

Linee Guida per la Diagnostica di Laboratorio delle Dislipidemie

Elaborate dalla Commissione Congiunta AIPAC, SIBioC, SIMEL, CISMEL, ASFA e Gruppo di Studio delle Malattie Dismetaboliche e della Aterosclerosi costituita da:

A.L. Catapano, A. Gaddi, M.S. Graziani, U. Lippi, E. Manzato, G. Sprovieri

Revisione Gennaio 1998 a cura di A.L. Catapano, M.S. Graziani, E. Manzato

Nel 1995 è stato pubblicato (Biochim Clin 1995;19:198-205) un documento di consenso in tema di diagnostica di laboratorio delle dislipidemie. Il comitato di coordinamento creato ad hoc raggruppava le tre Società Italiane di Laboratorio, il Gruppo di studio per le malattie dismetaboliche e l'aterosclerosi come pure alcuni Clinici e Ricercatori italiani tra i più accreditati in questo campo.

Il consenso riguardava il profilo lipidico basale da utilizzare per l'accertamento di eventuali dislipidemie, la necessità di una standardizzazione nella determinazione dei parametri lipidici e i valori di riferimento da riportare sul referto.

Il trascorrere del tempo ed il progredire delle conoscenze ha reso necessarie alcune integrazioni e modifiche al documento in particolare per quanto riguarda la disponibilità di nuovi metodi (la determinazione del colesterolo HDL con metodi "diretti") e i valori decisionali per le apolipoproteine.

Il gruppo di studio SIBioC "Lipidi e Lipoproteine" presenta ora la versione aggiornata del documento e rimane a disposizione dei Soci per ogni eventuale chiarimento.

*Maria Stella Graziani
Gruppo di Studio Lipidi e Lipoproteine*

INTRODUZIONE

Le maggiori associazioni nazionali del settore, tra cui la Società Italiana Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica (SIBioC), la Associazione Italiana Patologi Clinici (AIPAC), la Società Italiana Medicina di Laboratorio (SIMEL-CISMEL), il Gruppo di Studio delle Malattie Dismetaboliche e della Aterosclerosi e l'associazione per lo studio dei farmaci antitrombotici (ASFA) hanno formato un Comitato Tecnico di esperti, con il compito di:

- indicare gli accertamenti più idonei e con il miglior rapporto potere diagnostico/costo da effettuare nella diagnostica laboratoristica;
- indicare quali metodi di laboratorio utilizzare al fine di ottenere risultati più attendibili;
- indicare i valori "desiderabili" delle analisi selezionate da riportare sulla refertazione.

All'attendibilità di un risultato di laboratorio concorrono:

- a) fattori dipendenti dal metodo (specificità, accuratezza, sensibilità);
- b) fattori dipendenti dall'affidabilità del laboratorio (capacità dell'operatore, efficienza delle apparecchiature);
- c) la variabilità preanalitica, influenzata dallo stato basale del paziente, dalla modalità del prelievo e dalla conservazione del campione.

1.0 COLESTEROLO TOTALE

1.1 Valutazione del rischio: un'ampia serie di dati sperimentali, clinici ed epidemiologici, documenta la stretta correlazione dei livelli di colesterolo nel plasma e la prevalenza, la gravità e la progressione della patologia aterosclerotica (1,2). La determinazione dei livelli plasmatici di colesterolo ha inoltre un significato predittivo nella valutazione del rischio di infarto miocardico e delle vasculopatie cerebrali e periferiche.

Importanti studi di intervento hanno poi dimostrato che la diminuzione del colesterolo totale (e LDL) riduce fortemente il rischio di ammalare (3,4).

1.2 Variabilità preanalitica: il colesterolo totale presenta una variabilità intraindividuale compresa tra 6 e 7% (5). Per una valutazione più corretta si consiglia quindi di eseguire la determinazione in almeno due diverse occasioni e di standardizzare accuratamente la fase preanalitica.

Le raccomandazioni del Gruppo di Studio per le Malattie Dismetaboliche e l'Aterosclerosi, nell'ambito della diagnostica delle ipercolesterolemie e delle iperlipemie familiari, prevedono il prelievo dopo che il soggetto ha rigorosamente attuato specifiche misure igienico-dietetiche (dieta a basso contenuto lipidico in particolare grassi saturi e colesterolo) per almeno tre mesi e dopo avere escluso le forme secondarie.

