

# I PUFA n-3 nel paziente con cardiopatia ischemica

## *n-3 fatty acids and coronary artery disease*

Raffaele Griffo, Daniele Silvestri, Alberto Camerini

**ABSTRACT:** *n-3 fatty acids and coronary artery disease. R. Griffo, D. Silvestri, A. Camerini.*

n-3 Poliunsaturated Fatty Acids (PUFA) are essential; foods rich in n-3 are fat fish and some vegetal oil. PUFA are precursors of Eicosanoids, involved in the processes of inflammation, thrombosis and immunity.

Firstly, observational studies measured reduction of cardiovascular disease (CVD) incidence with greater PUFA dietary intake. Experimental studies discovered antiarrhythmic, antiatherogenic, antiaggregating and anti-inflammatory properties. Retrospective analysis found lower incidence of sudden death (SD) in fish consumers. Randomized, prospective trials after myocardial infarction showed, in people either eating fish or receiving an n-3 PUFA supplement, a reduction of SD, explained by specific

effect on membrane ion channels. The lack of results on atherothrombosis do not match with most experimental results, and should better be evaluated in absence of aspirin therapy. Low evidence supports use of n-3 PUFA in angina or revascularization procedures. Recent observations denote positive effect on endothelial function of large and resistance arteries. Actually evidence-based medicine suggest: improve of fish consumption for primary prevention of CVD; n-3 PUFA supplementation for hypertriglyceridemia and secondary prevention of SD after myocardial infarction, which is also cost-effectiveness.

**Keywords:** *n-3 PUFA, coronary artery disease, cardiovascular prevention.*

*Monaldi Arch Chest Dis 2004; 62: 3, 176-186.*

U.O.C. Cardiologia Riabilitativa, Ospedale La Colletta, Arenzano (Ge).

Corrispondenza: Dott. R. Griffo, U.O. Cardiologia Riabilitativa, Ospedale La Colletta, Arenzano, via del Giappone 5, I-16011 Arenzano (Ge); e-mail raffagriffo@tiscali.it

### Introduzione

Negli ultimi anni si è osservato uno straordinario interesse scientifico sugli acidi grassi poliinsaturi n-3 (PUFA n-3) sia per quelli assunti attraverso alimenti che ne sono naturalmente ricchi (pesci di acque fredde) sia per quelli contenuti in preparati farmacologici.

Tale interesse è testimoniato dai risultati di una ricerca su Medline, che, al marzo '04, elencava alla parola chiave "n-3 fatty acids", ben 7084 voci, con una crescita mensile di oltre 50 contributi scientifici pubblicati nei più svariati campi della medicina. La parte più rilevante di questi è relativa alle patologie cardiovascolari, ma sono presenti anche un gran numero di ricerche, sia sperimentali che cliniche, nel diabete, in oncologia, in psichiatria, nelle malattie infiammatorie, nella gravidanza, nello sviluppo fetale, nelle malattie neurologiche, respiratorie, chirurgiche e in altri campi della medicina.

Questo attenzione, che ha trovato riscontro anche sul piano prescrittivo [1] conferma come i meccanismi biologici di questi acidi grassi siano così stimolanti da spingere a valutarne l'utilità clinica in tutti i quadri clinici in cui si suppone, o è provato, che questi azioni siano in gioco.

Certamente, il corpus delle evidenze e le prospettive più interessanti sono particolarmente evi-

deni in campo cardiovascolare, laddove la storia dei PUFA è iniziata circa 25 anni orsono [2, 3].

Scopo di questa rassegna è analizzare il razionale dell'utilizzo dei PUFA nella cardiopatia ischemica, descrivere i risultati più significativi dei principali studi epidemiologici e clinici, discutere i loro meccanismi di azione e, infine, trarre alcune conclusioni sulla base di ciò che oggi appare ragionevolmente documentato e di ciò che è ancora oggetto di ricerca.

### I PUFA n-3

Gli acidi grassi (FA) sono lipidi costituiti da una catena carboniosa con un gruppo metilico ed un gruppo carbossilico alle due estremità.

Gli atomi di carbonio della catena sono saturati da atomi di idrogeno; quelli contigui possono unirsi con legame covalente ad opera di enzimi come la desaturasi. Gli FA così formati sono detti insaturi: monoinsaturi (MUFA) o poliinsaturi (PUFA) a seconda del numero di legami covalenti all'interno della molecola.

I mammiferi non possiedono enzimi in grado di introdurre legami covalenti oltre il carbonio C9 degli FA, pertanto non sintetizzano acido linoleico (LA, 18:2cis $\Delta^9$ ,  $\Delta^{12}$ ), precursore della serie n-6 PUFA, né linolenico (LNA, 18:2cis $\Delta^9$ ,  $\Delta^{12}$ ,  $\Delta^{15}$ ), precursore della serie n-3, da cui derivano l'acido

eicosapentaenoico (EPA) e docosaesaenoico (DHA). LA e LNA sono detti essenziali, in quanto necessariamente di origine esogena ed indispensabili in diversi processi vitali.

Le fonti alimentari di PUFA n-3 derivano dal fitoplancton e dallo zooplancton marini, sintetizzatori di EPA e DHA, che li immettono nella catena alimentare. Per questo motivo i pesci, in particolare quelli di acqua fredda (acciughe, sgombri, aringhe, tonni, trote, sarde, sardine e salmòni), ne contengono in grande quantit . La concentrazione di EPA e DHA nell'olio di pesce   10-100 volte superiore agli olii animali di origine terrestre. LNA   reperibile in discreta quantit  nell'olio di semi, di rapa e di soia [4].

Nel corpo umano i PUFA vengono incorporati nel bilayer fosfolipidico delle membrane cellulari, influenzandone la permeabilit , la fluidit  e la traduzione dei segnali.

Esiste una buona correlazione tra la quantit  di n-3 assunti con la dieta e la loro concentrazione al livello della membrana plasmatica di piastrine e granulociti [5], rilievo che concorda con la scarsa interconvertibilit  tra le due serie di FA essenziali, n-3 e n-6. Anche gli adipociti e gli eritrociti sono utilizzati come markers del contenuto di n-3 PUFA nell'organismo.

I PUFA n-3 e n-6 competono per lo stesso sistema enzimatico dando origine, dopo reazioni di allungamento e desaturazione, ad acido arachidonico (AA) da LA, e ad acido eicosapentaenoico (EPA) e docosaesaenoico (DHA) da LNA. Dalle membrane cellulari stimoli appropriati inducono la liberazione di AA, EPA e DHA, per l'attivit  degli enzimi cicloossigenasi e lipo-ossigenasi, e la successiva trasformazione, sempre ad opera di catene enzimatiche comuni ad n-3 e n-6, negli eicosanoidi (trombossani, prostaglandine e leucotrieni). Gli eicosanoidi derivati dalla serie  $\omega$ -6 possiedono un'azione proaggregante, vasocostrittiva e chemiotattica mentre i derivati della serie  $\omega$ -3 possiedono un'azione anti-infiammatoria e inibente l'aggregazione piastrinica.

Queste caratteristiche, in una dieta con elevato rapporto n-6/n-3, porterebbero ad uno squilibrio verso un incremento della suscettibilit  aterotrombotica e dell'intensit  delle reazioni immunomediate. Il rapporto n-3/n-6, come descritto da Simopoulos [6], si   progressivamente ridotto a sfavore degli n-3 nel passaggio dalla preistoria alla civilt  agricola fino a quella industriale e suggerisce l'ipotesi che il vistoso incremento delle malattie cardiovascolari osservato dal XX<sup>mo</sup> secolo possa essere in parte in relazione al drastico aumento degli omega n-6 a discapito degli omega n-3.

Lands [7] sottolinea inoltre come la proporzione di n-6 nelle diete eschimese, giapponese, mediterranea ed nord-americana, rispettivamente del 30%, 50%, 60%, 80%, sia fortemente correlata con l'incidenza di mortalit  cardiovascolare, che varia nelle suddette popolazioni da 20 a 50 a 90 a 200 casi per 100000.

