

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA
Dipartimento di Biomedicina Clinica e Molecolare
Dottorato di ricerca in Scienze Endocrinologiche:
Basi molecolari dell'azione ormonale
Coordinatore: Prof. R. Vigneri (XXIII ciclo)

Dott.ssa Angela Nigro

Ruolo dell'obesità e dell'insulino-resistenza nello sviluppo
di complicanze metaboliche, cardiovascolari ed epatiche
durante l'infanzia e l'adolescenza

TESI DI DOTTORATO

Tutor:
Chiar.ma Prof.ssa Lucia Frittitta

Coordinatore:
Chiar.mo Prof. Riccardo Vigneri

Anno Accademico 2010-2011

INDICE

Introduzione.....	pag. 4
Epidemiologia.....	pag.5
Complicanze.....	pag. 8
Insulino resistenza e complicanze.....	pag.9
Fattori di rischio e complicanze.....	pag. 11
Conseguenze dell'insulino resistenza durante l'infanzia e l'adolescenza	pag.17
- Prediabete e diabete manifesto.....	pag.18
- Sindrome Metabolica e fattori di rischio cardiovascolari	pag.19
- NAFLD.....	pag. 20
PARTE SPERIMENTALE.....	pag.23
Introduzione	pag.24
Metodi.....	pag. 25
- Diagnosi alterazioni del metabolismo glucidico	pag.26
- Diagnosi SM.....	pag.28
- Diagnosi steatosi epatica.....	pag.29

Analisi statistica.....	pag. 29
Risultati	pag.30
- Alterazioni del metabolismo glucidico	pag.30
- Sindrome metabolica.....	pag.33
- Steatosi epatica non alcolica	pag.34
Discussione.....	pag. 36
Conclusioni	pag.41
Bibliografia	pag.43
Figure	pag.47

L'obesità è una malattia cronica multifattoriale caratterizzata da un eccesso di peso corporeo conseguente ad un cronico squilibrio tra introito calorico e dispendio energetico. Nella pratica clinica per la diagnosi di sovrappeso e obesità in età adulta si utilizza il BMI (body mass index, corrispondente al rapporto tra peso in kg e altezza in metri al quadrato) ed in particolare un BMI compreso tra 25 e 29.9 kg/m² identifica una condizione di sovrappeso, mentre un BMI > di 30 kg/m² definisce la condizione di obesità. L'obesità infantile, invece, corrisponde ad un BMI > del 95th percentile per età e sesso ed il sovrappeso ad un BMI compreso tra il 85th e il 95th percentile (1,2).

L'obesità rappresenta uno dei più importanti problemi di salute pubblica e l'eccesso di peso è il sesto fattore di rischio più importante per lo sviluppo delle malattie in tutto il mondo. Circa 110 milioni di bambini sono attualmente classificati come sovrappeso o obesi (3). Negli ultimi 30 anni, la prevalenza dell'obesità è aumentata notevolmente tanto da essere considerata una "pandemia" dato che interessa a livello mondiale sia i paesi più industrializzati

che quelli in via di sviluppo e tutte le fasce d'età, compresi i bambini e gli adolescenti. Poiché i rapporti tra obesità da un lato e malattie cardiovascolari e alterazioni del metabolismo glucidico dall'altro sono ormai noti, grande preoccupazione desta sia dal punto di vista medico che socioeconomico, la elevata prevalenza di obesità specie tra le fasce d'età più giovani, in quanto l'obesità infantile è un fattore predittivo di sovrappeso e obesità in età adulta (4) ed inoltre in quanto la presenza di fattori di rischio cardiovascolare già durante l'infanzia e l'adolescenza si associa ad un aumentato rischio in età adulta di eventi cardiovascolari fatali e non fatali (5).

EPIDEMIOLOGIA

Come già accennato, durante gli ultimi trent'anni la prevalenza dell'obesità tra i bambini e gli adolescenti è più che raddoppiata; negli Stati Uniti, si calcola infatti che, dal primo e secondo National Health Examination Survey (NHES) rispettivamente interessanti gli anni 1963-1965 e 1966-1970 all'ultimo National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)

riguardante gli anni 1999-2004, la prevalenza dell'obesità sia aumentata di 4 volte tra i soggetti di età compresa tra i 6 e i 9 anni e di 3 volte tra i 12 e i 19 anni (6,7). Secondo recenti dati epidemiologici proprio negli USA sembrerebbe che la prevalenza dell'obesità abbia raggiunto negli ultimi anni un plateau ed infatti circa il 11.3% dei bambini ed adolescenti presenta un BMI maggiore al 97th percentile per età e sesso, il 16.3% ha un BMI compreso tra il 97th e il 95th ed infine il 31.9 % è sovrappeso; secondo tali dati, relativi al triennio 2003-2006 (8), non ci sarebbe stato un ulteriore aumento nella prevalenza rispetto a quella registrata dall'ultimo NHANES.