Il paziente deve inoltre sospendere, circa venti giorni prima del prelievo (ovviamente qualora sia possibile) farmaci che possano modificare la determinazione sia interferendo analiticamente sia alterando il metabolismo lipidico (diuretici, beta-bloccanti, estroprogestinici, anabolizzanti steroidei). La misura del colesterolo inoltre non deve essere eseguita in gravidanza o in caso di patologia flogistica non completamente superata o prima che siano trascorsi tre mesi da un infarto miocardico (6). La flogosi indotta dall'evento acuto infatti provoca una diminuzione del colesterolo totale (e LDL) che è proporzionale alla concentrazione basale di colesterolo. Particolare cautela deve quindi essere impiegata nella valutazione dei valori di colesterolo ottenuti a breve distanza da un infarto miocardico (6).

Il prelievo deve essere effettuato in posizione seduta poichè l'ortostatismo induce un aumento della concentrazione ematica del colesterolo totale di circa il 10% (7). La stasi venosa deve essere mantenuta solo per il tempo strettamente necessario ed il laccio tolto non appena il sangue comincia a defluire (7). Il campione può essere siero o plasma; in quest'ultimo caso l'anticoagulante di elezione è l'EDTA che causa, rispetto agli altri anticoagulanti, un minor spostamento di acqua dagli eritrociti al plasma. Le differenze riscontrate tra siero e plasma sono infatti imputabili a variazioni della pressione osmotica indotte dall'anticoagulante con conseguente fuoriuscita di liquido dalle cellule (8). Le variazioni della concentrazione del colesterolo sono state stimate (per la quantità di EDTA contenuta nelle provette disponibili commercialmente) di poco inferiori al 5%. La convertibilità del campione venoso con il campione capillare, spesso utilizzato nelle metodiche in chimica secca in luoghi non istituzionali (scuole, caserme, luoghi di lavoro), non risulta a tutt'oggi del tutto dimostrata. Alcuni studi hanno evidenziato differenze in media piccole, ma in dipendenza da alcuni fattori poco controllabili (temperatura corporea e ambientale, facilità ad ottenere adeguate quantità di campione) esse possono essere di tale entità da inficiare la corretta classificazione del paziente (9).

1.3 Metodi di misura: il metodo comunemente adottato oggi nei laboratori è il metodo enzimatico (CHOD/POD/Trinder) (7). Il National Cholesterol Education Program (NCEP) statunitense raccomanda che i valori ottenuti dai singoli laboratori non si discostino dal valore del metodo di riferimento per più del 3%, e che i metodi di misura abbiano imprecisione (come CV) inferiore al 3%. L'errore totale (CV+1.96xscostamento sistemico %) deve essere < 8.9% (10). Il laboratorio deve quindi sorvegliare la qualità analitica del dato sia in termini di precisione che di accuratezza.

L'impiego di strumenti portatili che utilizzano metodiche in chimica secca per la determinazione dei lipidi plasmatici è di uso frequente in luoghi non istituzionali come menzionato a proposito del campione capillare. È da tenere presente che, pur potendo fornire adeguate prestazioni analitiche quando utilizzati da personale tecnico specializzato, questi strumenti sono soggetti a derive analitiche anche importanti in quanto spesso gestiti da personale con scarsa cultura laboratoristica. Sono quindi indicati per indagini

di screening o per scopi di monitoraggio terapeutico, mentre il loro impiego per scopi diagnostici non è consigliabile (11).

1.4 Valori desiderabili: il valore "desiderabile" della concentrazione di colesterolo, inteso come quello oltre al quale può essere previsto un intervento terapeutico dietetico o, per valori più elevati, anche farmacologico (valore decisionale), è stato stabilito per l'adulto < 200 mg/dL (5.18 mmol/L), e per i soggetti con meno di 20 anni < 180 mg/dL (4.66 mmol/L).

2.0 TRIGLICERIDI

2.1 Valutazione del rischio: i diversi studi tesi a verificare l'esistenza di una associazione tra livelli plasmatici di trigliceridi (TG) e sviluppo di malattia coronarica (CHD), siano essi prospettici o studi caso-controllo, hanno fornito risultati tra di loro in parte discordanti (12). Sebbene i livelli di trigliceridi siano associati positivamente con l'incidenza di CHD, non sempre risultano predittivi per i nuovi eventi cardiovascolari qualora si prendano in considerazione altri fattori di rischio maggiori, come l'ipertensione, il fumo, l'ipercolesterolemia, i bassi valori di colesterolo HDL etc..

