingham: a statement for healthcare professionals from the AHA Task Force on Risk Reduction. *Circulation* 1998; 97: 1876-87.

14. Moriarty PM. Relative risk reduction versus number needed to treat as measures of lipid-lowering trial results. *Am J Cardiol* 1998; 82: 505-7.
15. Castelli WP. Epidemiology of triglycerides: a view from Framingham. *Am J Cardiol* 1992; 70: 3H-9H.
16. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) Study. *Circulation* 2002; 105: 310-5.
17. Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S Jr, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation* 1999; 100: 1481-92.
18. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97: 1837-47.
19. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-97.
20. Haffner S. Rationale for new American Diabetes Association guidelines: Are National Cholesterol Education Program goals adequate for the patient with diabetes mellitus? *Am J Cardiol* 2005; 96: 33E-36E.
21. Yu HH, Ginsburg GS, Harris N, Rifai N. Evaluation and clinical application of a direct low-density lipoprotein cholesterol assay in normolipidemic and hyperlipidemic adults. *Am J Cardiol* 1997; 80: 1295-9.
22. Watson KE, Ansell BJ, Watson AD, Fonarow GC. HDL Function as a target of lipid-modifying therapy. *Rev Cardiovasc Med* 2007; 8: 1-8.
23. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 1996; 3: 213-9.
24. Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am J Cardiol* 1996; 77: 1179-84.
25. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willet WC, Krauss RM. Low density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1988; 260: 1917-21.
26. Krauss RM, Blanche PJ. Detection and quantitation of LDL subfractions. *Curr Opin Lipidol* 1992; 3: 377-83.
27. Scacchi M, Valassi E, Pincelli AI, Fatti LM, Pecori Giraldi F, Ascoli P, et al. Increased lipid peroxidation in adult GH-deficient patients: effects of short-term GH administration. *J Endocrinol Invest* 2006; 29: 899-904.
28. Holvoet P, Jenny NS, Schreiner PJ, Tracy RP, Jacobs DR, for the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. The relationship between oxidized LDL and other cardiovascular risk factors and subclinical CVD in different ethnic groups: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis* 2006 Sept 16; [Epub ahead of print].
29. Cui Y, Blumenthal RS, Flaws JA, Whitman MK, Langenberg P, Bachorik PS, et al. Non-high-density lipoprotein cholesterol level as a predictor of cardiovascular disease mortality. *Arch Intern Med* 2001; 161: 1413-9.
30. Kochinsky ML, Marcovina SM. Structure-function relationships in apolipoprotein (a) insights into lipoprotein (a) assembly and pathogenicity. *Curr Opin Lipidol* 2004; 15: 167-74.
31. Ezratty A, Simon DI, Loscalzo J. Lipoprotein(a) binds to human platelets and attenuates plasminogen binding and activation. *Biochemistry* 1993; 32: 4628-33.
32. Loscalzo J. Lipoprotein(a). A unique risk factor for atherothrombotic disease. *Arteriosclerosis* 1990; 10: 672-9.
33. Marcovina SM, Packard CJ. Measurement and meaning of apolipoprotein AI and apolipoprotein B plasma levels. *J Intern Med* 2006; 259: 437-46.
34. Pischon T, Girman CJ, Sacks FM, Rifai N, Stampfer MJ, Rimm EB. Non-high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B in the prediction of coronary heart disease in men. *Circulation* 2005; 112: 3375-83.
35. Simon A, Chironi G, Gariepy J, Del Pino M, Iverson J. Differences between markers of atherogenic lipoproteins in predicting high cardiovascular risk and subclinical atherosclerosis in asymptomatic men. *Atherosclerosis* 2005; 17: 339-449.
36. Walldius G, Jungner I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. *J Intern Med* 2004; 255: 188-205.
37. Walldius G, Jungner I. Rationale for using apolipoprotein B and apolipoprotein A-I as indicators of cardiac risk and as targets for lipid-lowering therapy. *Eur Heart J* 2005; 26: 210-2.
38. Schmidt C, Fagerberg B. ApoB/apoA-I ratio is related to femoral artery plaques in 64-year-old women also in cases with low LDL cholesterol. *Atherosclerosis* 2007 Mar 1; [Epub ahead of print].
39. Lentz SR. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1646-54.
40. Mangoni AA, Jackson SH. Homocysteine and cardiovascular disease: current evidence and future prospects. *Am J Med* 2002; 112: 556-65.
41. Eldibany MM, Caprini JA. Hyperhomocysteinemia and thrombosis: an overview. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 872-84.
42. Carluccio MA, Ancora MA, Massaro M, Carluccio M, Scoditti E, Distante A, et al. Homocysteine induces VCAM-1 gene expression through NF- κ B and NAD(P)H oxidase activation. Protective role of Mediterranean diet polyphenolic antioxidants. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; [Epub ahead of print].
43. Kaul S, Zadeh AA, Shah PK. Homocysteine hypothesis for atherothrombotic cardiovascular disease: not validated. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 914-23.
44. Thomson MJ, Puntmann V, Kaski JC. Atherosclerosis and oxidant stress: the end of the road for antioxidant vitamin treatment? *Cardiovasc Drugs Ther* 2007; 21: 195-210.
45. Lippi G, Franchini M, Guidi GC. Diagnostic approach to inherited bleeding disorders. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 2-12.
46. Lippi G, Montagnana M, Salvagno GL, Cicorella N, Degan M, Minuz P, et al. Risk stratification of patients with acute myocardial infarction by quantification of circulating monocyte-platelet aggregates. *Int J Cardiol* 2007; 115: 101-2.
47. Herrick S, Blanc-Brude O, Gray A, Laurent G. Fibrinogen. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 741-6.
48. Wilkes HC, Kellher C, Meade TW. Smoking and plasma fibrinogen. *Lancet* 1988; 1: 307-8.