### Studi Epidemiologici-Osservazionali

L'attenzione verso gli acidi grassi poli-insaturi della serie  $\omega$ -3 deriva dall'osservazione, nella se-

conda met  del secolo scorso, di una bassa incidenza di mortalit  cardiovascolare nelle popolazioni autoctone dell'Alaska e della Groenlandia, accomunate da una dieta ricca di grassi ma anche da un elevato consumo di pesce. In particolare la mortalit  per infarto miocardico acuto (IMA) negli Inuits della Groenlandia, dopo correzione per et  e fattori di rischio, risultava circa un decimo di quella della popolazione danese nonostante una dieta altrettanto ricca di grassi e colesterolo e povera di carboidrati, ma ben 5 volte pi  ricca di PUFA n-3 e con contenuto di n-6 molto minore [2]. Gli autori di queste prime osservazioni concludevano pertanto che i PUFA n-3 possedevano una qualche azione antitrombotica e/o ipolipemizzante.

Tuttavia, la dieta degli Inuits e dei pescatori giapponesi   molto diversa rispetto a quella dei paesi occidentali al di l  del solo contenuto in  $\omega$ -3, ed   pertanto risultato di grande rilievo lo studio di Zupthen che, per primo, ha documentato in un paese occidentale come l'Olanda, che pi  di un pasto di pesce grasso alla settimana (equivalente ad un consumo di 30 gr al di) riduce del 50% la mortalit  per malattia coronarica [8]. Alle medesime conclusioni giungevano lo studio MRFIT [9], l'Honolulu Heart Programme [10] e lo studio Western Electric [11].

Il Nurses Heart Study, condotto su 84688 donne con un follow-up di 16 anni, confermava anche nel sesso femminile, la relazione inversa tra assunzione di PUFA n-3 e l'incidenza di morte cardiaca (RR da 0.79 a 0.55 per un consumo da 1-3 volte al mese fino a 5 volte per settimana), ma per primo osservava una minore evidenza nella riduzione degli eventi coronarici non fatali che veniva completamente annullata nelle utilizzatrici regolari di aspirina [12].

Un altro dato di interesse   quello rilevato dal Seven Countries Study, che dimostrava nei paesi ad elevato consumo di pesce ma contestuale elevato consumo di grassi saturi (come per esempio la Finlandia) un effetto protettivo minore, tale da influenzare pesantemente la correlazione nel complesso di tutte le coorti tra consumo di pesce e minore mortalit  cardiovascolare a 15 anni: tale correlazione, significativa escludendo i paesi ad elevato consumo di FA saturi, diventava un semplice trend includendoli nell'analisi [13].

Dati complementari alla complessa relazione tra consumo di pesce, grassi saturi nella dieta e mortalit , sono proposti dallo studio di Zhang e coll [14]: esso conferma il valore protettivo indipendente dopo aggiustamento per i fattori confondenti (alimentazione ricca di grassi e proteine animali, alcool, fumo) del consumo regolare di pesce sia nei maschi che nelle femmine nei confronti della mortalit  totale, di quella per cardiopatia ischemica e per stroke ad una osservazione in 36 paesi in tre periodi di tempo (dal '61 al '91). Ma, dato di grande interesse, dimostra che tale valore protettivo si mantiene anche dopo esclusione delle coorti islandesi e giapponesi, notoriamente ad alto consumo di pesce e a bassa mortalit  totale.

A definire meglio il problema, Marckmann e coll [15] dopo una review sistematica degli studi prospettici di coorte (ben 11) che coinvolgevano

complessivamente oltre 116000 soggetti, concludevano che nei soggetti a basso rischio cardiovascolare non sembra esserci un effetto significativamente protettivo di una dieta ricca di pesce, mentre nei soggetti ad alto rischio un consumo di 40-60 gr di pesce/die è associato ad una riduzione del rischio del 40-60%.

Infine del tutto recentemente uno studio prospettico su 22043 adulti Greci ha descritto una riduzione della mortalità coronarica nei soggetti che aderivano maggiormente ad una dieta mediterranea [16].

In conclusione, sebbene gli studio osservazionali possiedano numerose limitazioni (fattori confondenti nell'analisi statistica, consumo di pesce di per sé marker di uno stile di vita già molto orientato alla salute e vantaggioso per ridurre l'incidenza di cardiopatia ischemica, altri fattori alimentari coinvolti come quelli contenuti in una dieta di tipo mediterraneo, fattori razziali e altre abitudini alimentari di popolazione), si può ragionevolmente concordare con Nordøy [17] che un consumo di circa 30 gr di pesce al dì o di una porzione di pesce alla settimana abbia effetti benefici, in particolare nei soggetti ad alto rischio (box I).

Questi studi hanno avuto comunque il pregio complessivo di aver messo in evidenza che l'alimentazione, oltre a contenere fattori promuoventi la cardiopatia ischemica (grassi saturi, colesterolo, sale) ne possiede di protettivi [18] (tabella 1), capovolgendo completamente la prospettiva delle diete consigliate dal NCEP [19] che proponevano nelle loro prime edizioni una semplice restrizione degli alimenti "sfavorevoli" e non promuovevano il consumo degli alimenti "favorevoli" (pesce, frutta, verdura, legumi, fibre).

### Analisi Retrospective

Due sono i principali studi significativi: quello di Seattle [20] che ha comparato 334 pazienti con arresto cardiaco primario extraospedaliero con 493 controlli: il consumo di 0.45 gr di  $\omega$ -3 al dì o un pasto a base di pesce alla settimana comportava una riduzione del rischio di arresto cardiaco del 60%.

Il Physicians health study [21] durante il follow-up di 11 anni di 20551 medici maschi di 40-85 anni, liberi da patologia cardiovascolare all'ingresso dello studio, ha osservato 133 morti improvvise

e documentato che, anche dopo aggiustamento per gli altri fattori di rischio, l'assunzione di almeno un pasto di pesce a settimana era associato ad una riduzione del 52% del rischio di morte improvvisa. A conferma di questo dato, molto recentemente Albert e coll [22] hanno analizzato, nella popolazione del medesimo studio, campioni di sangue raccolti all'arruolamento in 94 soggetti poi deceduti per MI, e hanno confrontato il loro contenuto in PUFA n-3 con quello di 184 controlli simili per età e abitudine al fumo. Dopo aggiustamento per fattori confondenti, il livello di n-3 era inversamente correlato con il rischio di MI ( $p=.007$ ). Gli autori concludevano che un contenuto elevato di n-3 è strettamente associato ad un minor rischio di MI in soggetti senza evidenza di cardiopatia.

Va anche citato uno studio italiano caso-controllo [23] che per quanto riguarda l'end-point IMA non fatale, ha documentato su 507 pazienti con IMA e 478 controlli una correlazione inversa tra consumo di pesce (> a 1/settimana) e questo evento.

Comunque, i dati dei due studi principali consentono di affermare, a corollario delle conclusioni derivate dagli studi osservazionali, che la riduzione della mortalità cardiovascolare associata ad elevati livelli di PUFA n-3 sembra causata principalmente dalla riduzione della morte improvvisa (vedi box I).

#### Box I

*Un'assunzione di 30 o più grammi al dì di pesce grasso (pari a 1-2 porzioni settimanali) induce in soggetti esenti da malattia cardiovascolare (prevenzione primaria):*

- Una significativa riduzione della mortalità totale, per cause cardiache, coronariche, e da IMA. In particolare la riduzione è dovuta a riduzione di Arresto Cardiaco e di Morte Improvvisa;
- Tale riduzione è evidente anche in coloro che assumono elevate quantità di grassi saturi, ma è più evidente in quelli che ne assumono modeste quantità ed è ancora più evidente nei soggetti ad alto rischio cardiovascolare globale.

*In prevenzione primaria non esiste sicura evidenza che l'assunzione regolare di pesce riduca gli eventi cardiovascolari non fatali.*

### Trial Clinici Randomizzati

Dalle evidenze epidemiologiche-osservazionali hanno preso avvio i trial clinici di intervento (tabella 2).