D'altra parte studi su soggetti con cardiopatia ischemica hanno evidenziato livelli di TG più elevati rispetto ai controlli. Nel Framingham Study i TG sembrano costituire un fattore di rischio indipendente di CHD in soggetti con bassi livelli di colesterolo HDL (13, 14).

Resta comunque il ruolo chiave della determinazione dei TG nella diagnosi delle iperlipemie familiari e nella diagnosi e nel monitoraggio della iperlipoproteinemia familiare combinata.

2.2 Variabilità preanalitica: i trigliceridi presentano una variabilità biologica intraindividuale molto elevata, maggiore di quella che è stata riscontrata per gli altri costituenti lipidici del plasma (5). Il ruolo giocato dalle variabili preanalitiche ed il controllo delle loro diverse cause assumono quindi un'importanza fondamentale nella standardizzazione dei procedimenti di misura dei TG per il controllo della variabilità preanalitica valgono le stesse considerazioni del colesterolo totale. Raccomandazioni particolari riguardano l'astensione dal fumo e dall'esercizio fisico, nelle ore immediatamente precedenti il prelievo, in quanto questi fattori sono in grado di modificare significativamente e in breve tempo i livelli dei TG. L'assunzione di alcool può aumentare i livelli di TG: per questo motivo, quando si intende verificare la presenza di una ipertrigliceridemia primitiva, l'alcool andrebbe sospeso nei giorni precedenti il prelievo (15).

L'ora del prelievo riveste una particolare importanza in quanto la concentrazione dei TG varia in maniera considerevole durante il giorno anche indipendentemente dall'assunzione di cibo. Il prelievo dovrebbe pertanto essere effettuato nelle prime ore del mattino e dopo digiuno di 12 ore avendo peraltro mantenuto nei giorni precedenti il prelievo il regime dietetico abituale (16).

Riguardo ai farmaci, quelli che possono modificare significativamente la concentrazione dei trigliceridi sono i diuretici, i beta bloccanti, e gli estrogeni (che provocano un aumento) e l'eparina e gli eparinoidi che potrebbero invece determinarne una diminuzione.

2.3 Metodi di misura: i metodi comunemente usati, sono i metodi enzimatici che misurano il glicerolo liberatosi per idrolisi dei trigliceridi (*vedi nota a piè pagina). La variabilità analitica dei trigliceridi è senz'altro più elevata di quella del colesterolo totale; comunque considerata l'elevata variabilità biologica dei TG, il contributo della variabilità

* Nota concordata tra gli Autori e la Redazione

È utile rilevare che tali metodi misurano anche il glicerolo libero proveniente dall'idrolisi dei trigliceridi circolanti o di deposito ad opera di diverse lipasi. La sua concentrazione è normalmente trascurabile e tale da non inficiare l'utilizzo clinico di una misura dei trigliceridi; ma può essere elevata in alcuni pazienti ospedalizzati con patologie gravi e multioragano. In queste situazioni potrebbe essere vantaggioso disporre della misura della trigliceridemia vera con sottrazione del glicerolo libero.

analitica alla variabilità totale è minimo. Le prestazioni analitiche previste dal NCEP sono: imprecisione < 5%, bias <5% ed errore totale < 15% (10).

2.4 Valori desiderabili: i valori "desiderabili" ottenuti con il metodo enzimatico, da riportare sulla modulistica, sono stati stabiliti inferiori a 200 mg/dL (2.25 mmol/L). Valori superiori a 250 mg/dL (2.86 mmol/L) possono essere espressivi di iperlipemie familiari.

3.0 COLESTEROLO HDL

3.1 Valutazione del rischio: recentemente diversi studi epidemiologici hanno messo in evidenza l'importanza del colesterolo-HDL quale fattore di rischio negativo (fattore protettivo) per CHD (17).

