

Valutazione dell'omocisteina nei lavoratori turnisti

Assessment of plasma homocysteine levels in shift healthcare workers

Alfredo Copertaro¹, Massimo Bracci², Mariella Barbaresi¹

ABSTRACT: *Assessment of plasma homocysteine levels in shift healthcare workers. A. Copertaro, M. Bracci, M. Barbaresi.*

Background. Previous studies have indicated an association between shift work and cardiovascular disease. Increased plasma homocysteine levels has been proposed as a cardiovascular risk factor independent of other conventional risk factors.

Aims. Our aim is to verify the usefulness of plasma homocysteine as a screening test to prevent cardiovascular diseases in shift workers.

Methods. Thirty rotating shift nurses and 28 daytime nurses have been submitted during 18 months to regular taking of arterial pressure and body weight. Venous blood was drawn to measure glycaemia, triglycerides, plasma cortisol level, HDL cholesterol, blood cell count, alanine-aminotransferase, aspartate-aminotransferase, γ -GT, and plasma homocysteine.

Results. No increase in average plasma homocysteine in rotating shift nurses, nor a higher frequency in hyperhomocysteinemia than in daytime workers was found. A significant difference was observed in body weight and systolic blood pressure ($p < 0.05$), which resulted higher in rotating shift workers than in daytime workers. A significant increase was observed in alanine-aminotransferase (ALT) among shift workers ($p < 0.05$).

Conclusions. Plasma homocysteine measurement should not be employed as a screening test for the prevention of cardiovascular disease in rotating shift workers.

Keywords: cardiovascular diseases, shift work, hyperhomocysteinemia.

Monaldi Arch Chest Dis 2008; 70: 24-28.

¹ Servizio del Medico Competente, ASUR - Zona Territoriale 7; Via C. Colombo, 106 - I-60100 Ancona.

² Medicina del Lavoro, Dipartimento di Patologia Molecolare e Terapie Innovative, Università Politecnica delle Marche; Via Tronto, 10/a - I-60020 Torrette di Ancona.

Corresponding author: Alfredo Copertaro, MD; Healthcare Workers Service, Regional Health Administration, Loreto Hospital; Via S. Francesco, 1 - I-60025 Loreto (Ancona), Italy; E-mail address: copertaroa@asurzona7.marche.it

Introduzione

Il lavoro a turni coinvolge in Italia circa 3 milioni di persone e di essi un milione sono anche lavoratori notturni. La normativa italiana in tema di lavoro notturno prevede l'attuazione di programmi di sorveglianza sanitaria finalizzati alla tutela della salute e sicurezza dei lavoratori [1, 2]. Infatti l'attività lavorativa svolta nelle ore notturne coincide con il decremento circadiano della performance psicofisica ed è in antitesi con i ritmi circadiani di cortisolo e melatonina che oscillano in sincronismo con il ritmo sonno-veglia ed in conseguenza di ciò si assiste ad una riduzione della performance lavorativa e conseguente aumento della probabilità di errori ed incidenti [3]. Il lavoro notturno è altresì associato a malattie gastrointestinali [4], a malattie cardiovascolari (MCV) [5-7] ed a disturbi psiconevrotici per l'interferenza sul ciclo sonno/veglia [8, 9].

Una revisione operata da Boggild nel 1999 [10] evidenzia, nei lavoratori turnisti, un incremento del rischio di incorrere in MCV del 40%, rispetto ai non turnisti. Knuttson [11] stima per i lavoratori turnisti un aumento del rischio relativo per cardiopatia ischemica tra 1,3 ed 1,7 volte, rispetto ai lavoratori giornalieri.

Le MCV sono patologie a genesi multifattoriale e benché nei lavoratori turnisti rispetto ai giornalieri siano state osservate differenze degli stili di vita, delle abitudini alimentari e tabagiche, della qualità del sonno e dell'uso di alcool nonché alterazioni metaboliche quali decremento dei valori di colesterolo HDL ed incremento dei trigliceridi e pressione arteriosa sistolica, tuttavia tali fattori non sono sufficienti da soli a spiegare l'incremento dell'incidenza di cardiopatia ischemica osservata in chi effettua turni lavorativi [12, 13]. Attualmente gli studi caso-controllo trasversali e prospettici [14, 15] indicano come l'iperomocysteinemia rappresenti un fattore di