Il DART (Diet and Reinfarction Trial) è stato il primo studio clinico costruito per valutare gli effetti protettivi dell'assunzione regolare di pesce nei pazienti sopravvissuti a IMA [24]. Il trial ha testato, in un gruppo di 2033 uomini arruolati un mese dopo l'evento, tre diversi regimi alimentari: uno a basso contenuto di grassi (<30% delle calorie totali) con un aumento del rapporto poliinsaturi/saturi, uno ad alto contenuto di fibre (18 gr/die) e, infine, uno caratterizzato da elevato contenuto di  $\omega$ -3 (almeno due porzioni da 200-400 gr a settimana di pesce grasso o, in caso di intolleranza al pesce, PUFA n-3 50 mg/die).

Tabella 1

#### Fattori promuoventi la CAD

- Acidi grassi saturi
- Acidi grassi saturi trombotogeni

#### Fattori protettivi contro la CAD

- Acidi grassi polinsaturi n-6 (linoleico)
- Acidi grassi polinsaturi n-3 (linoleico)
- Acidi grassi monoinsaturi
- Antiossidanti naturali vit E-C carotene flavonoidi
- Fibre dietetiche

*Da Ulbrich [18] modificata*

Il gruppo “fish advice” ha dimostrato a 2 anni rispetto agli altri due e senza alcuna modificazione del profilo lipidico, una riduzione della mortalità totale dal 9.3% al 12.8% (meno 29%,  $p < .05$ , IC 0.54-0.93), quasi completamente dovuta alla riduzione di eventi cardiovascolari fatali (7.7% vs 11.4%,  $p < .01$ ).

I risultati del DART sono stati pubblicati prima che si conoscessero in modo diffuso gli effetti antifibrillatori degli  $\omega$ -3 ma già allora, come sarà poi confermato dal GISSI-Prevenzione, alcune sue osservazioni suggerivano che la maggior parte delle riduzioni degli eventi fatali fosse secondario ad una consistente riduzione delle fibrillazioni ventricolari fatali, aritmie che sappiamo essere responsabili del 50-60% delle morti entro un'ora dall'insorgenza di IMA. Tra gli altri risultati a sostegno di questa ipotesi si segnala che: a) il vantaggio era già particolarmente evidente nei primi sei mesi di follow-up, quando l'evento morte improvvisa è più frequente; b) si registrava nel gruppo “fish advice” un incremento del 48% degli IMA non fatali, mentre il re-IMA era ridotto in modo significativo (-26%) solo nel gruppo “fat advice”.

Bigger [25] a proposito dell'apparente contraddizione di queste osservazioni, ha ipotizzato che i PUFA n-3, prevenendo la morte aritmica durante l'ischemia acuta, abbiano la capacità di convertire i “potenziali” re-IMA fatali in “osservati” re-IMA non fatali.

Tale azione antifibrillatoria pertanto sembra essere sul piano clinico prevalente rispetto a quella antiaterosclerotica e/o antitrombotica.

Tre anni dopo Singh e coll [26] confermavano nell'Indian Experiment of Infarct Survival su 500 pazienti dopo sindrome coronarica acuta una significativa riduzione di mortalità e di eventi coronarici (dal 22% all'11.2%,  $p < .05$ ) in quelli sottoposti per un anno ad una dieta ricca di frutta, verdura, noci, carboidrati e pesce nei confronti dei pazienti assegnati alla semplice dieta ipolipidica suggerita del NCEP.

Un'ulteriore conferma è venuta dai risultati ottenuti nel Lyon Diet Heart Study [27] che, in 605 pazienti post-IMA, confrontava una dieta mediterranea ricca in n-3 PUFA, acidi oleici e linolenici con la dieta step 1 del NCEP. Lo studio era stato programmato con un follow-up di 5 anni, ma già dopo 27 mesi è stato interrotto dal comitato etico per la vistosa maggior efficacia della dieta mediterranea. Infatti in questo gruppo non si era osser-

vato fino a quel momento alcun decesso per morte improvvisa, mentre questa era causa del 50% dei decessi (16 in totale) del gruppo assegnato alla dieta NCEP step 1.

Contrariamente al DART, in questo studio il gruppo trattato ha mostrato anche una significativa minor incidenza di re-IMA non fatale (RR 0.27,  $p < .001$ ).

Continuata l'osservazione a 4 anni, gli autori hanno rilevato nel gruppo dieta mediterranea una straordinaria riduzione del 72% ( $p < .001$ ) dell'end point combinato mortalità cardiovascolare + recidiva di IMA.

Secondo gli autori, il beneficio sulla mortalità è da ascrivere all'elevato quantitativo plasmatico di PUFA n-3 nel gruppo di intervento (0.84 vs 0.30), mentre quello relativo alla riduzione del re-IMA non fatale può essere in parte attribuito ad altri componenti favorevoli della dieta mediterranea (frutta, verdura fresca, legumi, olio di oliva o girasole ecc).

Quel che è certo è che durante lo studio i due gruppi non differivano minimamente sul profilo lipidico e, anche in questo caso come nel DART, le curve di sopravvivenza divergevano già dopo pochi mesi di trattamento, contrariamente a quanto solitamente avviene negli studi di intervento sul colesterolo [28].

## Il Gissi-Prevenzione

È questo lo scenario in cui viene progettato il GISSI-Prevenzione [29] che, iniziato nel 1993, poggiava la sua ipotesi sperimentale di un effetto favorevole dei PUFA n-3 nel post-IMA su un ampio supporto di studi che documentavano un'azione antiaterosclerotica, antitrombotica e, genericamente, antiaritmica per l'effetto ipotrigliceridemizzante, anti-aggregante e anti-infiammatorio da inibizione delle citochine e dell'espressione delle molecole di adesione, e per un'azione favorevole sulla compliance arteriolare e sulla funzione endoteliale [30].

Lo studio, in aperto, ha indagato modo specifico il valore indipendente dei PUFA n-3 sulla mortalità e mortalità dopo un primo IMA ed è stato condotto in Italia in 172 centri su oltre 11000 pazienti seguiti per 3.5 anni dopo l'evento.

Le caratteristiche dei pazienti studiati documentano una popolazione complessivamente a rischio medio-basso, trattata in modo farmacologi-

Tabella 2. - Gli studi sugli effetti dei PUFA n-3 + altri nutrienti nel post-IMA

<i>Trial</i>	<i>N° pazienti</i>	<i>Follow-up</i>	<i>Mortalità Tot</i>	<i>Eventi CV Fatali</i>	<i>Mortalità + Eventi coronarici</i>
<b>DART</b> [24]	2033	2 anni	Meno 29%	Meno 32%	
<b>INDIAN EXP OF AMI SURVIVAL</b> [26]	500	1 anno	Meno 50%		Meno 50%
<b>LYON DIET HEART STUDY</b> [27]	605	4 anni	Meno 40%		Meno 72%
<b>GISSI-PREVENZIONE</b> [29]	11324	3.5 anni	Meno 20%	Meno 30%	

camente completo e evidence-based per il periodo di studio e arruolata per il 50% entro 15 giorni dall'evento e per il 90% entro tre mesi.

La supplementazione di una miscela di esteri etilici di PUFA da mg 1000, con contenuto di EPA e di DHA non inferiore all'85% e in rapporto tra loro di 0.9/1.5 (paragonabile al consumo di 100 g/die di pesce) è risultata associata ad una riduzione del 15% ( $p=.023$ ) dei due end points primari: mortalità totale + re-IMA non fatale + ictus non fatale e morte cardiovascolare + re-IMA non fatale + ictus non fatale.

Il trattamento ha anche ridotto il rischio relativo di morte totale preso isolatamente (-20%), di mortalità cardiovascolare (-30%,  $p=.024$ ) e improvvisa (-45%,  $p=.01$ ) già dopo 100 giorni di trattamento.

Non sono state riscontrate differenze significative nei singoli end point re-IMA non fatale ed ictus.

Un'analisi sul follow-up recentemente pubblicata [31] ha documentato, anche in questo studio, la precocità dell'effetto protettivo nei confronti della morte improvvisa e della mortalità totale (67% del beneficio totale già a tre mesi di follow-up), supportando ancora di più l'ipotesi che l'effetto dei PUFA sia prevalentemente antiaritmico.