Nella maggior parte di questi studi epidemiologici è stato dimostrato che bassi valori plasmatici di colesterolo HDL rappresentano un fattore di rischio indipendente per CHD e consentono di aumentare la capacità predittiva degli altri fattori di rischio (18). In alcuni studi, tra cui l'Helsinki Heart Study, è stato evidenziato un incremento del colesterolo HDL in parallelo con un decremento del colesterolo LDL e/o trigliceridi e una correlazione inversa tra variazioni di colesterolo HDL e incidenza di CHD nei gruppi trattati (19).

3.2 Variabilità preanalitica: valgono le stesse considerazioni espresse per il colesterolo totale (paragrafo 1.2)

3.3 Metodi di misura: i metodi comunemente più usati prevedono la precipitazione delle lipoproteine contenenti apo B con destran-solfato, con acido fosfotungstico o con PEG 6000 e la determinazione enzimatica del colesterolo nel sovranatante (20).

È opportuno osservare che la variabilità analitica per il colesterolo HDL non è attualmente soddisfacente e che le diverse fasi analitiche dovrebbero essere accuratamente standardizzate, il che non risulta sempre semplice quando le serie analitiche sono numerose. Sono stati recentemente messi in commercio metodi per la determinazione del colesterolo HDL definiti "diretti" che consentono di misurare l'analita in fase omogenea senza dover ricorrere alla preventiva separazione delle lipoproteine HDL dalle altre (21). Tali metodi devono ancora necessariamente sottostare a sperimentazioni accurate, ma da evidenze preliminari si può dedurre che essi sono sufficientemente accurati. La maggiore semplificazione analitica che tali metodi presentano consentirà con tutta probabilità di raggiungere traguardi di precisione che i metodi in due fasi non consentivano, migliorando così le prestazioni analitiche nella misura di questo parametro.

Le prestazioni analitiche previste dal NCEP sono: imprecisione, CV < 4% (per HDL-C > 42 mg/dL-1.09 mmol/L) e SD < 1.7 (per HDL-C < 42 mg/dL-1.09 mmol/L); bias <5% ed errore totale < 13% (10).

3.4 Valori desiderabili: il valore decisionale è 35 mg/dL (0.9 mmol/L) per i maschi e 40 mg/dL (1.03 mmol/L) per le femmine.

4.0 COLESTEROLO LDL

4.1 Valutazione del rischio: numerosi studi hanno dimostrato che le lipoproteine a bassa densità (low density lipoproteins-LDL) occupano un ruolo fondamentale nel determinismo e nello sviluppo dell'ateroma; se presenti nel sangue in quantità elevata sono in grado di dare avvio alla lesione ateromica e di condizionarne la progressione (3, 4, 22) (cfr paragrafo 1.1).

4.2 Variabilità preanalitica: valgono le stesse considerazioni espresse per il colesterolo totale e HDL (paragrafi 1.2 e 3.2).

4.3 Metodi di misura: la determinazione del colesterolo LDL può essere eseguita determinando la quantità del colesterolo legato alle lipoproteine a bassa densità separate preventivamente con procedure di precipitazione con polianioni, o indirettamente, per

calcolo, utilizzando la formula di Friedewald: $LDL-C = CT - (TG/5 + HDL-C)$ (quando i valori vengono espressi in mg/dL).

Entrambi questi metodi forniscono valori di colesterolo LDL in accordo con valori ottenuti con il metodo di riferimento quando si esaminano sieri normo o solo moderatamente ipertrigliceridemici, mentre danno risultati discordi e più elevati se la determinazione viene eseguita in sieri con livelli di trigliceridi molto alti; tale limitazione è dovuta alla possibile presenza di chilomicroni e remnants delle VLDL nel siero dei soggetti ipertrigliceridemici (2016).

In assenza di una migliore performance analitica, è consigliabile utilizzare la formula di Friedewald, riservando la misura diretta (con metodo immunologico o con ultracentrifuga) a casi selezionati da inviare a Centri specializzati. Anche per il colesterolo LDL stanno per essere messi in commercio metodi "omogenei", tuttavia al momento essi non sono sufficientemente sperimentati per poter fornire indicazioni al loro utilizzo.

Le prestazioni analitiche previste dal NCEP sono: imprecisione < 4%, bias < 4% ed errore totale < 12% (10).