rischio aterogeno simile al fumo di sigaretta ed alla dislipidemia e quindi è ritenuto un fattore di rischio indipendente per l'insorgenza della MCV, con meccanismi patogenetici tuttora non completamente identificati [16-18]. I livelli plasmatici di omocisteina sono influenzati da vari fattori: difetti genetici di uno degli enzimi coinvolti nel suo metabolismo (cistationina b-sintetasi, 5-10 metilentetraidrofolato reductasi), condizioni fisiologiche (sesso maschile ed invecchiamento), come pure da condizioni cliniche (deficienza di Vit. B₁₂, Vit. B₆ e/o folati, insufficienza renale, ipotiroidismo, malattie linfoproliferative), da farmaci (antagonisti della Vit. B₁₂, B₆ e folati, antiepilettici, ormoni contraccettivi) e da abitudini di vita (fumo, caffè, alcool, attività fisica, apporto di cereali e verdure nella dieta). Nei turnisti incongrue abitudini di vita associate a disordini alimentari per la necessità di assumere i pasti ad orari diversi con conseguente desincronizzazione delle funzioni secretorie gastrointestinali [19], potrebbero determinare nel medio periodo una carenza di ac. folico e Vit. B₆ e B₁₂ con alterazione del metabolismo della metionina e conseguente incremento dell'omocisteinemia. Recentemente sono stati condotti due studi trasversali [20, 21] che hanno evidenziato un incremento dei valori di omocisteinemia nei lavoratori notturni. Per valutare l'utilità di inserire la determinazione dell'omocisteinemia tra gli esami di screening abitualmente richiesti per valutare il rischio di MCV nei lavoratori turnisti, sono stati valutati sia i valori di omocisteinemia media che la prevalenza di soggetti con iperomocisteinemia, registrati in un campione di 58 infermieri, studiati per 18 mesi, confrontando i 30 infermieri turnisti con i 28, non turnisti.

Soggetti e metodi

Lo studio iniziato nel gennaio 2005 e terminato a giugno 2006 ha riguardato 58 infermieri che lavorano nell'Azienda Sanitaria Unica Regionale, Zona Territoriale 7 di Ancona. Da un campione iniziale di 87 infermieri ottenuto per randomizzazione semplice, sono stati selezionati 58 infermieri che rispondevano ai seguenti requisiti:

- da almeno tre anni svolgevano lavoro a turni e notturno oppure giornaliero;
- all'anamnesi non risultavano affetti da malattie quali la psoriasi, la cardiopatia ischemica, l'ictus cerebrale, l'ipotiroidismo e l'insufficienza renale;
- non assumevano farmaci antiepilettici;
- non prevedevano nei successivi 18 mesi né di iniziare una gravidanza né di trasferirsi in un'altra sede lavorativa né di cambiare orario di lavoro.

Gli infermieri sono stati suddivisi in due categorie sulla base dell'orario lavorativo svolto: 30 infermieri sono stati definiti come turnisti perché effettuavano turni di lavoro organizzati in senso antero-grado così articolato: 1° giorno ore 6,00-14,00; 2° giorno ore 14,00-22,00; 3° giorno ore 22,00-06,00; terminato il turno di notte, osservavano 48 ore di riposo per poi riprendere con il turno del mattino e così di seguito. In media il numero di turni notturni effettuati erano di 6 al mese. I restanti 28 infermieri, sono stati definiti invece lavoratori giorno-

lieri perché lavoravano o al mattino con orario 8,00-14,00 o al pomeriggio dalle 14,00 alle 20,00.