Come suggerito dagli studi precedenti, la riduzione della morte improvvisa e la non riduzione dei re-IMA non fatali e degli ictus, conferma che gli  $\omega$ -3 hanno una evidente azione antifibrillatoria più che antitrombotica e che il beneficio ottenuto è correlato non tanto ad un'azione anti-aterosclerotica (il profilo lipidico, indice sia pur grossolano di aterosclerosi, è rimasto sostanzialmente identico nel gruppo trattato e nel gruppo controllo, anche per il basso dosaggio dei PUFA) quanto alla riduzione degli IMA fatali legati ad una minore aritmogenicità nelle prime ore.

Altro dato di grande interesse offerto dal GISSI-P è quello relativo al consumo di pesce, che è risultato, già all'arruolamento, uguale o superiore a una pietanza alla settimana nel 73% dei pazienti di tutti i gruppi di studio (che, ricordiamo, erano quattro comprendendo quelli dei bracci placebo, vitamina E e vitamina E + PUFA n-3) e dell'87% a 42 mesi di follow-up [32], dimostrando quindi che il beneficio degli  $\omega$ -3 era evidente anche in una popolazione a dieta prevalentemente mediterranea (quindi a basso rischio) e a consumo regolare di pesce.

Va peraltro riportato, a stemperare in parte gli entusiasmi suscitati dal GISSI-P, il risultato contrastante di uno piccolo studio norvegese [33] su 300 pazienti post-IMA che non ha dimostrato alcun vantaggio della supplementazione di PUFA n-3 in una popolazione ad elevato consumo di pesce. È pertanto ipotizzabile che la dieta mediterranea rappresenti un plus-valore.

Risultati invece coerenti con quelli del GISSI sono riportati da una meta-analisi di 11 trial per un totale di 7951 pazienti post-IMA in trattamento attivo che confermano l'effetto protettivo dei PUFA n-3 siano essi di origine alimentare che da supplemento, e che tale vantaggio sia ottenuto prevalentemente dalla riduzione della morte improvvisa

(RR 0.8 per re-IMA, 0.7 per re-IMA fatale e 0.7 per MI) [34].

### I Pufa nelle altre Malattie Coronariche

Un recente trial [35] è stato condotto in 3114 pazienti affetti da angina pectoris: in modo piuttosto sorprendente la supplementazione di pesce o di capsule di  $\omega$ -3 ha addirittura incrementato in modo significativo il rischio di morte cardiaca (11,5% vs 9% del gruppo di controllo,  $p=.02$ ).

Lo studio, peraltro non esente da numerose pecche metodologiche, potrebbe suggerire che in questo subset di pazienti, che sappiamo essere a scarsa progressione verso l'IMA (generalmente la trombosi coronarica acuta si sviluppa su stenosi sub-critiche e in pazienti senza storia di angina stabile precedente), l'azione antifibrillatoria dei PUFA in assenza di questo evento sia meno rilevante.

Negli operati di bypass aorto-coronarico, Eritslund [36] ha riportato, su 610 pazienti, la riduzione delle occlusioni del graft venoso: dal 33% del gruppo controllo al 27% del gruppo trattato con 3.4 grammi/die di  $\omega$ -3 ( $p=.03$ ).

Nell'angioplastica coronarica percutanea i dati sono poco numerosi e contrastanti. Una meta-analisi in epoca pre-stent [37] ha concluso su un effetto favorevole, mentre studi più recenti, l'EMPAR [38] e il CART [39], con dosi molto elevate di PUFA n-3 (5-7 grammi/die) e adeguata numerosità di campione lo hanno negato. Va segnalato un recentissimo lavoro multicentrico italiano, l'ESPRIT [40], su 257 pazienti, confrontabili per caratteristiche cliniche, angiografiche e per fattori di rischio, sottoposti ad angioplastica coronarica senza stent: di essi 125 sono stati trattati per 1 mese prima della procedura e per il primo mese di follow-up con 6 grammi/die di  $\omega$ -3 e per i successivi cinque mesi con 3 grammi e 132 con placebo. Al controllo coronarografico a sei mesi, si documentava una significativa minor incidenza di re-stenosi nel gruppo di intervento.

Nonostante questo dato, il significato attuale (in un'era dominata dagli stent medicati) della terapia pre- e post- angioplastica con omega 3 rimane ancora in discussione (Box II).

#### Box II

*Un'assunzione di pesce grasso (2 porzioni settimanali) o la supplementazione con una miscela di esteri etilici di PUFA da mg 1000 con contenuto di EPA e di DHA non inferiore all'85% e in rapporto tra loro di 0.9/1.5, induce:*

- *Nel post-IMA una significativa riduzione della mortalità totale, per cause cardiache, e per Morte Improvvisa già in tempi brevi, senza evidenti effetti sull'incidenza di Re-IMA non fatale;*
- *Nell'Angina Pectoris stabile, non evidenza di effetti favorevoli*
- *Nei pazienti con esiti di bypass aorto-coronarico, una riduzione delle occlusioni del graft venoso con dosaggi però molto superiori a quelli utili nel post-IMA (3-4 grammi die di PUFA n-3)*
- *Nei pazienti sottoposti ad angioplastica coronarica, non evidente utilità alle dosi e modalità standard di assunzione.*

### I Pufa: un Antiaritmico?

Già a metà degli anni '70 Gudbjarnason [41] documentava un effetto antiaritmico degli olii di pesce. McLennan e coll. [42] dimostrarono per primi che era possibile prevenire le aritmie ventricolari fatali indotte in un modello di cuori isolati e perfusi di ratti nutriti per mesi con olio di pesce.

Sempre gli stessi autori dimostrarono che la protezione dalla fibrillazione ventricolare indotta con la legatura di una coronaria, era parziale quando gli acidi grassi saturi o monoinsaturi della dieta venivano sostituiti con oli vegetali ricchi di polinsaturi della classe omega 6 e totale se sostituiti con omega 3.

Billmann e coll. [43] hanno documentato in cani con esiti di IMA da occlusione della discendente anteriore sottoposti ad esercizio fisico durante la quale veniva provocata un'occlusione della circonflessa, la quasi completa prevenzione della fibrillazione ventricolare (che compariva nel 60% di essi) con una infusione di  $\omega$ -3 concentrati.

Una larga messe di dati da modelli sperimentali in vitro ha tentato di individuare il meccanismo d'azione della prevenzione aritmica con gli  $\omega$ -3: il principale sembra essere legato alla loro influenza sui canali ionici della membrana plasmatica delle cellule cardiache: è noto che il potenziale d'azione dipende dal complesso di interazioni che risulta dall'attivazione e inattivazione dei canali del sodio, del calcio e del potassio [44]. I PUFA inducono una lieve iperpolarizzazione della membrana plasmatica con aumento della differenza di potenziale diastolico transmembranario, spostando la soglia per l'apertura dei canali del sodio verso un valore di potenziale più positivo. Ne consegue che è necessaria una stimolazione superiore del 40-50% per indurre il potenziale d'azione. Viene inoltre prolungata di circa tre volte la fase 4, il periodo refrattario del ciclo cardiaco; questo effetto a sua volta contribuisce ad aumentare la resistenza del cuore alle aritmie letali. Tale effetto è maggiore nelle cellule delle aree ischemiche.

Gli  $\omega$ -3, oltre a questo effetto sui canali del sodio, inibiscono i canali del calcio di tipo L con una riduzione della liberazione di calcio dal reticolo sarcoplasmatico [45] e prevengono i postpotenziali aritmici causati da un'eccessiva variazione del calcio citosolico.

Nel complesso quindi i PUFA n-3 hanno una potente azione stabilizzatrice di membrana.

