

Sistema delle osteochine ed alterazioni fisiopatologiche precoci associate all'aterosclerosi in bambini/adolescenti obesi: individuazione di marcatori precoci di rischio

Dott.ssa Lidia Marandola

INTRODUZIONE

La malattia cardiovascolare (CV) è una delle principali cause di morte nella popolazione adulta nelle società occidentali, tuttavia è stato riscontrato che i processi patologici ed i fattori di rischio associati iniziano durante l'infanzia (1). L'obesità ed il sovrappeso rappresentano uno dei determinanti più frequenti di co-morbidità precoce nei bambini, in quanto favoriscono lo sviluppo di varie patologie tra cui l'ipertensione, la dislipidemia e l'insulino-resistenza (2), noti fattori di rischio CV.

Una delle componenti comuni delle lesioni aterosclerotiche è la calcificazione dei tessuti. Diverse molecole coinvolte nella formazione dell'osso si ritiene svolgano un ruolo nella formazione delle placche aterosclerotiche; queste includono l'osteoprotegerina (OPG), l'osteopontina (OPN), l'osteocalcina (OCN), l'osteonectina e le proteine morfogenetiche dell'osso (3,4).

Nel 2011 Capizzi *et al.* (5) hanno identificato nella circonferenza del polso un marcatore clinico di insulino-resistenza in bambini/adolescenti sovrappeso e obesi. In particolare, mediante risonanza magnetica, effettuata su 51 bambini/adolescenti sovrappeso e obesi, è stato riscontrato che i livelli di insulina e HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) sono strettamente associati con l'area del tessuto osseo ($p < 0.05$), spiegando il 20% della varianza dei livelli di insulina ed il 17% della varianza HOMA-IR.

Questi risultati hanno dimostrato una stretta correlazione tra la circonferenza del polso, la sua componente ossea e l'insulino-resistenza nei bambini/adolescenti sovrappeso e obesi nella popolazione studiata, aprendo nuove prospettive nella predizione del rischio cardio-vascolare.

OBIETTIVI

Sulla base di queste considerazioni l'obiettivo generale del mio studio è stato quello di identificare marcatori precoci di rischio cardiovascolare nei bambini sovrappeso/obeso.

FASE I: obiettivi specifici della prima fase dello studio sono stati quelli di valutare in bambini e adolescenti sovrappeso/obesi la possibile associazione tra:

- a. polimorfismi genici del sistema delle osteochine (osteoprotegerina, osteopontina e osteocalcina) e delle adipochine (resistina, adiponectina e leptina), con i cambiamenti fisiopatologici precoci associati all'insulino-resistenza e all'aterosclerosi (grasso viscerale,

grasso epatico, grasso pancreatico, NAFLD, cambiamenti precoci dello spessore dell'intima-media della carotide) al fine di identificare eventuali marcatori precoci di rischio;

b. i livelli circolanti delle proteine (osteoprotegerina, osteopontina, osteocalcina, resistina, adiponectina e leptina) con i parametri clinici e metabolici ed ecocardiografici;

c. la circonferenza del polso con le varianti genetiche ed i livelli circolanti delle osteochine ed i parametri ecocardiografici.

Ferrannini *et al.* nel 1987 (6) hanno originariamente suggerito che l'iperinsulinemia potrebbe contribuire all'ipertensione attivando il sistema nervoso simpatico, con conseguente vasocostrizione ed incremento del riassorbimento del sodio. Queste conoscenze ci hanno spinto a valutare la possibile associazione tra BMI, circonferenza del polso e la pressione arteriosa in una popolazione di bambini/adolescenti obesi.

Alcuni studi (7-10) hanno dimostrato una relazione tra l'insulino-resistenza e la massa del ventricolo sinistro indicando che l'insulino-resistenza potrebbe condurre cambiamenti significativi nella struttura e funzione del ventricolo sinistro.