49. Lambert MP, Sachais BS, Kowalska MA. Chemokines and thrombogenicity. *Thromb Haemost* 2007; 97: 722-9.
50. Liehn EA, Zerneck A, Postea O, Weber C. Chemokines: inflammatory mediators of atherosclerosis. *Arch Physiol Biochem* 2006; 112: 229-38.
51. Damás JK, Smith C, Øie E, Fevang B, Halvorsen B, Waehre T, et al. Enhanced expression of the homeostatic chemokines CCL19 and CCL21 in clinical and experimental atherosclerosis: possible pathogenic role in plaque destabilization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 614-20.
52. Weber C. Platelets and chemokines in atherosclerosis: partners in crime. *Circ Res* 2005; 96: 612-6.
53. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135-43.
54. Ross R. Atherosclerosis. An inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
55. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347: 1557-65.
56. Paffen E, DeMaat MP. C-reactive protein in atherosclerosis: A causal factor? *Cardiovasc Res* 2006; 71: 30-9.
57. Engström G, Hedblad B, Janzon L, Lindgärde F. Complement C3 and C4 in plasma and incidence of myocardial infarction and stroke: a population-based cohort study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; 14: 392-7.
58. Mott JD, Werb Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Curr Opin Cell Biol* 2004; 16: 558-64.
59. Nanni S, Melandri G, Hanemaaijer R, Cervi V, Tomasi L, Altimari A, et al. Matrix metalloproteinases in premature coronary atherosclerosis: influence of inhibitors, inflammation, and genetic polymorphisms. *Transl Res* 2007; 149: 137-44.
60. Johnson JL. Matrix metalloproteinases: influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2007; 5: 265-82.
61. Morgan TM, Krumholz HM, Lifton RP, Spertus JA. Nonvalidation of reported genetic risk factors for acute coronary syndrome in a large-scale replication study. *JAMA* 2007; 297: 1551-61.
62. Antoniadis C, Tousoulis D, Stefanadis C. Effects of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms on oxidative stress, inflammatory status, and coronary atherosclerosis: an example of a transient phenotype. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 1226.
63. Fortunato G, Di Taranto MD. Polymorphisms and the expression of genes encoding enzymes involved in cardiovascular diseases. *Clin Chim Acta* 2007; 381: 21-5.
64. Rosenzweig A. Scanning the genome for coronary risk. *N Engl J Med* 2007; 357: 497-499.

Indirizzo per la corrispondenza:
Dott. Martina Montagnana
Ospedale Policlinico G.B. Rossi
Dipartimento di Scienze Morfologico-Biomediche
Sezione di Chimica e Microscopia Clinica
Università degli Studi di Verona
Piazzale L.A. Scuro, 10
37134 Verona
E-mail: martina.montagnana@med.lu.se