4.4 Valori desiderabili: i valori "desiderabili" da riportare sulla modulistica sono stati stabiliti < 130 mg/dL (3.37 mmol/L); valori superiori a 175 mg/dL (4.53 mmol/L) nell'adulto sono potenzialmente espressivi di malattia genetica del metabolismo lipidico.

5.0 APOPROTEINA A-I E APOPROTEINA B

5.1 Valutazione del rischio: l'apo A-I è una proteina a struttura elicoidale, costituita da una singola catena di 245 aminoacidi, presente in massima parte nelle HDL ove svolge funzioni sia strutturali che metaboliche.

L'apo B, la proteina strutturale dei chilomicroni, delle VLDL e delle LDL, riveste un ruolo importante nella struttura e nel catabolismo delle LDL ed è correlata all'aterogenesi (23). Alcuni studi epidemiologici sembrano confermare una possibile utilità diagnostica del dosaggio delle apo A e delle apo B (24).

Nel 1996 è stato pubblicato un documento (25) sulla utilità clinica della misura delle apolipoproteine A-I e B a cura di un Comitato ad hoc costituito in seno alla Fondazione Italiana per il Cuore. In tale documento si identificano le situazioni nelle quali si ritiene di dover consigliare queste misure:

Apolipoproteina A-I:

- soggetti con bassi livelli di colesterolo HDL, in particolare < 25 mg/dL per gli uomini e < 30 mg/dL per le donne
- soggetti con patologie cardiovascolari precoci e/o familiarità positiva per malattie cardiovascolari

Apolipoproteina B

- soggetti normolipidemici o ipertrigliceridemici con familiarità per patologie coronariche e/o cardiovascolari

5.2 Metodi di misura: la mancanza di una standardizzazione adeguata ha impedito l'utilizzazione clinica dei dosaggi delle apolipoproteine A-I e B. A causa di questi problemi infatti i valori ottenuti erano fortemente metodo-dipendenti. L'Expert Panel on Apolipoproteins della IFCC (Federazione Internazionale delle Società di Chimica Clinica) ha riconosciuto nella calibrazione di questi dosaggi la fonte primaria di variabilità. Una energica azione che ha coinvolto le organizzazioni commerciali del settore, ha consentito di ottenere uno standard comune in grado di armonizzare (entro certi limiti) i risultati ottenuti con metodi e/o kits commerciali diversi (26).

Si raccomanda pertanto ai singoli laboratori di utilizzare kits commerciali che abbiano i valori del calibratore assegnati sulla base della preparazione internazionale riconosciuta.

5.3 Valori desiderabili: utilizzando tali metodi standardizzati sono stati pubblicati (27,28) i valori di riferimento per le due apolipoproteine calcolati su una popolazione ben definita dal punto di vista dei fattori plasmatici di rischio. Sulla base di tali dati i valori di attenzione per apo A-I e B sono da ritenere i seguenti

- apo A-I < 1.20 g/L (120 mg/dL)
- apo B > 1.20 g/L (120 mg/dL)

6.0 LIPOPROTEINA (a) o Lp(a)

6.1 Valutazione del rischio: nello scorso decennio, numerosi studi clinici ed epidemiologici hanno dimostrato che elevate concentrazioni plasmatiche di Lp(a) rappresentano un possibile "fattore di rischio" (da alcuni Autori proposto addirittura come fattore di rischio indipendente) per lo sviluppo della patologia aterosclerotica (29).

La lipoproteina(a) risulta costituita da una molecola lipidica LDL-simile (ricca in colesterolo esterificato) in cui la apo B100 è legata, con uno o più ponti di solfuro alla apo (a).

Mentre l'apo B100 ha un peso molecolare costante (513 kDa), la apo (a) dimostra una notevole variabilità interindividuale dovuta alla presenza nella popolazione di numerose isoforme con peso molecolare variabile da 280 a 800 KDa che differiscono tra loro per struttura e differente grado di glicosilazione (30).

La variabilità del peso molecolare è determinata geneticamente; isoforme ad alto peso molecolare si associano a bassi livelli plasmatici di Lp(a) e viceversa. Circa il 90% della variabilità dei livelli plasmatici si può spiegare con le differenze genetiche del peso molecolare.

Oltre che da una elevata eterogeneità, l'apo(a) è caratterizzata da una struttura ad alto grado di omologia a quella del plasminogeno anche se comunque non svolge le stesse funzioni; si ipotizza pertanto che svolga, attraverso un meccanismo di antagonismo competitivo, un'inibizione della fibrinolisi e una promozione della trombosi (31).