Considerato che la circonferenza del polso è un marcatore clinico di insulino-resistenza nei bambini/adolescenti sovrappeso e obesi (5), siamo andati a correlare quest'ultimo con alcuni dei parametri specifici del ventricolo sinistro.

FASE II: obiettivo specifico della II fase dello studio è stato quello di valutare se la circonferenza del polso potesse avere un'influenza sui cambiamenti strutturali e funzionali dei parametri del ventricolo sinistro in una popolazione di bambini/adolescenti sovrappeso e obesi.

MATERIALI E METODI

Nel corso del progetto sono stati reclutati $n=276$ bambini/adolescenti sovrappeso e obesi, con un'età media di 10.41 ± 2.90 anni, presso il Dipartimento di Pediatria dell'Università "Sapienza" (Roma). I criteri di esclusione prevedono: la presenza di malattie renali e diabete di tipo 1 o di tipo 2, alcune condizioni note che influenzano la composizione corporea, l'azione insulinica, o l'insulino secrezione (es. terapia con glucocorticoidi, ipotiroidismo, sindrome di Cushing), una storia pregressa di malattia cardiaca, una storia di trattamento con farmaci che potrebbero avere effetto sul profilo lipidico o una storia di consumo di alcool e di fumo.

In tutti i bambini reclutati sono stati valutati l'altezza, il peso corporeo, il BMI-SDS, la circonferenza polso, la circonferenza vita, circonferenza fianchi, la fase della pubertà e pressione arteriosa sistolica e diastolica. La circonferenza del polso dominante è stata misurata facendo sedere i soggetti con un metro a tensione costante, posizionando il metro sul tubercolo del Lister del radio distale e sull'ulna distale. La circonferenza della vita è stata misurata con un nastro flessibile, a livello dell'ombelico, ed è stata registrata con una precisione millimetrica. Lo stadio I di Tanner è

stato definito come prepubertà, lo stadio II-IV di Tanner come metà-pubertà e lo stadio V di Tanner come post-pubertà.

Inoltre in tutti i soggetti reclutati sono stati valutati la glicemia a digiuno, insulina, il profilo lipidico (colesterolo totale, colesterolo-HDL, colesterolo-LDL e trigliceridi), l'alanina aminotransferasi (ALT), l'aspartato aminotransferasi (AST), la glutamil transferasi (gammaGT).

N=106 dei bambini e adolescenti, selezionati in maniera random, sono stati sottoposti a ecocardiografia e a risonanza magnetica (MRI) per la misurazione del grasso viscerale e del contenuto di grasso epatico e pancreatico.

In tutti i 276 soggetti reclutati sono stati tipizzati i seguenti geni:

- TNFRSF1B (OPG): rs3102735, rs3134070, rs1564858, rs11573885, rs1032129, rs3134063, rs4355801, rs6469792, rs6993813, rs2073618, rs7464496, rs3134057, rs1485286, rs6469804;
- SSP1 (OPN): -156G/G, -66T/G, rs1126772, rs12502049, rs10516798, rs2853749 ;
- BGLAP (OCN): rs1800247, rs34702397, rs62001899, rs12079837, rs11585822 ;
- SPARC: C1046G, G1599G, T1970G, C988G, G1551C
- SOST: 499T/C, rs10534024, rs9902563, rs74695439, rs72078605, rs62078605
- MGP: -138T/C, -514C/T, -814A/G, -2447G/A
- BMPRII: -583A/G, rs235768, rs1049007, rs3731696
- CD36: rs1049654, rs3840546, rs1049673, rs1334513, rs1953299
- Resistin: -420C/G, -394C/G, +299G/A, rs56372119
- GPR120: R67C, R270H, V38V, S192S

Il DNA genomico è stato estratto dai linfociti di sangue periferico conservato in EDTA utilizzando un Kit QIAamp DNA Blood Kit.

