

Identificazione dei diabetici di tipo 2 ad elevato rischio coronarico: ruolo del cut-off del polimorfismo di apo(a)

Recentemente è stato ipotizzato che nel polimorfismo di apo(a) è presente un cut-off tra le isoforme 640 e 655 KDa in grado di separare le isoforme associate a maggiore rischio cardiovascolare. Non esistono studi specifici nei diabetici. Scopo del presente lavoro è identificare quale cut-off discrimini le isoforme a maggior rischio cardiovascolare in una popolazione di diabetici di tipo 2. Sono stati studiati 50 diabetici con malattia coronarica (CAD) e 50 diabetici senza CAD. L'analisi multivariata ha evidenziato che il polimorfismo di apo(a) presentava il maggiore valore predittivo per CAD quando era utilizzato il cut-off tra le isoforme 610 e 625 KDa. Il presente studio mostra che nei pazienti diabetici di tipo 2, il cut-off in grado di discriminare meglio le isoforme di apo(a) associate a maggiore rischio cardiovascolare è quello compreso tra 610 e 625 KDa. Studi prospettici su un maggior numero di pazienti sono auspicabili.

Identifying type 2 diabetics with high coronary risk: role of the apo(a) polymorphism cut-off

Summary

It has recently been suggested that there may be a cut-off in apo(a) polymorphism between the 640 and 655 KDa isoforms which is able to separate the isoforms most associated with high cardiovascular risk. There are no specific studies involving diabetics. The aim of this study is to identify the cut-off which differentiates high cardiovascular risk isoforms in type 2 diabetics. Fifty diabetics with CAD (coronary artery disease) and 50 diabetics without CAD were evaluated. Multivariate analysis showed that apo(a) polymorphism was most able to predict CAD when the cut-off between 610 and 625 KDa was used. This study shows that the cut-off between 610 and 625 KDa appears to be the most effective in identifying the apo(a) isoforms associated with high cardiovascular risk in type 2 diabetic patients. Further prospective studies on larger numbers of patients are desirable.

Gazzaruso C, Garzaniti A, De Amici E, et al. Identifying type 2 diabetics with high coronary risk: role of the apo(a) polymorphism cut-off. *Trends Med* 2003; 3(1):67-72.

© 2003 Pharma Project Group srl

**Carmine Gazzaruso, Adriana Garzaniti*,
Emanuela De Amici, Pietro Ferrari, Stefano
Giordanetti, Pietro Fratino**

U.O. Medicina Interna, Ambulatorio di Diabetologia e
Malattie Metaboliche, IRCCS Fondazione Maugeri Istituto
Scientifico di Pavia e *Centro Antidiabetico, Azienda
Ospedaliera della Provincia di Pavia.

Key-words:

**lipoprotein(a)
apolipoprotein(a)
polymorphism
diabetes
coronary disease
cardiovascular risk**

Ricevuto il 30-05-2002

Accettato con modifiche il 30-08-2002

✉ **Carmine Gazzaruso**

U.O. Medicina Interna - IRCCS Fondazione Maugeri
Via Ferrata, 8 - 27100 Pavia
tel: 0382.592695 - Fax: 0382.592081
e-mail: cgazzaruso@fsm.it

Introduzione

La Lipoproteina a) -Lp(a)- è un riconosciuto fattore di rischio cardiovascolare¹. La sua specifica apolipoproteina, detta apo(a), è caratterizzata da un elevato grado di polimorfismo genetico². Recenti studi hanno dimostrato che tale polimorfismo potrebbe svolgere un ruolo rilevante e indipendente nel determinismo delle patologie aterosclerotiche³⁻⁷. In aggiunta, ci sono evidenze che le isoforme di apo(a) possono avere un potere predittivo nei confronti della patologia aterosclerotica anche superiore a quello espresso dalle stesse concentrazioni plasmatiche della Lp(a)³⁻⁷.

E' stato anche ipotizzato che nel polimorfismo di apo(a) potrebbe essere presente un cut-off in grado di separare in maniera netta le isoforme associate a maggiore rischio cardiovascolare⁷.