Gli infermieri ammessi allo studio sono stati sottoposti ad una valutazione preliminare (T₀), che prevedeva la compilazione di un questionario in cui si chiedeva quale era l'orario di lavoro svolto su base settimanale e mensile, quali abitudini di vita osservassero in relazione allo svolgimento di attività fisica extralavorativa, al consumo di alcol, caffè, verdure, cereali e frutta, all'abitudine al fumo di sigaretta ed all'eventuale utilizzo di farmaci. Le visite mediche condotte nei quattro tempi in cui si è articolato lo studio, prevedevano la rilevazione dei valori pressori arteriosi e la misura della circonferenza addome nonché un prelievo di sangue venoso a digiuno tra le 8,00 e le 8,30 del mattino, per la determinazione della glicemia (range di normalità: 70-110 mg/dl), trigliceridemia (range di normalità: 40-170 mg/dl), colesterolo HDL (range di normalità: maschi >35 mg/dl, femmine >45 mg/dl), cortisolemia (range di normalità ore 8: 8,0-25,0 mcg/dl) e omocisteinemia. Il dosaggio dell'emocromo è stato utilizzato per evidenziare la presenza di anemie di tipo microcitico (deficit di Vit. B₆) o macrocitico (deficit di Vit. B₁₂ o acido folico) la cortisolemia è stata dosata per rilevare anomalie del ritmo circadiano del cortisolo mentre lo studio della funzionalità epatica è stato condotto analizzando i valori di aspartato aminotransferasi (AST, range di normalità 6-40 U/l), alanina-amino-transferasi (ALT, range di normalità 6-40 U/l) e la γ -glutamyl-transpeptidasi (γ -GT, range di normalità 0-32 U/l). La determinazione quantitativa dell'omocisteina plasmatica, è stata eseguita mediante dosaggio immunologico a fluorescenza con luce polarizzata (tecnica FPIA) e determinazione quantitativa, con sistema AxSYM su campioni di plasma umano; la metodica utilizzata stabilisce come range di normalità l'intervallo compreso tra 0 e 12,5 μ mol/l per le donne e tra 0 e 15,00 μ mol/l per gli uomini. Tutti i valori che sono risultati superiori a 12,5 μ mol/l nelle donne ed a 15 μ mol/l nell'uomo sono stati definiti come casi di iperomocisteinemia (HHCY). Le visite e le analisi sono state ripetute ad intervalli regolari di 6 mesi (T1, T2, T3), con un follow-up della durata complessiva di 18 mesi. I risultati ottenuti sono stati inseriti su foglio elettronico e l'analisi statistica è stata condotta utilizzando il sistema SPSS 15.0 per Windows (SPSS Inc., Chicago, Il, USA).

Per il confronto tra medie è stato utilizzato il test t di Student per il raffronto tra percentuali il test del χ^2 . I rapporti tra omocisteinemia, e tipologia di lavoro svolto è stata valutata mediante analisi di regressione logistica aggiustata per età, sesso, consumo di alcool, abitudine tabagica, consumo di verdure legumi e frutta ed utilizzo di contraccettivi orali contenenti estrogeni.

Risultati

Al momento della valutazione iniziale (T₀) l'età media del campione era di 38 anni (DS±6,3) con un minimo di 28 anni ed un massimo di 58 anni; 46 (79%) erano le donne e 12 (21%) i maschi; 17 infermieri lavoravano in chirurgia generale, 17 infermieri in sala operatoria, 24 infermieri in medicina lungo degenza.

Nella tabella 1 dove sono stati raccolti i parametri rilevati, non si evidenziano differenze significative tra infermieri turnisti e giornalieri; i primi sono più giovani, con minore anzianità lavorativa e presentano un maggior numero sia di fumatori che di consumatori di caffè e bevande alcoliche, intendendo come tali, chiunque abitualmente consumasse ai pasti, almeno un bicchiere di vino al giorno; minore tra i turnisti, è risultato invece, il numero di coloro che svolgono una regolare attività fisica e che consumano verdure, legumi e frutta. Le misurazioni effettuate nei quattro tempi della pressione arteriosa e della circonferenza vita (tabella 2), hanno costantemente dimostrato nei turnisti un incremento dei va-

lori medi della pressione arteriosa sistolica ($p < 0.05$) e della circonferenza addome ($p < 0.05$). L'analisi dei parametri biochimici (tabella 3) non rileva alcuna differenza significativa, nei due gruppi di infermieri studiati ad eccezione della ALT, risultata mediamente più elevata nei turnisti rispetto ai giornalieri in tutti e quattro i tempi con significatività statistica ($p < 0.05$) ai tempi 1, 2, 3; correlazioni significative ($p < 0,05$), sono infine state evidenziate al test r di Pearson tra infermieri turnisti ed i livelli di alanina-aminotransferasi ai tempi 1 ($r = 0.286$), 2 ($r = 0.262$) e 3 ($r = 0.271$).