I polimorfismi genici sono stati tipizzati mediante la "TaqMan allelic discrimination assay" ABI PRISM 7900 HT (ABI, Foster City, USA), utilizzando i primers (Forward and Reverse) e le sonde MGB (minor groove binding) (FAM and VIC) disegnate dall'Applied Biosystems. I prodotti di PCR sono stati rilevati direttamente misurando l'aumento della fluorescenza del reporter. Tutti i dati raccolti sono stati valutati mediante analisi statistica effettuata con il programma SAS v.9.3. E' stato utilizzato il "*General Linear Model*" (GLM) per confrontare i genotipi con i parametri clinici e biochimici. Per determinare un'eventuale associazione tra i genotipi ed alcune variabili (genere e familiarità per obesità) è stato utilizzato il test del χ^2 o il test di Fisher esatto. Inoltre è stata utilizzato il coefficiente di Spearman o Pearson per valutare l'eventuale associazioni tra la circonferenza del polso ed i parametri ecocardiografici e la regressione lineare multivariata per identificare i possibili predittori (aggiustata per genere e Tanner).

Tutti i polimorfismi dei geni analizzati sino ad ora sono risultati in equilibrio di Hardy-Weinberg.

RISULTATI

Per il gene SPP1 che codifica per l'osteopontina abbiamo osservato che i soggetti sovrappeso e obesi che presentano il genotipo mutato GG del polimorfismo rs12502049 hanno valori di trigliceridi significativamente più alti rispetto ai bambini con genotipo wild type AA ($p=0.047$) ed eterozigote AG ($p=0.020$). I bambini sovrappeso e obesi, portatori del genotipo mutato GG del polimorfismo rs10516798, hanno valori di trigliceridi significativamente più alti rispetto ai bambini che presentano il genotipo wild type AA ($p=0.043$) ed eterozigote AG ($p=0.012$).

Non è stata riscontrata alcuna associazione statisticamente significativa tra i polimorfismi degli altri geni considerati e le variabili analizzate quali: la glicemia, l'insulina, l'indice HOMA-IR, il colesterolo totale, i livelli di trigliceridi, la circonferenza del polso e i valori della pressione arteriosa.

Per quanto riguarda i livelli circolanti delle proteine, l'osteoprotegerina risulta associata con la circonferenza del polso, i valori di pressione sistolica, i livelli di insulina e HOMA-IR. Non è stata riscontrata alcuna associazione tra i livelli delle altre proteine considerate ed i parametri clinici e metabolici considerati.

Inoltre, attraverso un'analisi di regressione multivariata, siamo andati a valutare la possibile associazione tra BMI, circonferenza del polso e la pressione arteriosa in una popolazione di bambini/adolescenti obesi. La circonferenza del polso risulta associata con la pressione sistolica spiegando il 17% della varianza della pressione sistolica nei maschi ed il 14% della pressione sistolica nelle femmine. La circonferenza del polso risulta associata solo con la pressione sistolica e non con quella diastolica. Lo studio Framingham (11) riporta che l'aumento della pressione sistolica predice il rischio cardiovascolare più dell'incremento della pressione diastolica. Il limite di questo studio è che sia stata presa in considerazione solo una popolazione di bambini/adolescenti sovrappeso e obesi e non una popolazione con BMI normale, ma questo potrebbe anche essere considerato come un vantaggio in quanto essendo la circonferenza del polso associata positivamente con la pressione sistolica, la misura della circonferenza del polso nei bambini/adolescenti sovrappeso e obesi potrebbe essere usata come uno strumento di screening per la pressione sistolica elevata.