Nei paesi in via di sviluppo, come ad esempio l'America Latina, che stanno conoscendo in questi anni una fase di cambiamenti anche dal punto di vista nutrizionale, mentre fino a qualche decennio fa i problemi maggiori erano il sottopeso e lo scarso accrescimento dei bambini, in atto stiamo assistendo ad un progressivo e rapido aumento della prevalenza del sovrappeso e dell'obesità (9).

Secondo i dati dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) in molti paesi europei la prevalenza del sovrappeso e dell'obesità in età giovanile si è triplicata dagli anni ottanta e attualmente risulta ancora in crescita. Secondo i dati del 2008 dello studio multicentrico internazionale Hbsc (*Health Behaviour in School-aged Children*) la prevalenza in Europa del sovrappeso e dell'obesità tra gli 11 e i 15 anni oscilla dal 6% al 31% a seconda dei paesi.

In Italia, secondo i dati del progetto del Ministero della Salute "OKkio alla Salute" e relativi all'anno 2010, il 24% dei bambini ed adolescenti di età compresa tra i 6 e i 17 anni è sovrappeso o obeso, addirittura considerando i bambini tra gli 8 e i 10 anni che frequentavano la terza elementare il sovrappeso aveva una prevalenza del 22.9% e l'obesità del 11.1%.; inoltre, è stato osservato un evidente gradiente Nord (15% di sovrappeso e obesità nella Provincia Autonoma di Bolzano) e Sud (48% della Campania) (10).

Per quanto riguarda la Sicilia, secondo i dati pubblicati nel 2005 (11), la prevalenza del sovrappeso e dell'obesità è del 40% tra i soggetti di 11 anni,

tende successivamente a ridursi progressivamente riportandosi a valori di poco superiori alla media all'età di 15 anni (25%).

COMPLICANZE

Mentre in passato si pensava che l'obesità infantile ed adolescenziale non fosse associata ad una aumentata mortalità e morbilità come in età adulta, la maggior parte dei dati pubblicati negli ultimi due decenni sottolineano come in realtà l'obesità già durante l'infanzia e l'adolescenza, si associ a complicanze quali: l'ipertensione arteriosa, le dislipidemie, le alterazione del metabolismo glucidico, l'iperinsulinemia, la steatosi epatica, la sleep apnea e le complicanze respiratorie ed ortopediche (12). In aggiunta a tali complicanze, nei bambini ed adolescenti obesi sono frequentemente presenti disordini di tipo psicologico e sociale (13). Attualmente l'obesità in età infantile ed adolescenziale è considerata un forte predittore della presenza di obesità in età adulta (14); in entrambi i sessi, il rischio relativo di essere all'età di 21-29 anni in sovrappeso, indipendentemente dalla storia familiare, è aumentato di 1.3 volte in caso di un

BMI > del 85th percentile all'età di 1-2 anni e di 17 volte nel caso in cui tale BMI fosse presente all'età di 15-17 anni (15). Inoltre, la presenza di fattori di rischio cardiovascolare in età giovanile è predittiva, come evidenziato dai dati del Bogalusa Heart Study , di malattia coronarica in età adulta (16).

INSULINO-RESISTENZA E COMPLICANZE

Il filo conduttore tra l'obesità e le sue principali complicanze (diabete mellito, sindrome metabolica, ipertensione arteriosa, malattie cardiovascolari e steatosi) è rappresentato, non solo tra gli adulti, ma anche tra i bambini e gli adolescenti, dall'insulino-resistenza (IR) (17). L'IR corrisponde ad uno stato di ridotta risposta dei tessuti bersaglio dell'insulina all'azione di tale ormone (18). Tale condizione si associa con elevata frequenza alla presenza di obesità, ma può essere presente anche in soggetti non obesi (19, 20) e fisiologicamente in alcune condizioni quali: la pubertà e la gravidanza.