Non sembra giustificato per ora ripetere a breve distanza di tempo questo dosaggio, dato che numerosi studi hanno dimostrato una bassa variabilità intraindividuale e che gli abituali provvedimenti terapeutici (dietetici o farmacologici) sono quasi del tutto inefficaci nel ridurre i livelli plasmatici di Lp(a). Nel documento sulle apolipoproteine sopra citato (25) l'indicazione per la misura di Lp(a) è per i soggetti con ipercolesterolemia familiare e/o elevato rischio di malattie cardiovascolari (familiarità, elevati livelli di colesterolo LDL, bassi livelli di colesterolo HDL) per il provato sinergismo tra elevati livelli di colesterolo LDL e Lp(a) nell'aggravare la lesione vascolare.

6.2 Metodi di misura: i metodi di misura della Lp(a) attualmente disponibili sono tutti di tipo immunometrico e si basano sul legame dell'apo(a) con anticorpi monoclonali o policlonali di diversa origine. Il sistema rivelatore può essere di tipo fisico (agglutinazione al lattice, formazione di una banda di precipitazione, torbidità dell'immunocomplesso), oppure basato sulla radioattività o sulla attività enzimatica legata all'anticorpo.

Attualmente la determinazione della Lp(a) presenta ancora problemi irrisolti legati sia alla omologia strutturale della proteina con il plasminogeno (cross-reattività degli antisieri), sia alla sua elevata eterogeneità strutturale (preparazione degli standard). La mancanza di punti di riferimento precisi rende il problema più complesso soprattutto alla luce del fatto che la concordanza fra metodi diversi si allontana in quegli ambiti di concentrazione (20-30 mg/dL) che sono da più parti considerati significativi per il rischio cardiovascolare (25).

In relazione ai problemi analitici appena esposti e alla incertezza sul significato fisiopatologico della Lp(a) viene suggerito di non impiegare la determinazione della proteina nello screening della popolazione e di valutare con estrema cautela i valori ottenuti.

7.0 FIBRINOGENO

7.1 Valutazione del rischio: recenti studi sembrano indicare il fibrinogeno quale fattore di rischio indipendente per CHD (32-34).

Diversi studi prospettici (Framingham, Goteborg, Leigh, Munster e Northwick Park Heart Study) hanno inoltre dimostrato che un aumento del fibrinogeno ha un significato predittivo per la malattia coronarica ischemica (35). Alti livelli di fibrinogeno sono correlati frequentemente con la prevalenza di infarto miocardico (36). Attualmente la maggiore limitazione all'inserimento del fibrinogeno nel profilo di rischio cardiovascolare sembra attribuibile alla mancanza di omogeneità dei metodi utilizzati per la misura di questo parametro.

7.2 Metodi di dosaggio: numerosi sono i metodi in uso ed in particolare tra i metodi

cinetici, il più affidabile sembra essere il metodo di Clauss basato sulla coagulazione del fibrinogeno con trombina.

7.3 Valori di fibrinogeno: ottenuti con il metodo Clauss, superiori a 300 mg/dL devono essere guardati con prudenza clinica.

CONCLUSIONI

Il Comitato, in rappresentanza di più Società Scientifiche nazionali, sulla base di quanto riportato in letteratura, e considerando in modo realistico: (a) i costi, (b) l'operatività di laboratori non specializzati, e, (c) le necessità della Medicina di Base, è giunto a un consenso unitario sulla possibilità di proporre quale profilo lipidico "ottimale" il dosaggio di: colesterolo totale, trigliceridi, colesterolo HDL, colesterolo LDL (calcolato con la formula di Friedewald).

Dette analisi andrebbero eseguite SEMPRE almeno la prima volta che il paziente viene esaminato. Dette analisi consentono: (a) la stima del rischio cardiovascolare (che comunque deve tenere conto anche dei fattori di rischio non lipidici) e, (b) un primo inquadramento clinico genetico del tipo di malattia metabolica presente. Il dosaggio del fibrinogeno, ove consentito dal rapporto beneficio/costo stabilito dai singoli Enti, potrebbe essere inserito nella valutazione del profilo di rischio di base.