Sia la concentrazione plasmatica media dell'omocisteina che la prevalenza dei casi di HHCY non

Tabella 1. - Caratteristiche del campione

Variabili esaminate	30 infermieri turnisti	28 infermieri giornalieri
Età media	37 anni (DS±6,4)	39,5 anni (DS±6),
Soggetti con età ≤40 anni	23 (77%)	15 (53%)
Soggetti con età >40 anni	7 (23%)	13 (47%)
Sesso, Maschi / Femmine	5 (17%) / 25 (83%)	7 (25%) / 21 (75%)
Anzianità lavorativa media riferita al turno lavorativo	13 anni (DS±8,4)	16,7 anni (DS±7,0)
Consumatori di bevande alcoliche	23 (76%)	16 (53%)
Consumatori di caffè	28 (93%)	25 (85%)
Fumatori di sigarette	6 (20%)	4 (13%)
Regolare attività fisica	7 (23%)	13 (46%)
Consumo giornaliero medio di verdura, cereali e frutta	160 g	240 g
Donne utilizzatrici di contraccettivi orali	3 (14%)	3 (12%)

Tabella 2. - Valori di pressione arteriosa (PA) e circonferenza addome rilevati negli infermieri ai quattro tempi

Parametri misurati	Tempo 0		Tempo 1		Tempo 2		Tempo 3	
	Turnisti	Non turnisti						
PA sistolica mmHg (DS)	122.6° (±8.3)	116.1 (±11.3)	126.7° (±9.4)	117.3 (±11.6)	121.4° (±7.9)	116.1 (±11.2)	122.4° (±8.6)	117.1 (±11.1)
PA diastolica mmHg (DS)	79.3 (±5.4)	79.6 (±4.8)	79.1 (±5.9)	79.5 (±4.2)	80.1 (±5.5)	79.8 (±4.6)	79.4 (±5.5)	79.3 (±5.6)
Circonferenza addome cm (DS)	95.8° (±9.1)	90.2 (±10.2)	95.4° (±9.3)	90.3 (±9.9)	95.6° (±9.2)	90.5 (±10.1)	95.7° (±9.2)	90.4 (±9.9)

° differenze statisticamente significative rilevate negli infermieri turnisti rispetto agli infermieri giornalieri ($p < 0.05$; t-test).

Tabella 3. - Parametri biochimici registrati negli infermieri turnisti e nei giornalieri ai quattro tempi

Parametri biochimici	Tempo 0		Tempo 1		Tempo 2		Tempo 3	
	Turnisti	Non turnisti	Turnisti	Non turnisti	Turnisti	Non turnisti	Turnisti	Non turnisti
Glicemia mg/dl e DS	93.7±18.5	93.6±21.3	87.6±10.5	91.25±13.0	90.47±10.9	91.79±14.9	85.6±10.6	92.4±14.2
Colesterolo HDL mg/dl e DS	51.7±11.2	58.3±17.0	55.2±11.5	54.5±11.1	50.8±16.0	55.0±15.9	54.4±13.5	58.0±16.5
Trigliceridi mg/dl e DS	71.0±41.2	79.0±45.3	86.0±65.0	78.2±36.5	85.0±47.5	92.8±74.9	85.5±51.1	79.0±40.0
Cortisolemia mcg/dl e DS	18.1±5.9	17.9±5.9	20.0±6.6	20.4±5.8	18.1±7.1	18.5±4.6	18.1±6.4	17.8±6.0
AST U/l e DS	20.3±5.7	19.8±4.7	20.9±7.1	19.0±4.0	20.2±6.3	18.3±3.2	23.9*±9.8	19.3±3.6
ALT U/l e DS	20.0±15.4	16.5±7.1	27.5*±21.3	18.1±5.9	25.7*±22.1	16.9±5.9	24.9*±19.8	17.2±7.5
γ - GT U/l e DS	17.1±10.8	15.6±8.0	23.4±13.7	19.2±6.9	19.6±11.9	16.6±7.43	20.8±13.3	18.4±8.1
Omocisteina μmol/l e DS	11.27±2.7	11.7±3.0	11.83±3.9	11.32±2.2	11.74±2.8	11.8±2.7	12.31±3.1	11.74±2.7
Casi di iperomocisteinemia	826,6%	725%	826,6%	621,4%	826,6%	517,8%	930,0%	621,4%

* differenze statisticamente significative rilevate tra gli infermieri turnisti nei confronti dei non turnisti (t test: $p < 0.05$).

risultavano significativamente differenti nei due gruppi esaminati; tuttavia tra gli infermieri turnisti si nota nell'arco dei quattro tempi, un numero maggiore di casi di HHCY. All'analisi della regressione logistica multipla nessuna relazione è stata evidenziata tra tipologia di turno lavorativo svolto ed i casi di HHCY osservati.