Un ulteriore supporto all'azione antifibrillatoria dei PUFA n-3, sia essa diretta o mediata, deriva da studi condotti su end-point cosiddetti "surrrogati", come la presenza o meno di aritmie ipercinetiche ventricolari all'ECG dinamico sec. Holter, marker di rischio di morte elettrica dopo IMA. Un piccolo studio [46] condotto su 34 pazienti, con buona funzione ventricolare sinistra e assenza di aritmie life-threatening, sottoposti per 16 settimane ad una supplementazione di 2.4 grammi/die di  $\omega$ -3, dimostra, rispetto ad un gruppo di controllo trattato con  $\omega$ -6, una significativa riduzione delle aritmie (-48%). Peraltro attualmente la riduzione delle aritmie ventricolari non è più considerato

predittivo di una riduzione della MI o dell'arresto cardiaco.

Con le conoscenze attuali, invece, la variabilità della frequenza cardiaca (HRV) espressa come deviazione standard dell'intervallo RR in un monitoraggio ecgrafico, è considerato un potente e affidabile indicatore di mortalità totale, improvvisa e di aritmie nel post-IMA [47]. Christensen e coll. [5] hanno studiato l'influenza dei PUFA n-3 su questo marker in 291 candidati a coronarografia: attraverso l'analisi di un questionario alimentare e la determinazione del DHA nelle membrane dei granulociti e nel tessuto adiposo (come già ricordato in precedenza, biomarker di scelta nell'assessment dell'introito alimentare di n-3) hanno dimostrato una significativa e stretta correlazione tra elevata concentrazione di DHA ed elevata HRV, indicatore protettivo nei confronti della MI.

Questi rilievi confermavano quanto già riscontrato dagli stessi AA in pazienti con IMA e disfunzione ventricolare sinistra [48], in pazienti con insufficienza renale [49] e nei soggetti sani [50] e appare del tutto simile a quello ottenuto con i beta-bloccanti.

Aldilà dell'effetto stabilizzatore di membrana, l'efficacia nei confronti della MI potrebbe essere attribuito anche ad un riequilibrio nella bilancia simpato-vagale in favore di una maggiore attività vagale. Tale shift è documentato dall'analisi di oltre 9000 soggetti esenti da cardiopatia in cui il consumo regolare di pesce ha ridotto, in modo statisticamente significativo ( $p < .0001$ ) e indipendente da altri fattori, la frequenza cardiaca a riposo [51].

In conclusione, gli effetti anti fibrillatori dei PUFA n-3 sono evidenti sia sul piano sperimentale che clinico tanto che le recenti linee guida della Task force sulla MI della Società Europea di Cardiologia [52] includono i PUFA n-3 con l'amiodarone tra i farmaci efficaci nella prevenzione primaria della MI nel post-IMA con o senza scompenso cardiaco con un livello di evidenza IIa (la maggior parte delle evidenze a favore).

Allo scopo di testare ulteriormente la loro efficacia è stato recentemente progettato un trial (il SOFA) [53] che, con un disegno multicentrico, randomizzato, parallelo, placebo-controlled, si propone di testare in 500 portatori di defibrillatore impiantabile l'efficacia di 2 grammi/die di PUFA n-3 nel prevenire le tachiaritmie ventricolari e nel ridurre la mortalità totale.

### I Pufa: solo l'azione Antiaritmica?

Come già ricordato, molti trials condotti con gli omega 3 erano stati progettati partendo dall'ipotesi di un effetto sui lipidi, di un'efficacia anti-trombotica e/o genericamente anti-aterosclerotica.

Recentemente l'AHA [54] con un suo statement ha fatto il punto su queste e altre azioni, in particolare quella anti-infiammatoria, dei PUFA.

Le evidenze di un'azione antitrombotica sono modeste: se alti dosaggi riducono l'aggregazione piastrinica, le posologie abituali hanno un modesto effetto [55].

Più suggestivi risultano invece gli studi sull'aterosclerosi, nei quali gli  $\omega$ -3 hanno dimostrato una minore progressione delle placche, un numero più elevato di regressioni [56] e, in pazienti sottoposti a endoarteriectomia carotidea, una maggiore stabilità delle stesse (cappuccio fibroso e minor infiltrato infiammatorio) con una minore vulnerabilità alla rottura [57].

Tale effetto può essere dovuto sia ad un'azione diretta sui lipidi, sia ad un'azione anti-proliferativa delle cellule muscolari lisce. Un'analisi condotta da Harris [58] sugli studi nell'uomo ha definitivamente confermato l'efficacia dei PUFA n-3 nel ridurre del 25-30% i trigliceridi, in modo dose-dipendente, e nell'aumentare le HDL del 1-3%. In particolare l'ipertrigliceridemia post-prandiale è particolarmente sensibile a dosi di 2gr al dì [59]. È documentato anche un effetto sulla frazione LDL con un aumento nelle dimensioni delle particelle LDL, meno ossidabili e quindi meno aterogene.

L'efficacia degli  $\omega$ -3 nel ripristino di un'adeguata funzione endoteliale in pz ipercolesterolemici o coronaropatici (con funzione endoteliale compromessa) sia in arterie di grosso calibro, che in arterie di resistenza, fornisce un ulteriore supporto alla possibile efficacia dei PUFA n-3 nella modulazione dell'aterosclerosi [60].

Anche la pressione arteriosa, rilevante fattore di rischio dell'aterosclerosi, è, sia pur modestamente (- 2/3 mmHg) e con alte dosi, ridotta dall'assunzione regolare di  $\omega$ -3 [61].

Più recentemente è stata sottolineato come l'infiammazione giochi un ruolo centrale nello sviluppo e nella progressione della cardiopatia ischemica.

L'interesse sui PUFA n-3 è legato alla competizione tra EPA e acido arachidonico (derivato dagli omega 6) per il sistema enzimatico delle ciclo-ossigenasi e delle lipo-ossigenasi, che nel primo caso porta agli eicosanoidi omega 3-derivati ad azione anti-infiammatoria e nel secondo a eicosanoidi omega 6-derivati ad azione pro-infiammatoria.

Indipendentemente da questo effetto sul metabolismo degli eicosanoidi, gli  $\omega$ -3 inibiscono le citochine pro-infiammatorie e riducono l'espressione delle molecole di adesione cellulare [62, 63].

È noto come la rottura di placca, che espone il suo contenuto all'ambiente altamente pro-trombotico del lume vascolare, sia essenzialmente un evento infiammatorio [64, 65] ed è possibile che gli  $\omega$ -3 stabilizzino la placca diminuendone l'infiltrazione di cellule infiammatorie e immunitarie: lo studio già citato di Thies [57] dimostra che un trattamento di breve durata (mediamente 42 giorni) e con dosaggi abituali di PUFA n-3 (1.4 grammi) su placche di vecchia data, induce un significativo aumento del contenuto nella placca stessa di EPA e DHA e una minore infiltrazione macrofagica.

Ciò dimostra che sono sufficienti bassi dosi e brevi periodi di assunzione (come dimostrato anche sul versante clinico dal rapido divergere delle curve di sopravvivenza negli studi di intervento GISSI-P e DART) a modificare la composizione, la plasticità e la stabilità di placche aterosclerotiche e confermano come sia sempre più rilevante il concetto di stabilità rispetto a quello di entità della placca.

Nonostante questi dati di grande interesse speculativo, tuttavia il potenziale impatto clinico di queste osservazioni non è ancora noto.

### Che cosa abbiamo imparato: Certezze

Sulla base degli studi osservazionali possiamo ragionevolmente affermare che un consumo di circa 30 gr di pesce al dì o di una porzione di pesce alla settimana induca effetti benefici nel ridurre l'incidenza di patologie cardiovascolari e la mortalità, in particolare nei soggetti ad alto rischio.

Una larga messe di dati consente di concludere che la riduzione della mortalità cardiovascolare sia causata principalmente dalla riduzione della morte improvvisa.

È anche evidente che l'alimentazione, oltre a contenere fattori promuoventi la cardiopatia ischemica, possiede sostanze (pesce, frutta, verdura, legumi, fibre) protettive nei suoi confronti.