Recentemente tuttavia è stato segnalato che il polimorfismo di apo(a) sarebbe dotato di un po-

tere predittivo nei riguardi della malattia coronarica (CAD) minore nei soggetti diabetici rispetto ai non diabetici⁸. Tale differente potere predittivo potrebbe in teoria essere ascritto al fatto che nella popolazione diabetica il cut-off del polimorfismo di apo(a) in grado di discriminare le isoforme dotate di maggiore rischio cardiovascolare è differente rispetto a quello individuato nella popolazione generale.

Scopo del presente lavoro è di verificare se il cut off che nella popolazione non diabetica discrimina le isoforme a maggiore potere aterotrombotico è in grado di svolgere la medesima azione in una popolazione di diabetici di tipo 2.

Materiali e metodi

Pazienti

Sono stati valutati consecutivamente 50 pazienti diabetici di tipo 2 affetti da CAD. La CAD è stata definita con almeno uno dei seguenti criteri: a) documentato infarto acuto del miocardio (diagnosticato mediante elevazione degli enzimi cardiaci e/o variazioni diagnostiche all'ECG); b) documentata storia di angioplastica o by pass aorto-coronarico; c) storia di angina pectoris con un test da sforzo positivo. In tutti i pazienti del gruppo con CAD (gruppo CAD), una coronarografia ha documentato stenosi coronarica di almeno il 50% di un vaso coronarico maggiore.

La diagnosi di diabete è stata posta secondo i criteri dell'American Diabetes Association⁹.

Come gruppo di controllo senza CAD (gruppo NON CAD) sono stati reclutati 50 pazienti diabetici di tipo 2, comparabili per età, sesso e durata di malattia al gruppo CAD. In tale gruppo la presenza di ischemia miocardica è stata esclusa mediante ECG da sforzo.

Metodi

Il prelievo di sangue venoso è stato ottenuto da tutti i partecipanti allo studio dopo un digiuno di 12 ore. Le metodiche per la determinazione di colesterolo, trigliceridi, HDL, LDL, HbA1c, Lp(a), isoforme di apo(a), microalbuminuria sono state riportate precedentemente⁸.

Analisi statistica

Per valutare la presenza di eventuali differenze tra i due gruppi nelle variabili distribuite gaussianamente è stato utilizzato il T-test di Student. Per le variabili non-gaussiane è stato utilizzato il test di Mann-Whitney. Il test del χ quadro (χ^2) con la correzione di Yates è stato usato per verificare la presenza di differenze significative nel confronto tra frequenze. Per verificare le variabili indipendentemente associate alla presenza di CAD è stata utilizzata un'analisi di regressione multipla. Prima dell'analisi, le variabili non gaussiane sono state trasformate in logaritmi. Mediante un'analisi della covarianza tutti i dati riguardanti i lipidi sono stati corretti per sesso, BMI, fumo, microalbuminuria, farmaci assunti. valori di $p < 0,05$ sono stati considerati statisticamente significativi.

Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti diabetici valutati con e senza malattia coronarica.

	CAD (n=50)	NON CAD (n=50)	p
Sesso (M/F)	40/10	40/10	NS
Età (anni)	59,6±6,1	59,4±7,4	NS
Familiarità per CAD (%)	40,0	32,0	NS
BMI	26,5±3,3	26,6±3,9	NS
Fumatori (%)	70,0	32,0	0,0001
Ipertesi (%)	50,0	56,0	NS
Durata del diabete (anni)	7,8±5,2	7,9±6,0	NS
Microalbuminuria (%)	60,0	10,0	0,0000
Colesterolo (mg/dL)	226,6±40,8	217,5±42,0	0,0324
LDL (mg/dL)	145,7±37,4	140,9±43,1	0,0198
HDL	43,5±9,6	46,1±8,9	0,0120
Trigliceridi (mg/dL)	177,2±88,7	157,8±98,7	0,0016
HbA1c (%)	7,2±1,6	7,3±1,8	NS
Lp(a) (mg/dL)	21,1±17,7	15,9±18,6	0,0156