Discussione

I meccanismi patogenetici, responsabili nei lavoratori turnisti di un incremento del rischio di incorrere in malattie cardiovascolari, non sono ancora stati completamente chiariti.

Knutsson [6] sostiene che le basi patogenetiche di tale associazione siano da ricondurre all'alterazione dei ritmi circadiani che provocherebbero disturbi a carico del sonno e del metabolismo lipidico e glucidico con comparsa di iperglicemia, dislipidemia ed obesità addominale; a ciò, si aggiungono stili di vita caratterizzati da un maggior consumo di caffè, sigarette, alcol, farmaci ipnotici e sedentarietà unitamente allo scarso supporto sociale e familiare percepito da questi lavoratori. Gli epidemiologi cardiovascolari ritengono che i fattori di rischio psicosociale siano associati ad una maggiore probabilità di sviluppare malattie a patogenesi aterosclerotica responsabile di eventi cardiaci sfavorevoli [22-26]. L'interesse per l'omocisteina quale fattore di rischio cardiovascolare da parte della medicina del lavoro, è abbastanza recente; Martins [20] in uno studio trasversale, ha osservato un incremento di casi di HHCY in 30 autisti brasiliani di bus che effettuavano lavoro a turni e notturno. Lavie [21] in uno studio trasversale, ha rilevato una associazione tra 103 lavoratori turnisti affetti da disturbi del sonno e valori elevati di omocisteinemia. Si è perciò inteso verificare mediante uno studio retrospettivo della durata di 18 mesi, se i risultati ottenuti nei due studi trasversali, confermassero in una popolazione lavorativa composta da infermieri, la necessità di un monitoraggio dell'omocisteinemia, nei turnisti.

I dati prodotti in questo studio, non indicano alcuna associazione tra lavoro a turni notturno ed incremento dei valori medi di omocisteina o casi di iperomocisteinemia; infatti confrontando i valori dell'omocisteina ottenuti con quattro prelievi effettuati in tempi diversi, tra i lavoratori turnisti e quelli giornalieri, non si è colta alcuna differenza significativa al t-test. La misurazione dell'associazione è stata condotta utilizzando il modello statistico della regressione lineare multipla, valutando gli odds ratio sia come tassi grezzi che come tassi corretti per quei fattori che potrebbero rendersi responsabili di un incremento dei livelli plasmatici di omocisteinemia, dovuti in particolare, al tipo di alimentazione, agli stili di vita, nonché alla desincronizzazione dei ritmi biologici che possono determinare il manifestarsi della cosiddetta sindrome dello "shift-lag" [27]. I turnisti infatti, dovendo consumare in genere almeno un pasto fuori casa e nel minor tempo possibile, tendono a preferire l'utilizzo di cibi pronti e facilmente reperibili al bar che tuttavia sono particolarmente ricchi di carboidrati e lipidi (merendine, pasticceria, biscotti, panini). Diversamente un'alimentazione ricca in legumi, verdura e frutta, apporta una