Gli studi di prevenzione secondaria hanno dimostrato che i PUFA n-3 alla dose di 1 grammo (estremamente ben tollerata e sostanzialmente priva di effetti collaterali) o la loro assunzione attraverso un consumo regolare di pesce (almeno due volte la settimana) riducono in modo significativo e in tempi molto brevi la morte improvvisa, in particolare attraverso un'azione stabilizzatrice di membrana e quindi innalzando la soglia della fibrillazione ventricolare nelle prime ore di ischemia acuta, trasformando recidive fatali in recidive non fatali.

Tale azione è, in termini clinici, probabilmente più rilevante rispetto l'azione anti-aterosclerotica, anti-aggregante piastrinica e anti-infiammatoria, anche se non può essere sottaciuto che quest'ultima appare sicuramente in progress e in fase di documentazione definitiva sul piano clinico.

È ben dimostrata l'efficacia dei PUFA n-3 nel ridurre a dosi di almeno 2 grammi l'ipertrigliceridemia, significativo fattore di rischio coronarico.

L'aumento dell'introito di  $\omega$ -3 può essere ottenuto mediante estratti in capsule da 1 g o mediante un maggiore e regolare consumo di pesce. Quest'ultima modalità può peraltro essere gravata dal rischio di assunzione di dosi significative di metil-mercurio, che da dati molto recenti appare direttamente associato ad un maggior rischio coronarico tale da annullare l'effetto cardioprotettivo dell'assunzione di pesce [66]. La presenza purtroppo nella catena alimentare di altri inquinanti marini (difenili policlorurati, diossine ecc.ecc.), induce a considerare la disponibilità di integratori di PUFA n-3 privi di contaminanti un importante requisito per il loro utilizzo.

Le indicazioni basate sull'evidenza sono quindi le seguenti.

- trattamento dell'ipertrigliceridemia;
- prevenzione primaria della morte improvvisa associata a cardiopatia ischemica;
- prevenzione secondaria della mortalità cardiovascolare nel post-infarto.

### Ipotesi di Studio

Le recenti raccomandazioni dell'American Heart Association (tabella 3) suggeriscono in pre-

Tabella 3. - Raccomandazioni sull'assunzione di PUFA n-3

Popolazione	Raccomandazione
Soggetti senza evidenza di Cardiopatia ischemica	Consumare pesce (preferibilmente grasso) almeno 2 volte alla settimana. Utilizzare olii e cibi ricchi di acido alfa-linolenico (olio di semi di lino, canola, soia; noci e semi di lino)
Pazienti con Cardiopatia ischemica documentata	Consumare circa un g/die di EPA+DHA, preferibilmente da pesci grassi. Il trattamento farmacologico può essere considerato su indicazione del medico
Soggetti con necessità di ridurre i livelli di trigliceridi	2-4 g/die di EPA+DHA somministrati in forma di capsule sotto controllo medico

Da AHA Scientific Statement modificata<sup>54</sup>

venzione primaria un consumo di pesce almeno tre volte la settimana, senza fare cenno a supplementazione farmacologiche. In effetti non ci sono evidenze che tale modalità di assunzione di PUFA n-3 sia efficace nella prevenzione di eventi cardiovascolari nella popolazione generale.

Un trial in questo settore [67] (fig. 1), controllato, in doppio cieco, randomizzato, su 12.000 soggetti con un follow-up di 5 anni è attualmente in corso, con il supporto dall'industria farmaceutica ma condotto da medici di medicina generale (Centro Studi e Ricerche in Medicina Generale, Consorzio Sanità, FIMMG, Associazione Culturale Medica Interdisciplinare, Associazione per la Medicina Integrativa e la Sanità Integrata e Istituto Mario Negri) con l'obiettivo di valutare l'efficacia di un trattamento con n-3PUFA nel ridurre l'incidenza di eventi cardiovascolari fatali e non, in una popolazione ad alto rischio cardiovascolare.

Per la prevenzione secondaria non va taciuto che il GISSI Prevenzione, sicuramente lo studio più rilevante a sostegno dell'efficacia dei PUFA n-3 nel post-IMA, ha quanto meno due limiti: il protocollo in aperto e la mancata inclusione della morte improvvisa negli end-point primari.

Peraltro, nello stesso studio, il beneficio degli ω-3 può essere stato sottostimato per l'esclusione a priori di pazienti con funzione ventricolare com-

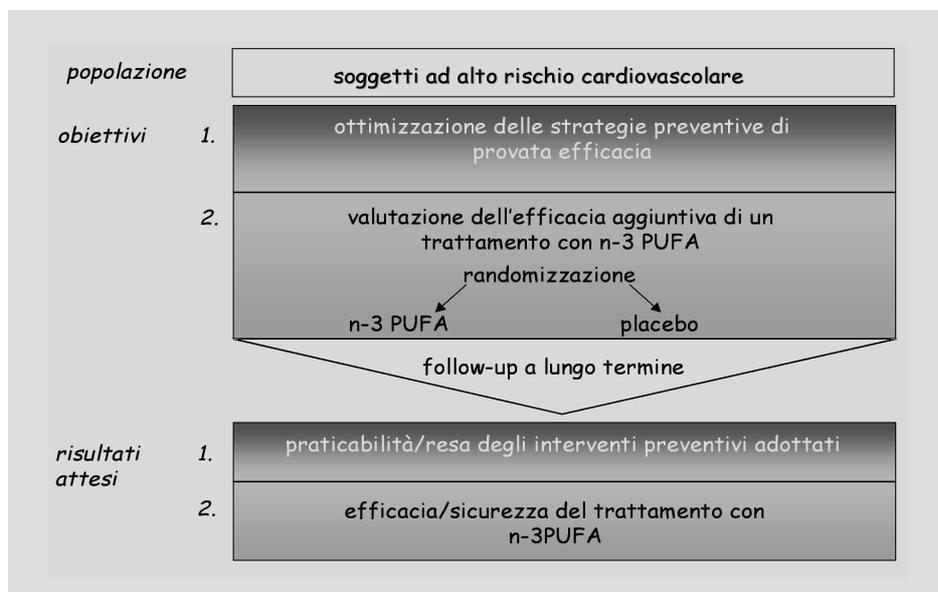
promessa, a maggior rischio di morte improvvisa. Il GISSI HF [68], attualmente in fase di avanzato arruolamento (randomizzati al febbraio '04 4624 pz in classe NYHA II-IV sui 7000 previsti), potrà fornire ulteriori risposte al riguardo. Comunque, i pazienti ad alto rischio di MI dopo un IMA rappresentano una piccola quota del totale delle morti improvvise prevenibili: sappiamo bene che il maggior numero di questi eventi avviene in pazienti a basso-medio rischio di morte improvvisa, in particolare in soggetti con elevato rischio cardiovascolare globale in assenza di malattia, oppure affetti da cardiopatia ischemica in assenza di indicatori di rischio aritmico.

In questi soggetti, l'utilizzo dei PUFA n-3 mediante integrazione o dieta andrebbe vagliato mediante studi prospettici.

Nel GISSI-Prevenzione non è stata osservata la riduzione dell'incidenza di re-IMA non fatale, mentre nel DART si è notato un incremento. Si può attribuire questo rilievo alla mancanza di una misurabile attività antiaterotrombotica degli ω-3. Una considerazione è però necessaria: il 92% dei partecipanti al momento dell'arruolamento e l'83% a 42 mesi era in terapia con antiaggreganti, nella maggioranza dei casi con aspirina. Uno degli effetti dell'acido acetilsalicilico è l'inibizione dell'enzima PG ciclo-ossigenasi, che determina la trasformazione di AA in PGG<sub>2</sub> e PGH<sub>2</sub>, reazione limitante nella formazione di eicosanoidi. Quindi l'eventuale effetto anti-aterotrombotico degli ω-3 potrebbe essere stato mascherato dalla concomitante terapia con ASA.

Un altro dato di incertezza è relativo alla durata del trattamento in prevenzione secondaria: il GISSI-P e il DART hanno documentato una riduzione di mortalità per MI molto evidente nei primi 3-4 mesi di trattamento, per morte cardiaca a 6 me-

Fig. 1



si, per morte coronarica e cardiovascolare a 8 mesi e dei due end point primari combinati a 9 mesi.

Successivamente, anche per il diradarsi degli eventi, il vantaggio dell'assunzione dei PUFA n-3 si diluisce [69].