Risultati

La tabella 1 mostra le caratteristiche epidemiologiche e cliniche dei pazienti reclutati. Tutti i comuni fattori di rischio coronarico sono significativamente superiori nel gruppo di diabetici con CAD. Il gruppo di diabetici con CAD presenta livelli di Lp(a) significativamente più elevati rispetto al gruppo senza CAD. Non si hanno differen-

ze significative nel compenso glico-metabolico. Tra i pazienti con CAD, 25 (50%) erano in trattamento con ipoglicemizzanti orali, 12 (24%) con insulina, 3 (6%) con l'associazione ipoglicemizzanti orali-insulina e 10 (20%) con la sola dieta; tra i pazienti senza CAD, 29 (58%) erano in trattamento con ipoglicemizzanti orali, 11 (22%) con insulina, 6 (12%) con l'associazione ipoglicemizzanti orali-insulina e 4 (8%) con la sola dieta.

Tabella 2. Numero e relative percentuali di pazienti che presentano i fenotipi di apo(a) a basso PM (presenza di almeno una isoforma a basso PM) ed i fenotipi ad alto PM (solo isoforme ad alto PM) fra i diabetici con o senza malattia coronarica, utilizzando diversi cut-off del polimorfismo di apo(a).

Cut-off	Fenotipi di apo(a)	CAD (n=50)	Non CAD (n=50)	χ^2 corretto secondo Yates	p
595/610	A basso PM	15 (30,0%)	3 (6,0%)	8,20	0,0042
	Ad alto PM	35 (70,0%)	47 (94,0%)		
610/625	A basso PM	19 (38,0%)	4 (8,0%)	11,07	0,0009
	Ad alto PM	31 (62,0%)	46 (92,0%)		
625/640	A basso PM	23 (46,0%)	7 (14,0%)	10,71	0,0011
	Ad alto PM	27 (54,0%)	43 (86,0%)		
640/655	A basso PM	27 (54,0%)	10 (20,0%)	10,98	0,0009
	Ad alto PM	23 (46,0%)	40 (80,0%)		
655/670	A basso PM	31 (62,0%)	17 (34,0%)	6,67	0,0093
	Ad alto PM	19 (38,0%)	33 (66,0%)		
670/685	A basso PM	37 (74,0%)	26 (52,0%)	4,29	0,0383
	Ad alto PM	13 (26,0%)	24 (48,0%)		
685/700	A basso PM	37 (74,0%)	29 (58,0%)	2,18	NS
	Ad alto PM	13 (26,0%)	21 (42,0%)		

In precedenti studi le isoforme di apo(a) sono state suddivise in due sottogruppi^{4,6-8}: isoforme a basso peso molecolare (PM), quando l'apparente PM era ≤ 640 KDa; isoforme ad alto PM, quando l'apparente PM era ≥ 655 KDa^{4,6-8}. Pertanto un fenotipo di apo(a) veniva considerato a basso PM in presenza di almeno una isoforma a basso PM.

Al fine di identificare nei diabetici il cut-off del polimorfismo di apo(a) che meglio discrimina i fenotipi a basso PM associati ad elevato rischio coronarico, abbiamo comparato le frequenze dei fenotipi a basso e ad alto PM, utilizzando diversi cut-off.

La tabella 2 mostra le prevalenze dei fenotipi a basso PM in diabetici con o senza CAD, utilizzando i differenti cut-off del polimorfismo di apo(a). Come si può notare dalla Tabella il cut-off tra le isoforme 610 e 625 KDa mostra il più elevato valore di c^2 .

Analisi multivariata

La tabella 3 mostra i predittori indipendenti di CAD nei nostri diabetici di tipo 2, identificati utilizzando una regressione multipla. In tale analisi il polimorfismo di apo(a) entra nel modello di regressione al terzo step, quando viene utilizzato il cut-off convenzionale tra le isoforme 640 e 655 kDa. La tabella 4 mostra lo step di eventuale entrata nel modello di regressione, il valore F e la significatività statistica del polimorfismo di apo(a), eseguendo delle analisi di regressione multipla con differenti cut-off del polimorfismo di apo(a). Come mostrato, il polimorfismo di apo(a) mostra il maggiore valore predittivo per CAD quando viene utilizzato un cut-off tra le isoforme 610 e 625 KDa.