quantità adeguata di vitamine del gruppo B e di acido folico la cui carenza invece, può essere causa di un aumento dei valori di omocisteinemia. Anche stili di vita improntati alla sedentarietà, all'abuso di sostanze alcoliche, caffè e sigarette, possono ripercuotersi negativamente aumentando i livelli di omocisteinemia. Anche le continue necessità di adattare l'orario di assunzione dei pasti, al turno di lavoro, possono comportare nei turnisti, una desincronizzazione delle funzioni digestive soggette a ritmo circadiano quali la secrezione acida gastrica basale e l'attività di alcuni enzimi epatici come la alanina-amino transferasi (ALT). Nel lungo periodo quindi, potrebbero manifestarsi alterazioni a carico dell'assorbimento e del metabolismo dei nutrienti. Seppure in questo studio sia stato confermato un maggior introito di legumi, verdure e frutta negli infermieri non turnisti, tuttavia il minor consumo nei turnisti, non appare in grado da solo a causare un deficit di Vit. B₁₂ e B₆ o di acido folico: nessun infermiere infatti, è risultato affetto da anemia macrocitica e, nei cinque casi risultati affetti da anemia microcitica, l'etiologia è stata ricondotta ad uno stato di ridotta sintesi di emoglobina per eterozigosi semplice di un gene β talassemico (β talassemia minor). Anche altri parametri, quali la glicemia, il colesterolo HDL ed i trigliceridi ematici, non risultano influenzati dal lavoro a turni. Riguardo agli stili di vita, i fumatori, gli abituali consumatori di bevande alcoliche e caffè e chi tra le donne, utilizza a scopo contraccettivo farmaci estro-progestinici, risultavano essere omogeneamente distribuiti nei due sottogruppi studiati e solo il tabagismo, è risultato correlato a maggiori livelli di concentrazione plasmatica media dell'omocisteina ($p < 0.05$; OR 7.2 IC 95%: 1.6-32.7). Nei turnisti inoltre, la minore attività fisica, unitamente a disordini quali-quantitativi della dieta, potrebbero spiegare l'aumento della circonferenza addome e dei valori medi della pressione arteriosa sistolica in assenza di variazioni della cortisolemia, che avrebbe potuto giustificare l'incremento dei valori pressori, per una maggiore secrezione di catecolamine. Interessante è la correlazione dimostrata tra livelli di ALT e lavoro a turni: l'alanina-amino transferasi presenta un ritmo di secrezione circadiano con incremento dei valori ematici tra le 23 di sera e l'una del mattino con acrofase attorno alle ore 24 [23]. Nei turnisti si è avuto un incremento della concentrazione media di tale enzima nei quattro tempi mentre una correlazione positiva con la tipologia del lavoro a turni è stata accertata ai tempi 1, 2 e 3; ciò potrebbe rappresentare un'osservazione interessante da approfondire in studi successivi, riguardo agli effetti che l'orario irregolare nell'assunzione dei pasti comporta sulla secrezione di enzimi epatici e sui disturbi dispeptici, che si manifestano in corso di sindrome da shift-lag.

Riassunto

La Normativa Europea rivolta alla tutela della salute dei lavoratori turnisti e notturni prevede nei loro confronti la sorveglianza sanitaria obbligatoria a cura del medico competente che ha anche la responsabilità di stabilire quali misure siano da adottare e quali accertamenti integrativi siano da ese-

quire, per salvaguardare questa categoria di lavoratori dagli infortuni lavorativi e da malattie lavoro-correlate quali in particolare, le malattie cardiovascolari (MCV).

Per verificare l'opportunità di inserire tra i tests di screening abitualmente utilizzati anche la determinazione dell'omocisteina plasmatica, è stato condotto uno studio retrospettivo della durata di 18 mesi su una popolazione di 58 infermieri di cui 30 turnisti e 28 giornalieri. Non sono state evidenziate tra queste due categorie di lavoratori differenze significative rispetto ai valori di omocisteinemia media rilevati ed ai casi di iperomocisteinemia osservati, attribuibili a possibili disordini alimentari, ad alterati stili di vita ovvero alla desincronizzazione delle funzioni digestive generate dall'irregolarità degli orari di assunzione dei pasti. Anche la glicemia e la dislipidemia non evidenziano differenze significative nel campione studiato. La circonferenza addome, la pressione arteriosa sistolica ed i valori medi di alanina-aminotransferasi sono invece risultati correlati con il lavoro a turni ($p < 0.05$).

I risultati di questo studio consigliano l'impiego dell'omocisteina plasmatica come esame di screening ai fini della valutazione del rischio cardiocircolatorio e della prevenzione di tale patologia nei lavoratori turnisti.