### Analisi di Costo-Efficacia

Nell'ambito della prevenzione secondaria vanno sempre tenuti ben presenti alcuni problemi, tra loro strettamente correlati:

- 1) la disponibilità di molti farmaci efficaci (ASA, betabloccanti, aci-inibitori, sartani, statine);
- 2) la oggettiva scarsa aderenza a lungo termine dei pazienti ad una politerapia poco tollerata da pazienti sostanzialmente asintomatici;
- 3) i costi economici sempre più elevati sia per il singolo individuo che per la società, e conseguentemente;
- 4) il dovere di saper scegliere per ciascun paziente la terapia più idonea.

L'aderenza a lungo termine ai trattamenti farmacologici, al di là delle ipotesi della super pillola [70], è sicuramente maggiore per un intervento dietetico o una supplementazione nutrizionale "naturale".

I PUFA n-3 sono sicuramente cost-effective [71] e un confronto, sia pure soltanto indicativo, in termini di NNT tra i vari farmaci efficaci in prevenzione (tabella 4) supporta questa affermazione.

Tabella 4. - Confronto Farmaci in Prevenzione Secondaria (n° pz da trattare per salvare una vita)

FARMACO	NNT
• ASA	38
• BetaBloccanti	48
• Simvastatina (4S)	163
• PUFA ω3 (GISSI-Prevenzione)	172
• Perindopril (EUROPA)	200
• Pravastatina (LIPID)	202
• Ramipril (HOPE)	271
• Anti-ipertensivi	541
• Pravastatina (CARE)	661

### Riassunto

*Gli acidi grassi polinsaturi (PUFA) n-3 sono essenziali. Cibi ricchi in n-3 sono il pesce grasso ed alcuni olii vegetali. I PUFA sono precursori degli eicosanoidi, molecole coinvolte nei processi di infiammazione, trombosi ed immunità. In principio, studi osservazionali hanno rilevato una riduzione dell'incidenza di malattie cardiovascolari (CVD) in diete ricche di PUFA. Studi sperimentali hanno scoperto proprietà antiaritmiche, antiaterogene, antiaggreganti e anti-infiammatorie. Analisi retrospettive hanno dimostrato una minore incidenza di morte improvvisa (SD) nei consumatori di pesce. Trials di prevenzione secondaria nel postinfarto hanno evidenziato una riduzione di SD in pazienti che assumevano pesce od estratti di n-3, attribuita ad uno specifico effetto sui canali io-*

*nici di membrana. La mancanza di risultati sull'arterotrombosi non concorda con la maggior parte dei risultati sperimentali e dovrebbe essere meglio valutata in assenza di terapia con aspirina. Scarsa evidenza supporta l'uso degli n-3 PUFA nell'angiografia o nelle procedure di rivascularizzazione. Recenti osservazioni descrivono un effetto positivo sulla funzione endoteliale delle arterie di grande e medio calibro. Attualmente la medicina basata sull'evidenza suggerisce: incremento di consumo di pesce nella prevenzione primaria di CVD; integrazione con estratti di n-3 PUFA nel trattamento dell'ipertrigliceridemia e nella prevenzione secondaria della SD dopo infarto miocardico, che risulta anche vantaggiosa ad analisi di costo-efficacia.*

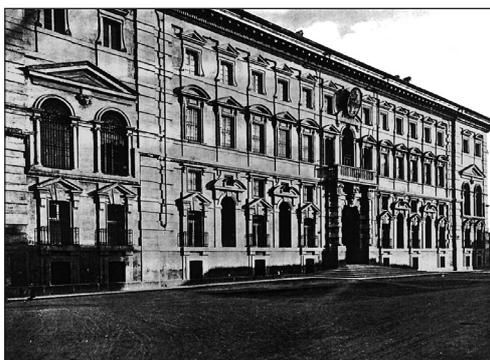
*Parole chiave: n-3 PUFA, cardiopatia ischemica, prevenzione cardiovascolare.*

### Bibliografia

1. Ministero della Salute Direzione Generale dei farmaci e dei dispositivi medici: L'uso dei farmaci in Italia: rapporto nazionale gennaio-settembre 2003. [www.ministerosalute.it/medicinali/osmed/osmed.jsp](http://www.ministerosalute.it/medicinali/osmed/osmed.jsp).
2. Bang HO, Dyerberg J. The composition of food consumed by Greenlandic Eskimos. *Acta Med Scand* 1973; 200: 69-73.
3. Kromann N, Green A. Epidemiologic studies in the Upernavick District, Greenland: incidence of some chronic diseases 1950-1974. *Acta Med Scand* 1980; 208: 401-6.
4. Marchioli R. Omega 3: formulazioni farmacologiche e raccomandazioni dietetiche. *Primula* 2002.
5. Christensen JH, Skou HA, Fog L, et al. Marine n-3 fatty acids, wine intake, and heart rate variability in patients referred to coronary angiography. *Circulation* 2001; 103: 651-7.
6. Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet, essential fatty acids and cardiovascular disease. *Eur Heart J Supplements* 2001; Supplement D: D8-D21.
7. Lands WEM. Biochemistry and physiology of eicosanoids precursors in cell membranes. *Eur Heart J Supplements* 2001; Supplement D: D22-D25.
8. Kromhout D, Bosschleter EB, et al. The inverse relationship between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med* 1985; 312: 1205-9.
9. Dolecek TA. Epidemiological evidence of relationships between dietary polyunsaturated fatty acids and Mortality in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Proc Soc Exp Biol Med* 1992; 200: 177-82.
10. Rodriguez BL, Sharp DS et al. Fish intake may limit the increase in risk of coronary heart disease morbidity and mortality among heavy smokers: The Honolulu Heart Programme. *Circulation* 1996; 94: 952-6.
11. Daviglus ML, Stamler J, Orenca AJ et al. Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction. *N Engl J Med* 1997; 336: 1046-53.
12. Hu FB, Bronner L et al. Fish and Omega-3 fatty acids intake and the risk of sudden death in women. *JAMA* 2002; 287: 1815-21.
13. Kromhout D. N-3 fatty acids and coronary heart disease: epidemiology from Eskimos to Western populations. *J Intern Med Suppl* 1989; 225 (731): 47-51.
14. Zhang J, Sasaki S, Amano K, et al. Fish consumption and mortality from all causes, ischemic heart disease, and stroke: an ecological study. *Prev Med* 1999; 28: 520-9.
15. Marckmann P, Grønbaek M. Fish consumption and coronary heart disease mortality: a systematic review of prospective cohort studies. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 585-590.