Discussione

La Lp(a) e il polimorfismo di apo(a) appaiono essere fattori di rischio cardiovascolare indipendenti¹⁻⁷. Nel diabetico la CAD è più frequente e

Tabella 4. Step di entrata, valore di F e significatività statistica dei fenotipi di apo(a) in ogni analisi di regressione multipla eseguita utilizzando differenti cut-off del polimorfismo di apo(a).

Cut-off	Step	Valore di F	p
595/610	3	4,3	0,038729
610/625	3	9,3	0,002896
625/640	3	6,5	0,012223
640/655	3	6,7	0,011199
655/670	3	4,2	0,042018
670/685	Non entra		NS
685/700	Non entra		NS

precoce che nella popolazione generale. Alcuni studi hanno valutato se Lp(a) e polimorfismo di apo(a) potessero in qualche modo giocare un ruolo indipendente nel determinismo della CAD nei diabetici¹⁰. Gli studi sull'eventuale associazione tra concentrazioni plasmatiche di Lp(a) e presenza di CAD hanno fornito dati contrastanti¹⁰.

Il ruolo predittivo delle isoforme è stato valutato solo in tre studi^{8,11,12}. Tutti e tre hanno mostrato una debole associazione tra fenotipi di apo(a) e presenza di CAD nei diabetici di tipo 2^{8,11,12}. Le ragioni di tale debole associazione non sono ancora note. Peraltro uno dei tre studi ha documentato che nei diabetici il ruolo predittivo del polimorfismo di apo(a) è ridotto rispetto ai non diabetici⁸. Una spiegazione di tale dato potrebbe scaturire da un recente studio: infatti Rainwater ha dimostrato che soggetti non diabetici presentano isoforme di apo(a) di PM differente rispetto ai loro parenti diabetici di primo grado¹³. Sulla base di questo dato, Rainwater ha ipotizzato che le isoforme di apo(a) nei soggetti diabetici possano essere di PM superiore perché maggiormente glicate¹³. Se tale ipotesi è vera, è verosimile che il cut-off del polimorfismo di apo(a) in grado di discriminare i fenotipi associati a un maggior ri-

Tabella 3. Risultati delle analisi di regressione multipla: predittori indipendenti di malattia coronarica nella popolazione diabetica.

Predittori	step	Valore di F	P
Microalbuminuria	1	35,2	0,000000
Fumo	2	10,7	0,001352
Polimorfismo di apo(a)	3	6,7	0,011199

schio cardiovascolare nella popolazione generale non sia altrettanto efficiente nella popolazione diabetica. Il presente studio sembra avvalorare tale ipotesi. Infatti nella nostra popolazione diabetica di tipo 2 il cut-off più adatto ad identificare i soggetti a rischio di coronaropatia non è quello tra 640 e 655 KDa, ma quello tra 610 e 625 KDa. A parte la glicazione dell'apo(a) anche un'altra spiegazione potrebbe essere alla base del differente cut-off tra diabetici e non diabetici. Essa potrebbe risiedere nel fatto che lo stesso diabete, o i fattori di rischio associati al diabete, potrebbero incrementare il rischio aterotrombotico anche in soggetti a rischio genetico relativamente basso. Pertanto nell'analisi statistica, il ruolo aterotrombotico svolto dalle isoforme di apo(a) viene in qualche modo mitigato e riesce ad emergere solo nei soggetti con isoforme di PM particolarmente ridotto. Se tale ipotesi fosse vera, si avrebbero delle ripercussioni nella valutazione del rischio legato al gene di apo(a) anche nella popolazione non diabetica. Infatti tra le isoforme a basso PM (≤ 640 Kda), cioè tra quelle che esprimono un alto rischio cardiovascolare, quelle a più basso PM potrebbero esprimere un rischio particolarmente elevato. Ciò suggerisce che probabilmente, nell'ambito del polimorfismo di apo(a), potrebbero esistere più cut-off "operativi", cioè in grado di suddividere il rischio aterotrombotico legato al gene apo(a) in tre categorie: elevato, medio, basso.