Bibliografia

- Gazzetta Ufficiale n. 87 del 14.04.2003. D.Lgs. 8 aprile 2003 n. 66. Attuazione della direttiva 93/104/CEE e della direttiva 2000/34/CE concernenti taluni aspetti dell'organizzazione dell'orario di lavoro.
- Gazzetta Ufficiale n. 192 del 17 agosto 2004. D.Lgs. 19 luglio 2004 n. 213. Modifiche ed integrazioni al D.Lgs. 8 aprile 2003 n. 66, in materia di apparato sanzionatorio dell'orario di lavoro.
- Smith L, Folkard S, Poole CJ. Increased injuries on night shift. *Lancet* 1994; 344: 1137-1139.
- Scott AJ, LaDou J. Health and safety in shift workers. In: Zenz C, Dickerson OB, Horvath EP, eds. *Occupational Medicine*. St. Louis, MO: Mosby, 1994; 960-986.
- Akerstedt T, Knutsson A, Alfredsson K, et al. Shiftwork and cardiovascular disease. *Scand J Work Environ Health* 1984; 10: 409-414.
- Knutsson A, Boggild H. Shiftwork and cardiovascular disease; review of disease mechanisms. *Rev Environ Health* 2000; 15: 559-572.
- Tenkanen L, Sjöblom T, Kalmo R, et al. Shift work occupation and coronary heart disease over 6 years of follow-up in the Helsinki Heart Study. *Scand J Work Environ Health* 1997; 23: 257-265.
- Akerstedt T. Work hours, sleepiness and the underlying mechanisms. *J Sleep Res* 1995; 4: 15-22.
- Costa G. Shift work and health. *Med Lav* 1999; 90: 739-751.
- Boggild H, Knutsson A. Shift work, risk factors and cardiovascular disease. *Scand J Work Environ Health* 1999; 25: 85-89.
- Knutsson A, Hallquist J, Reuterwall C, et al. Shiftwork and myocardial infarction: a case-control study. *Occup Environ Med* 1999; 56: 46-50.
- Theorell T, Akerstedt T. Day and night work: changes in cholesterol, uric acid, glucose and potassium in serum and in circadian patterns of urinary catecholamine excretion. A longitudinal cross-over study of railway workers. *Acta Med Scand* 1976; 200: 47-53.
- Karlsson B, Knutsson A, Lindhal B. Is there an association between shift work and having a metabolic syndrome? Results from a population based study of 27,485 people. *Occup Environ Med* 2001; 58: 747-752.
- Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998; 49: 31-62.
- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; 277: 1775-1781.
- McCully KS, Wisons RB. Homocysteine theory of arteriosclerosis. *Atherosclerosis* 1975; 22: 215-227.
- Welch Gn, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N. Engl J Med* 1998; 338: 1042-1050.
- Vizzardi E, Nodari S, Fiorina C, Metra M, Dei Cas L. Raised homocysteine plasma concentration in patients with Heart Failure: clinical significance. *Monaldi Arch Chest Dis* 2007; 68: 96-102.
- Cervinka R, Kundi M, Koller M, Haider M. Shift related nutrition problems, in Wedderburn A. *Psychological approaches to night and shift work*. International research papers, Heriot Watt University, Edinburg, 1984; 14.1-14.18.
- Martins PJF, D'almeida V, Vergani N, Perez Aba, Tufik S. Increased plasma homocysteine levels in shift working bus drivers. *Occup Environ Med* 2003; 60: 662-666.
- Lavie L, Lavie P. Elevated plasma homocysteine in older shiftworkers: a potential risk factor for cardiovascular morbidity. *Chronobiol Int* 2007; 24: 115-128.
- Beaglehole R, Magnus P. The search for new risk factors for coronary heart disease: occupational therapy for epidemiologists. *Int J Epidemiol* 2002; 31: 1117-1122.
- Marmot MG, Shipley MJ, Rose G. Inequalities in death-specific explanations of a general pattern? *Lancet* 1984; 5: 1: 1003-1006.
- Smith GD, Hart C, Hole D, et al. Education and occupational social class: which is the more important indicator of mortality risk? *J Epidemiol Community Health* 1998; 52: 153-160.
- Giallauria F, Battimiello V, Veneziano M, et al. Psychosocial risk factors in cardiac practice. *Monaldi Arch Chest Dis* 2007; 68: 74-80.
- Picardi A, Battisti F, Tarsitani L, Baldassari M, Copertaro A, Moccheggiani E, Biondi M. Attachment Security and Immunity in Healthy Women. *Psychosom Med* 2007; 69: 40-46.
- Costa G. Lavoro a turni e notturno. Organizzazione degli orari di lavoro e riflessi sulla salute Firenze: SEE 2003.