Per la determinazione del grado di insulino resistenza tra i bambini e gli adolescenti sono stati utilizzati vari metodi. La metodica “gold standard” è

rappresentata, anche nelle fasce d'età più giovani, dal clamp euglicemico-iperinsulinemico (21). Un'altra metodica ampiamente validata per la determinazione dell'insulino-resistenza è rappresentata dal test di tolleranza endovena al glucosio (FSIVGTT) (22). Le due metodiche precedenti però non si prestano alla valutazione su larga scala a causa dell'elevata complessità e della durata dell'esame.

Metodiche meno complesse e validate, per i bambini e gli adolescenti, per la valutazione dell'IR sono la determinazione dell'indice d'insulino resistenza HOMA-IR (Homeostasis model assessment for insulin resistance) (23) ottenuto mediante un modello matematico che utilizza la glicemia e l'insulinemia basale e l' "insulin sensitive index" (ISI) (24) ottenuto utilizzando i livelli di insulinemia e glicemia durante OGTT. L' HOMA-IR correla molto bene, anche in giovane età, sia tra i soggetti obesi che non, con i livelli di insulino resistenza ottenuti mediante il clamp euglicemico-iperinsulinemico (25). L'ISI correla fortemente ($r=0.78$) con il valore della M (derivata dal clamp euglicemico-

iperinsulinemico e che esprime il metabolismo del glucosio indotto dall'insulina) in una coorte di bambini obesi (26).

FATTORI DI RISCHIO PER INSULINO RESISTENZA

Tra i fattori chiamati in causa nel determinare la condizione di insulino-resistenza abbiamo:

- L'etnia e la razza: il “Bogalusa Heart Study” è stato il primo studio ad evidenziare che i bambini di colore presentavano livelli basali d'insulina significativamente maggiori rispetto ai loro coetanei bianchi (16). Successivamente, numerosi altri studi hanno trovato, sia mediante clamp che FSIVGTT, delle differenze nell'insulino sensibilità e resistenza, evidenziando così come i soggetti di colore presentino valori più bassi d'insulino sensibilità e una maggiore secrezione insulinica (27,28,29).

- L'obesità: il BMI correla con l'insulino sensibilità valutata mediante FSIVGTT ($r=0.58$) (30) e mediante clamp ($r=0.49$) (31).

Dall'analisi di 1802 adolescenti (2-19 anni) ottenuti dal NHANES III (1999-2002) è stata dimostrata una correlazione diretta tra BMI e HOMA-IR ($r=0.58$), inoltre sempre in questo studio è emerso che il peso correlava in maniera lineare con L'HOMA-IR arrivando a spiegare circa il 29.1% della variabilità del parametro (32).

- Il grasso viscerale: nei bambini ed adolescenti obesi l'IR sembrerebbe il risultato di un squilibrio nell'accumulo di trigliceridi tra i due tipi di grasso addominale (viscerale e sottocutaneo). Recenti studi hanno rilevato che la capacità del tessuto adiposo sottocutaneo di accumulare grassi modula la sensibilità insulinica (33, 34). I due differenti tipi di tessuto adiposo addominale non differiscono soltanto dal punto di vista metabolico, ma anche per quanto riguarda le sostanze (ormoni e citochine) da essi prodotte e secrete, tra cui adiponectina, leptina, IL-6 che regolano l'insulina sensibilità; nel caso in cui la quantità di tessuto adiposo viscerale aumenta, come si realizza negli obesi, i livelli di leptina

e adiponectina si riducono con conseguente peggioramento dell'insulino sensibilità (34). Recenti studi hanno evidenziato, negli adolescenti obesi, che un aumento del tessuto adiposo viscerale, rispetto al sottocutaneo, si associa ad insulino resistenza, statosi epatica, dislipidemia e ad un rischio 5 volte maggiore di presentare sindrome metabolica (34).