16. Trichopoulos A, Costacou T *et al.* Adherence to a Mediterranean Diet and Survival in a greek population. *N Engl J Med* 2003; 348: 2599-608.
17. Nordøy A. Fish consumption and cardiovascular diseases. *Eur Heart J Supplements* 2001; Supplement D: D4-D7.
18. Ulbricht TL, Southgate DA. Coronary artery disease: seven dietary factors. *Lancet* 1991; 338: 985-92.
19. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). 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) final report. *Circulation* 2002 Dec 17; 106 (25): 3143-421.
20. Siscovick DS, Raghuanathan TE, King I, *et al.* Dietary intake and cell membrane levels of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *JAMA* 1995; 274: 1363-7.
21. Albert CM, Hennekens CH, O'Donnel CJ, *et al.* Fish consumption and risk of sudden cardiac death. *JAMA* 1998; 279: 23-8.
22. Albert CM, Campos H, Stampfer MJ, *et al.* Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N Engl J Med* 2002; 346: 1113-8.
23. Tavani A, Pelucchi C, Negri E *et al.* N-3 polyunsaturated fatty acids, fish, and nonfatal acute myocardial infarction. *Circulation* 2001; 104: 2269-2272.
24. Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, *et al.* Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 1989; 30: 757-61.
25. Bigger JT, El-Sherif T. Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular events. A fish tale. *Circulation* 2001; 103: 623-625.
26. Singh RB, Rastogi SS, Verma R *et al.* Randomised controlled trial of cardioprotective diet in patients with recent acute myocardial infarction: results of one year follow up. *BMJ* 1992 Apr 18; 304 (6833): 1015-9.
27. De Lorgeril M, Salen P, Martin JL *et al.* Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 1999; 99: 779-785.
28. De Caterina R, Madonna R. Effetti antiaritmici degli acidi grassi omega-3. Una rassegna. *Ital Heart J Suppl* 2002; 3: 297-308.
29. GISSI-Prevenzione Investigators. Dietary supplement with n-3 polyunsaturated fatty acids and Vitamin E after Myocardial Infarction: results of the GISSI-Prevenzione Trial. *Lancet* 1999; 354: 447-455.
30. Marchioli R. Treatment with polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: results of GISSI-Prevenzione Trial. *Eur Heart J Supplements* 2001; Supplement D: D85-D96.
31. Marchioli R, Barzi F, Bomba E *et al.* Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. *Circulation* 2002; 105: 1897-903.
32. Leaf A, De Caterina R, von Shacky C. The GISSI-Prevenzione trial (letter). *ISSFAL Newsletter* 2000; 7: 2-3.
33. Nilsen DW, Albrektsen G, Landmark K, *et al.* Effects of a high-dose concentrate of n-3 fatty acids or corn oil introduced early after an acute myocardial infarction on serum triacylglycerol and HDL cholesterol. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 50-6.
34. Bucher HC, Hengstler P, Schindler C, *et al.* N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med* 2002; 112: 298-304.
35. Burr ML, Ashfield-Watt PA, Dunstan FD, Fehily AM, Brey P, Ashton T, *et al.* Lack of benefit of dietary advice to men with angina: results of a controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 193-200.
36. Eritsland J, Arnesen H, Gronseth K, *et al.* Effect of dietary supplementation with n-3 fatty acids on coronary artery bypass graft patency. *Am J Cardiol* 1996; 77: 31-36.
37. Gapinski JP, VanRuiswyk JV, Heudebert GR, *et al.* Preventing restenosis with fish oils following coronary angioplasty: a meta-analysis. *Arch Intern Med* 1993; 153: 1595-601.
38. Cairns JA, Gill J, Morton B, *et al.* Fish oils and low-molecular-weight heparin for the reduction of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. The EMPAR Study. *Circulation* 1996; 94: 1553-60.
39. Johansen O, Brekke M, Seljeflot I, *et al.* N-3 fatty acids do not prevent restenosis after coronary angioplasty: results from the CART study. Coronary Angioplasty Restenosis Trial. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1619-26.
40. Maresta A, Balducci M, Varani E *et al.* Prevention of postcoronary angioplasty restenosis by omega-3 fatty acids: main results of the Esapen for Prevention of Restenosis Italian Study (ESPRIT). *Am Heart J* 2002 Jun; 143 (6): E5.
41. Gudbjarnason S, Hallgrimsson J. The role of myocardial membrane lipids in the development of cardiac necrosis. *Acta Med Scand Suppl* 1976; 587: 17-27.
42. Mc Lennan PL, Abetwardena MY, Charnock JS. Dietary fish oil prevents ventricular fibrillation following coronary artery occlusion and reperfusion. *Am Heart J* 1988; 116: 709-717.
43. Billman GE, Kang JX, Leaf A. Prevention of ischemia-induced cardiac sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids in dogs. *Lipids* 1997; 32: 1161-8.
44. De Caterina R, Madonna R, Zucchi R, La Rovere MT. Antiarrhythmic effects of omega-3 fatty acids: from epidemiology to bedside. *Am Heart J* 2003; 146: 420-30.
45. Leaf A, Kang JX, Xiao YF, Billman GE. Clinical prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids and mechanism of prevention of arrhythmias by n-3 fish oils. *Circulation* 2003 Jun 3; 107 (21): 2646-52.
46. Sellmayer A, Witzgall H, Lorenz R *et al.* Effect of dietary fish oil on ventricular premature complexes. *Am J Cardiol* 1996; 76: 974-7.
47. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability. Standard of measurements, physiological interpretation, and clinical use. *Circulation* 1996; 93: 1043-65.
48. Christensen JH, Korup E, Aaroe J, *et al.* Fish consumption, n-3 fatty acids in cell membranes, and heart rate variability in survivors of myocardial infarction with left ventricular dysfunction. *Am J Cardiol* 1997; 79: 1670-3.
49. Christensen JH, Aaroe J, Knudsen N, *et al.* Heart rate variability and n-3 fatty acids in patients with chronic renal failure - a pilot study. *Clin Nephrol* 1998; 49: 102-6.
50. Christensen JH, Christensen MS, Dyerberg J, Schmidt EB. Heart rate variability and fatty acid content of blood cell membranes: a dose-response study with n-3 fatty acids. *Am J Clin Nutr* 1999 Sep; 70 (3): 331-7.
51. Dallongeville J, Yarnell J, Ducimetiere P. Fish consumption is associated with lower heart rates. *Circulation* 2003 Aug 19; 108 (7): 820-5.
52. Priori SG, Aliot E, Blomstrom-Lundqvist C. Task Force on Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2001; 22: 1374-450. Erratum in: *Eur Heart J* 2002; 23: 257.
53. Brouwer IA, Zock PL, Wever EFD *et al.* Rationale and design of a randomized controlled clinical trial on sup-

- plemental intake of n-3 fatty acids and incidence of cardiac arrhythmia: SOFA. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 1323-30.
54. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ for the Nutrition Committee. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation* 2002; 106: 27-47.
  55. Din NJ, Newby DE, Flapan AD. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease - fishing for a natural treatment. *BMJ* 2004; 328: 30-5.
  56. Von Schacky C, Angerer P, Kothny W, *et al.* The effect of dietary omega-3 fatty acids on coronary atherosclerosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1999; 130: 554-62.
  57. Thies F, Gerry JMC, Yaqoob P *et al.* Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomized controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 477-85.
  58. Harris WS, Connor WE, Alam N, *et al.* Reduction of postprandial triglyceridemia in humans by dietary n-3 fatty acids. *J Lipid Res* 1988; 29: 1451-1460.
  59. Harris WS. n-3 Fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr* 1997; 65 (5 Suppl): 1645s-1654s.
  60. Goodfellow J, Bellamy MF, Ramsey MW *et al.* Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with Hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 265-70.
  61. Morris MC, Sacks F, Rosner B. Does fish oil lower blood pressure? A meta-analysis of controlled trials. *Circulation* 1993; 88: 523-33.
  62. De Caterina R, Liao JK, Libby P. Fatty acid modulation of endothelial activation. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (1 suppl): 213s-23s.
  63. Pischon T, Hankinson SE, Hotamisligil GS *et al.* Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among US men and women. *Circulation* 2003 Jul 15; 108 (2): 155-60.
  64. Libby P, Geng YJ, Aikawa M, *et al.* Macrophages and atherosclerotic plaque stability. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 330-5.
  65. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead. *Cell* 2001; 104: 503-16.
  66. Guallar E, Sanz-Gallardo MI, van't Veer P *et al.* Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2002 Nov 28; 347 (22): 1747-54.
  67. Caimi V. Parte lo studio Rischio e Prevenzione (R&P). Estratto del protocollo. *Occhio clinico* 2004; 1: 39-42.
  68. Tavazzi L, Tognoni G, Franzosi MG *et al.* Rationale and design of the GISSI heart failure trial: a large-scale trial to assess the effects of n-3 PUFAs and rosuvastatin in symptomatic congestive heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004; 6: 635-41.
  69. Grundy SM. N-3 Fatty Acids: priority for post-myocardial infarction clinical trials. *Circulation* 2003; 107: 1834-6.
  70. Wald NJ, Law MR. A strategy to reduce cardiovascular disease by more than 80%. *BMJ* 2003; 326: 1419-24.
  71. Franzosi MG, Brunetti M, Marchioli R *et al.* on behalf of GISSI Prevenzione Investigators. Cost-Effectiveness analysis of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA) after Myocardial Infarction. *Pharmacoeconomics* 2001; 19 (4): 411-20.



Pavia - Almo Collegio Borromeo