In casi particolari può essere opportuno effettuare anche il dosaggio di apo AI, apo B e Lp(a) considerandole comunque sempre indagini di secondo livello.

Il dosaggio di tutti i parametri sopra elencati richiede il prelievo di un campione di sangue che: a) deve rispecchiare il reale stato del metabolismo lipoproteico del paziente; b) deve essere confrontabile con prelievi eseguiti in tempi diversi.

Per queste ragioni il comitato suggerisce di standardizzare accuratamente sia i metodi di analisi sia tutte le possibili fonti di variabilità preanalitica. Più precisamente sarebbe opportuno:

- eseguire il prelievo al mattino dopo un digiuno di 12 ore e dopo che per circa tre mesi il paziente ha attuato rigorosamente specifiche misure igienico-dietetiche (dieta a basso tenore lipidico).
- sospendere almeno venti giorni prima del prelievo, l'assunzione di farmaci che possono interferire con il metabolismo lipidico;
- effettuare il prelievo preferibilmente a livello ambulatoriale in quanto i livelli dei lipidi plasmatici tendono a modificarsi con la dieta ospedaliera.

Gli esperti sono anche d'accordo sull'opportunità di effettuare il dosaggio in due diverse occasioni con un intervallo di tempo di circa due mesi. Questa norma da un lato consente di ottenere informazioni sulla variabilità biologica del parametro considerato, dall'altro potrebbe essere di particolare utilità nell'identificare quelle forme nelle quali il fenotipo lipidico può modificarsi con il tempo (come la iperlipidemia familiare combinata)

Il Comitato di esperti rimane a disposizione, attraverso le Società di afferenza, per qualsiasi ulteriore chiarimento. In particolare per la verifica dell'accuratezza dei risultati è possibile rivolgersi ad uno dei laboratori certificati dal NCEP (Ospedale S. Raffaele di Milano) e, per consulenza clinico-lipidologica, ai Centri afferenti al Gruppo di Studio delle Malattie Dismetaboliche e dell'Aterosclerosi.

BIBLIOGRAFIA

1. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: an update. *N Engl J Med* 1986; 314: 488-500.
2. Lipid Research Clinics Program. The lipid research clinics coronary primary prevention trial results: II. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA* 1984; 251: 365-74.
3. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;334:1383-9
4. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. *N Engl J Med* 1996;335:1001-9