Bibliografia

1. Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 2000; 102:1082-1085.
2. Gazzaruso C, Garzaniti A, Geroldi D, *et al*. Genetics and cardiovascular risk: a role for apolipoprotein(a) polymorphism. *Cardiologia* 1999; 44:347-354.
3. Kraft HG, Lingenhel A, Kochl S, *et al*. Apolipoprotein(a) Kringle IV repeat number predicts risk for coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:713-719.
4. Gazzaruso C, Buscaglia P, Garzaniti A, *et al*. Association of lipoprotein(a) levels and apolipoprotein(a) phenotypes with coronary heart disease in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 1997; 15:227-235.
5. Kronenberg F, Neyer U, Lhotta K, *et al*. The low molecular weight apo(a) phenotype is an independent risk factor for coronary artery disease in hemodialysis patients: a prospective follow-up. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:1027-1036.

I dati del nostro studio necessitano di ulteriori conferme con casistiche più ampie. Sarebbe inoltre utile utilizzare, come gruppo di controllo, soggetti in cui la CAD sia stata esclusa mediante una coronarografia eseguita per dolore toracico. Infatti, l'inclusione all'interno del gruppo NON CAD di soggetti con CAD asintomatica non identificabile con test ergometrico, potrebbe avere riflessi sulla esatta collocazione del cut-off.

Il nostro studio conferma due importanti dati della letteratura. Il primo riguarda il fatto che il polimorfismo di apo(a) è dotato di maggiore potere predittivo per CAD rispetto alle concentrazioni plasmatiche di Lp(a), purchè le isoforme vengano identificate con un metodo ad alta risoluzione. Il secondo dato è che, indipendentemente dal cut-off utilizzato, altri fattori di rischio cardiovascolare sembrano avere nel diabetico un potere predittivo maggiore rispetto al polimorfismo di apo(a). In particolare nel presente studio emerge il ruolo della microalbuminuria e dell'abitudine al fumo di sigaretta.

Conclusione

Il presente studio preliminare mostra che nei pazienti diabetici il cut-off in grado di meglio discriminare le isoforme di apo(a) dotate di maggior potere aterotrombotico è quello compreso tra 610 e 625 KDa. Ulteriori studi sono comunque necessari per confermare tale dato. **TiM**

6. Gazzaruso C, Garzaniti A, Buscaglia P, *et al*. Association between apolipoprotein(a) phenotypes and coronary heart disease at a young age. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33:157-163.
7. Gazzaruso C, Garzaniti A, Buscaglia P, *et al*. Apolipoprotein(a) phenotypes and their predictive value for coronary heart disease: identification of an operative cut-off of apolipoprotein(a) polymorphism. *J Cardiovasc Risk* 1998; 5:37-42.
8. Gazzaruso C, Garzaniti A, Falcone C, *et al*. Association of Lipoprotein(a) levels and apolipoprotein(a) phenotypes with coronary artery disease in type 2 diabetic patients and in non diabetic subjects. *Diabet Med* 2001; 18:589-594.
9. The Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20:1183-1197.
10. Howard BV. Lipoprotein(a) in diabetes. The dilemma continues. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 1998; 8:73-76.
11. Ruiz J, Thillet J, Huby T, *et al*. Association of elevated

lipoprotein(a) levels and coronary heart disease in NID-DM patients. Relationship with apolipoprotein(a) phenotypes. *Diabetologia* 1994; 37:585-591.

12. Murakami K, Ishibashi S, Yoshida Y, *et al.* Lipoprotein(a) as a coronary risk factor in Japanese patients with type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. Relation with

apolipoprotein(a) phenotypes. *Diabetologia* 1998; 41:1397-1399 (letter).

13. Rainwater DL, Haffner SM. Insulin and 2-hour glucose levels are inversely related to Lp(a) concentrations controlled for LPA genotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:1335-1341.

