

## Omocisteina, stress ossidativo e alterata sintesi di monossido d'azoto nelle patologie coronariche: considerazioni sulla validità dei risultati

Giuseppe Cardillo

Via Gabriele Jannelli 494, Napoli

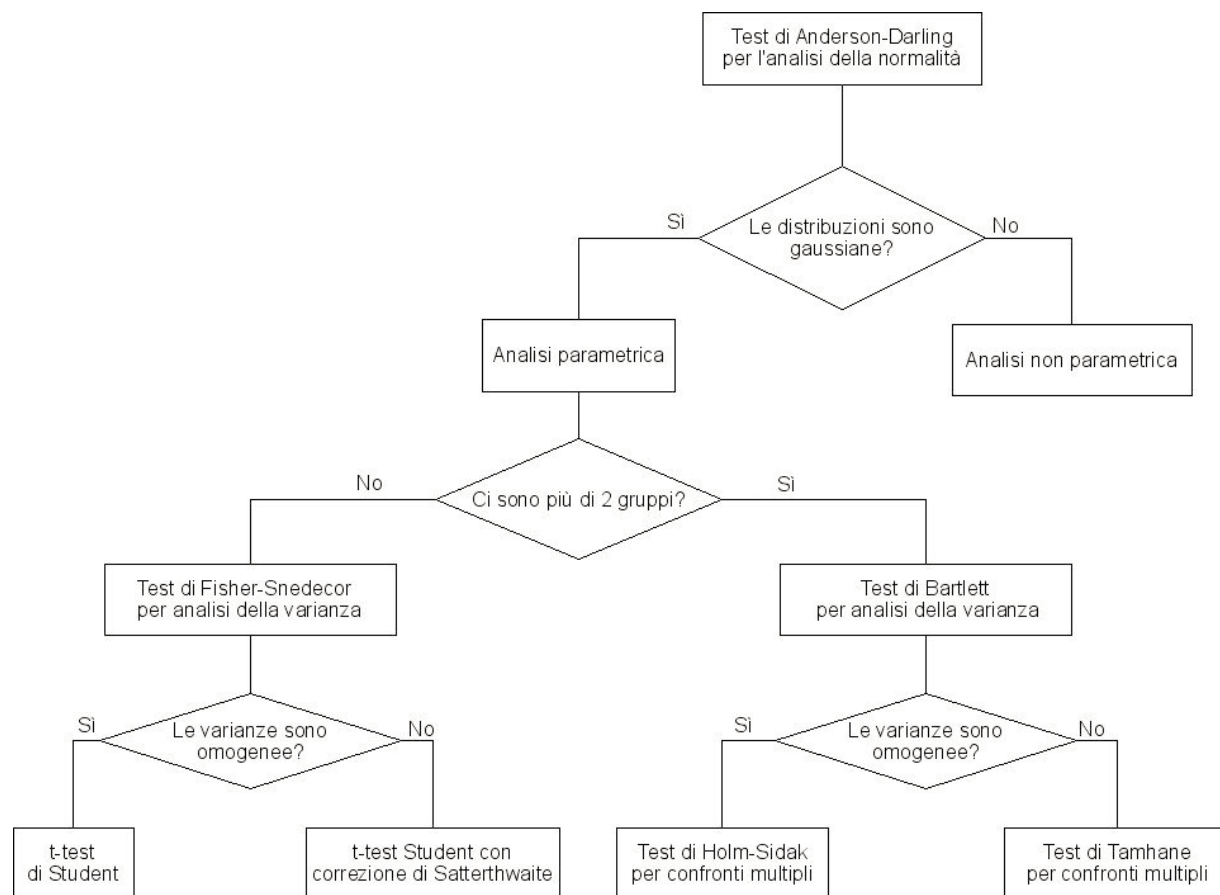
Caro Editore,

Nell'articolo "Omocisteina, stress ossidativo e alterata sintesi di monossido d'azoto nelle patologie coronariche", recentemente pubblicato su questa rivista, gli Autori hanno valutato la relazione tra le concentrazioni plasmatiche di omocisteina (Hcy), malondialdeide (MDA) e altri analiti coinvolti nel metabolismo dell'ossido nitrico [L-arginina (L-arg), dimetilarginine, simmetrica (SDMA) e asimmetrica (ADMA)] e lo stress ossidativo nella malattia coronarica, anche in rapporto alla funzionalità renale (1). A tal proposito sono stati presi in considerazione 3 gruppi di soggetti: uno con sindrome coronarica acuta (SCA), uno con angina stabile (AS) e uno di controllo (Ctr). L'articolo pone degli spunti di riflessione interessanti e ciò mi ha portato a considerare criticamente i dati ottenuti e le conclusioni riportate, ponendo l'accento sul trattamento statistico dei risultati.