5. Smith SJ, Cooper GR, Myers GL, Sampson EJ. Biological variability in concentrations of serum lipids: sources of variation among results from published studies and composite predicted values. *Clin Chem* 1993; 39: 1012-22.
6. Rosenson RS. Myocardial injury: The acute phase response and lipoprotein metabolism. *JACC* 1993; 22:933-40.
7. Graziani MS, Franzini C. Colesterolo. *Giorn It Chim Clin*. 1990; 15: 87-93.
8. Bachorick PS, Albers JJ, Ellefson RD, Kane JP, Wood PD, Cooper GR. Collection of blood samples for lipoprotein analysis. *Clin Chem* 1982; 28: 1375-8.
9. Kafonek SD, Donovan L, Lovejoy KL, Bachorick PS. Biological variation of lipids and lipoproteins in fingerstick blood. *Clin Chem* 1996;42:2002-7
10. Myers GL, Cooper GR, Henderson OL, Hassemer DJ and Kimberly MM. Standardisation of lipid and lipoprotein measurements in Rifai N, Warnick RG, Dominiczak MH eds *Handbook of lipoprotein testing* AACC press Washington DC 1997; 223-50
11. Belsey R, Vandenbark M, Goiten RK, Baer DM. Evaluation of a laboratory system intended for use in physicians' offices. II Reliability of results produced by health care workers without formal or professional laboratory training. *JAMA* 1987;258:357-63
12. Wilson PF, Andersen KM, Castelli WP. The impact of triglycerides on coronary heart disease: The Framingham Study. *Atherosclerosis Rev* 1990; 22: 59-63.
13. Stalmer J, Wentworth D, Neaton JD. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356222 primary screenings of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA* 1986; 256: 2823-8.
14. Shepperd J, Packard LH. Metabolic heterogeneity in very low density lipoproteins. *Am Heart J* 1987; 113: 503-8.
15. Graziani MS, Catapano A, Frascatore S Trigliceridi. *Giorn It Chim Clin* 1993; 15: 1448-55.
16. Wasenius A, Stugaard M, Otterstad JE. Diurnal and monthly intra individual variability of the concentration of lipids, lipoproteins and apoproteins. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50: 635-42.
17. Miller M, Kwiterovich PO. Isolated low HDL-cholesterol as important risk factor for coronary heart disease. *Eur Heart J* 1990; 11 (Suppl H): 9-14.
18. Gordon DJ. High density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 1989; 79: 8-15.
19. Frick MH, Haapa K. Helsinki Heart Study: Primary prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. *N Engl J Med* 1987; 317: 1237- 45.
20. Graziani MS. Il colesterolo delle frazioni lipoproteiche. *Giorn It Chim Clin* 1991; 16: 205-15.
21. Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T, Uekama K, Kayahara N, Miyauchi K. Direct measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol in serum with polyethylene glycol-modified enzymes and sulfated -cyclodextrin. *Clin Chim* 1995;41:717-23
22. Steinberg D. Lipoprotein and atherosclerosis. A look back and a look ahead. *Atherosclerosis* 1983; 3: 283.
23. Fredman DS, Srinivasan SR, Shear CL, Franklin SA, Webber LS, Bereson G. The relation of apoproteins AI and B in children to parental myocardial infarction. *N Engl J Med* 1986; 315: 721-7.
24. Guidali PL, Canziani R, Ghirinelli S, Filippini G, Crovetti G, De Filippo C, et al. Valutazione dei livelli di apolipoproteine plasmatiche in pazienti affetti da infarto miocardico acuto. *Trombosi e Aterosclerosi* 1992; 2: 107-11.
25. Comitato per lo studio delle apolipoproteine, Fondazione Italiana per il Cuore. Le apolipoproteine plasmatiche: ruolo nella patologia cardiovascolare ed utilità della determinazione della loro concentrazione ematica. *Biochim Clin* 1996;20:157-95
26. Marcovina S, Albers JJ, Henderson LO, Hannon WH. International Federation of Clinical Chemistry Standardisation Project for measurement of apolipoproteins A-I and B. III Comparability of apolipoprotein values by use of international reference material. *Clin Chem* 1993;39:773-81
27. Contois JH, McNamara JR, Lammi-Keefe CJ, Wilson PWF, Massov T and Schaeffer EJ. Reference intervals for plasma apolipoprotein A-I determined with a standardized commercial immunoturbidimetric assay: results from the Framingham Offspring Study. *Clin Chem* 1996;42:507-14
28. Contois JH, McNamara JR, Lammi-Keefe CJ, Wilson PWF, Massov T and Schaeffer EJ. Reference intervals for plasma apolipoprotein B determined with a standardized commercial immunoturbidimetric assay: results from the Framingham Offspring Study. *Clin Chem* 1996;42:515-23
29. Franceschini G, Michelagnoli S. Lipoproteina (a): un ponte tra arteriosclerosi e trombosi. *Giornale della arteriosclerosi* 1990; 15: 3-16.
30. Scanu AM. Update on lipoproteina (a). *Curr Opin Lipidol* 1991; 2: 253-8.
31. Seed M, Hoppichler F, Reaveley D, McCarthy S, Thompson GR, Boerwinkle E, et al.: Relation of serum lipoprotein(a) concentration and apolipoprotein(a) phenotype to coronary heart

- disease in patients with familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med* 1990; 1494-9.
32. Stone MC, Thorpe JM. Plasma fibrinogen-a major coronary risk factor. *J R Coll Gen Pract* 1985; 35:565-9.
 33. Handa K, Kono S, Saku K, Sasaki J, Kawano T, Sasaki Y, et al.: Plasma fibrinogen levels as an independent indicator of severity of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1989; 77: 209-13.
 34. Wilhelmsen L, Svardsudd K, Korsan K, Larsson B, Welin L, Tibblin G. Fibrinogen as risk for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med*.1984; 311:501-5.
 35. Rodeghiero F, Castaman G. Nuovi fattori di rischio per la trombosi arteriosa. *Trombosi e Aterosclerosi* 1990; 3:115-9.
 36. Di Minno G, Mancino M. Measuring plasma fibrinogen to predict stroke and myocardial infarction. *Arteriosclerosis* 1990; 1:1-7.