Inoltre, siamo andati a valutare se la circonferenza del polso potesse avere un'influenza sui cambiamenti strutturali e funzionali dei parametri del ventricolo sinistro in una popolazione di bambini/adolescenti sovrappeso e obesi. I parametri ecocardiografici sono stati valutati tramite TDI (Doppler tissutale pulsato- Tissue Doppler imaging). Abbiamo trovato che la circonferenza del polso risulta correlata con i parametri strutturali del ventricolo sinistro e con il grasso del tessuto epicardico (EAT), con i parametri funzionali invece non è stata trovata alcuna correlazione

significativa eccetto che una correlazione inversa tra la circonferenza del polso e la velocità dell'onda E mitralica (E) (apertura valvola mitralica). Le più forti associazioni sono state osservate tra la circonferenza del polso e la dimensione del ventricolo sinistro in diastole (LVDd) e con la dimensione del ventricolo sinistro in sistole (LVDs). La circonferenza del polso spiega il 47% della varianza di LVDd ed il 45% della varianza di LVDs.

CONCLUSIONI

I livelli di osteoprotegerina sono risultati inversamente associati con i parametri dell'insulino-resistenza e la circonferenza del polso. La circonferenza del polso è risultata associata con la pressione sistolica. La circonferenza del polso è associata con i parametri della struttura e della funzione del ventricolo sinistro.

La circonferenza del polso si conferma come marker antropometrico di potenziale interesse per la predizione del rischio cardiovascolare nei bambini e adolescenti sovrappeso e obesi.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP 3rd, Tracy RE, Wattigney WA.
Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study.
N Engl J Med. 1998 Jun 4;338(23):1650-6.
- 2) DeFronzo RA, Ferrannini E.
Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease.
Diabetes Care. 1991 Mar;14(3):173-94.
- 3) Fitzpatrick LA, Severson A, Edwards WD, Ingram RT.
Diffuse calcification in human coronary arteries. Association of osteopontin with atherosclerosis.
J Clin Invest. 1994 Oct;94(4):1597-604.
- 4) Boström K, Watson KE, Horn S, Wortham C, Herman IM, Demer LL.
Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions.
J Clin Invest. 1993 Apr;91(4):1800-9.
- 5) Capizzi M, Leto G, Petrone A, Zampetti S, Papa RE, Osimani M, Spoletini M, Lenzi A, Osborn J, Mastantuono M, Vania A, Buzzetti R.
Wrist circumference is a clinical marker of insulin resistance in overweight and obese children and adolescents.
Circulation. 2011 Apr 26;123(16):1757-62.
- 6) Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R, Giorico MA, Oleggini M, Graziadei L, Pedrinelli R, Brandi L, Bevilacqua S.
Insulin resistance in essential hypertension.
N Engl J Med. 1987 Aug 6;317(6):350-7.

- 7) Sasson Z, Rasooly Y, Bhesania T, Rasooly I.
Insulin resistance is an important determinant of left ventricular mass in the obese.
Circulation. 1993 Oct;88(4 Pt 1):1431-6.
- 8) Kurtoğlu S, Hatipoğlu N, Mazıcıoğlu M, Kendirici M, Keskin M, Kondolot M.
Insulin resistance in obese children and adolescents: HOMA-IR cut-off levels in the prepubertal and pubertal periods.
J Clin Res Pediatr Endocrinol. 2010;2(3):100-6. doi: 10.4274/jcrpe.v2i3.100. Epub 2010 Aug 2.
- 9) Iacobellis G, Ribaudo MC, Zappaterreno A, Vecci E, Tiberti C, Di Mario U, Leonetti F.
Relationship of insulin sensitivity and left ventricular mass in uncomplicated obesity.
Obes Res. 2003 Apr;11(4):518-24.
- 10) Binnetoğlu FK, Yıldırım Ş, Topaloğlu N, Tekin M, Kaymaz N, Aylanç H, Karakurt H.
Early detection of myocardial deformation by 2D speckle tracking echocardiography in normotensive obese children and adolescents.
Anatol J Cardiol. 2015 Feb;15(2):151-7.
- 11) Rutter MK, Parise H, Benjamin EJ, Levy D, Larson MG, Meigs JB, Nesto RW, Wilson PW, Vasan RS.
Impact of glucose intolerance and insulin resistance on cardiac structure and function: sex-related differences in the Framingham Heart Study.
Circulation. 2003 Jan 28;107(3):448-54.