La Tabella 1 del lavoro riporta una serie di variabili nominali, quasi tutte dicotomiche, dei soggetti arruolati nello studio: sesso, fumo, pregresso infarto miocardico, diabete, ipertensione, ipercolesterolemia e insufficienza renale. Nella Tabella sono riportati i valori di P che indicano mancanza di differenze statisticamente significative. I dati nominali possono essere analizzati con diversi test statistici: il test esatto di Fisher, il  $\chi^2$  con correzione di Yates, il "likelihood ratio test" (G-test) con le correzioni di Williams e Mantel-Haenszel oppure con la statistica z. Applicando ognuno di questi test ai dati sperimentali, nessun valore di P tuttavia coincide con quelli riportati in Tabella, anche se i valori di P ottenibili (sempre  $>0,05$ ) portano a conclusioni che non sono diverse da quelle degli Autori.

Nell'analisi del comportamento delle variabili continue (Figure 3 e 4 del lavoro), la condizione preliminare è la modalità di distribuzione dei dati; infatti, l'applicazione di metodi statistici di tipo parametrico quando i dati non siano distribuiti gaussianamente può portare a conclusioni sbagliate (Figura 1). In generale, le variabili biologiche quasi mai si distribuiscono in modo gaussiano: per questo motivo, si ricorre ad espressioni di tipo non parametrico (mediane e percentili) o si tentano delle trasformazioni di normalizzazione, come il logaritmo e la radice quadrata. Non disponendo dei dati originali e non sapendo se la condizione di normalità sia stata verificata, non si può far altro che darla per scontata ed applicare quindi metodi statistici parametrici. Tuttavia, se la distribuzione è realmente gaussiana, il 99,7% dei valori della popolazione studiata è compreso tra la media  $\pm$  3DS. Dai dati del lavoro, calcolando i parametri di una distribuzione gaussiana, nel caso della Hcy dei gruppi SCA e AS il limite inferiore della distribuzione avrebbe valori negativi (rispettivamente  $-3,8 \mu\text{mol/L}$  e  $-13,9 \mu\text{mol/L}$ ), risultati biologicamente impossibili. Analogamente per MDA (nel gruppo AS il valore minimo sarebbe  $-0,06 \mu\text{mol/L}$ ) e per il rapporto L-arg/SDMA ( $-565,32$  per il gruppo AS,  $-656,28$  per il gruppo Ctr). La seconda condizione da verificare è l'omoschedasticità dei dati, vale a dire l'omogeneità delle varianze. Anche in questo caso, gli Autori non dicono se tale condizione sia stata verificata. Tuttavia, come per la condizione di normalità della distribuzione, anche la mancata applicazione di correzioni in presenza di eteroschedasticità dei dati può portare a conclusioni errate. In realtà, i dati riportati ci permettono di accertare se la condizione di omoschedasticità è rispettata o meno e di applicare il test post-hoc più adeguato. In riferimento alla Hcy dei soggetti arruolati, la Figura 3 del lavoro in oggetto riporta valori di P significativi nel confronto tra soggetti coronaropatici (SCA e AS) e Ctr. Applicando il test di Bartlett sull'omogeneità delle varianze, si dimostra che è presente una condizione di eteroschedasticità. Per analizzare differenze tra le medie si deve quindi utilizzare il test di Tamhane, il quale mostra una differenza statisticamente significativa ( $P=0,013$ ) tra AS e Ctr, ma non tra i gruppi SCA e Ctr ( $P=0,106$ ). Una conclusione diversa da quella degli Autori si ottiene anche per il rapporto L-arg/SDMA. Anche in questo caso il test di Bartlett è positivo ed il test di Tamhane per confronti multipli non mostra alcuna differenza statisticamente significativa tra le medie dei tre gruppi ( $P >0,29$ ).

Infine, gli Autori osservano che "nei soggetti studiati era presente una correlazione positiva tra le concentrazioni di Hcy e quelle di SDMA". L'affermazione, tuttavia, non ha molto significato. Infatti, non è stata fatta una misurazione prima e dopo un evento (un trattamento, il semplice trascorrere del tempo, ecc.) per verificare se, in tutti i soggetti, al variare del parametro SDMA corrispondeva una variazione, proporzionale e nella stessa direzione, del parametro Hcy. Inoltre, nella Figura 5 del lavoro si osservano diversi soggetti con valori di SDMA elevati che mostrano un valore di Hcy più basso rispetto a soggetti con valori di SDMA più bassi: quindi, non appare che la correlazione riportata sia stata osservata in tutti i soggetti. Se è vero che i valori di SDMA e Hcy nei soggetti arruolati nello studio sembrano mostrare un certo grado di correlazione positiva, la Figura mostra, però, la presenza di numerosi "outliers", cosa che avrebbe dovuto indurre gli Autori a verificarne la presenza prima di calcolare il coefficiente di correlazione.

**Figura 1**

*Un possibile algoritmo per l'analisi statistica di variabili continue.*

## BIBLIOGRAFIA

1. Squellerio I, Marenzi G, Veglia F, et al. Omocisteina, stress ossidativo e alterata sintesi di monossido d'azoto nelle patologie coronariche. *Biochim Clin* 2009;33:49-55.