- La deposizione ectopica di tessuto adiposo: recentemente è stato dimostrato come l'IR peggiori, oltre che in seguito all'aumento del grasso viscerale, soprattutto in conseguenza della deposizione ectopica di tessuto adiposo, specie a livello del muscolo scheletrico (35); in particolare, la deposizione nel muscolo scheletrico di grasso, nei bambini obesi inizia precocemente e influenza soprattutto la sensibilità periferica all'insulina (35). Non tutti i bambini ed adolescenti obesi tendono ad accumulare grasso a livello scheletrico e questo spiegherebbe perché non tutti sono insulino resistenti. Il meccanismo che conduce alla deposizione di trigliceridi a livello del muscolo scheletrico non è ancora del tutto noto,

secondo alcuni autori potrebbe essere dovuto ad una alterazione nel numero e nella funzione dei mitocondri del muscolo scheletrico (36) oppure ad una dieta contenente grassi in quantità tale da superare la capacità di ossidazione degli acidi grassi con conseguente accumulo, specie in presenza di sedentarietà, di trigliceridi a livello del muscolo scheletrico (37). Il meccanismo con il quale tale deposizione ectopica causa l' IR non è del tutto chiara e non sembrerebbe essere legata soltanto alla presenza dei trigliceridi, ma soprattutto agli acidi grassi che ne derivano (ceramide e diacilglicerolo in particolare) che sembrerebbero in grado di alterare la via di trasduzione del segnale insulinico con conseguente riduzione dell'uptake del glucosio e della sintesi di glicogeno (37).

- La pubertà: questo particolare periodo della vita si associa ad un transitorio stato di IR; vari studi hanno evidenziato come l'IR aumenti all'inizio della pubertà (in corrispondenza dello stadio III di maturazione

secondo Tanner) e ritorni ai livelli prepuberali alla fine della pubertà (31). Studi longitudinali hanno, inoltre, rilevato che l'insulino sensibilità si riduce di circa il 30% tra il I ed il III stadio di Tanner e ritorna ai valori precedenti al termine dello sviluppo puberale (38). Per parecchi anni si è creduto che l'IR tipica della pubertà fosse dovuta ai cambiamenti della composizione corporea ed in particolare del grasso corporeo che si realizzano in questa particolare fase (39,40), recentemente però questa teoria è stata sconfessata dal riscontro di una riduzione della sensibilità insulinica anche tra i soggetti magri.(41,42).

- Familiarità per Diabete Mellito tipo 2: così come osservato tra gli adulti, anche tra i bambini e gli adolescenti la presenza di un parente di primo grado affetto da DMT2 sembrerebbe associarsi a un maggior grado di IR (43). In alcuni studi però la relazione esistente tra familiarità e insulino resistenza appare significativamente più evidente dopo la pubertà e comunque in adolescenza e non in età precoce (43,44).

- Sesso: in presenza d'insulino-resistenza, questa sembrerebbe maggiore nel sesso femminile rispetto ai maschi anche dopo correzione per BMI, pliche sottoscapolari e tricipitali, circonferenza vita e rapporto circonferenza vita e fianchi (45). In uno studio però le differenze fra i due sessi scomparivano per $BMI > 27 \text{ kg/m}^2$ inducendo così gli autori a concludere che probabilmente l'obesità potrebbe oscurare le differenze tra i due sessi. (46).

- Crescita intrauterina e peso alla nascita: è nota da tempo la relazione esistente tra basso peso alla nascita e futuro sviluppo di obesità, sindrome metabolica, DM2, ipertensione e quindi insulino resistenza. In particolare, in letteratura sono presenti numerosi studi nei quali emerge come i neonati piccoli per età gestazionale (cioè con un peso inferiore a due DS rispetto alla media, SGA) presentino valori d'insulino sensibilità minori rispetto ai loro coetanei nati con un peso nella norma (47). Un

analogo risultato è stato osservato anche tra i neonati prematuri, indipendentemente dal loro peso al momento della nascita (48).

CONSEGUENZE DELL'INSULINO RESISTENZA DURANTE

L'INFANZIA E L'ADOLESCENZA

Tra le possibili conseguenze dell'insulino resistenza abbiamo:

- Il **prediabete** e il **diabete tipo 2 manifesto**: è noto da tempo che alla base dello sviluppo del DMT2 abbiamo rispettivamente l'IR e una riduzione della funzione delle cellule β pancreatiche (49). Il ruolo dell'insulino resistenza nello sviluppo del prediabete (IFG, IGT e IFG/IGT) non è del tutto noto tra i bambini e gli adolescenti obesi. In particolare per quanto riguarda gli IGT i dati di letteratura risultano talvolta contraddittori; infatti in alcuni studi gli IGT sembrerebbero avere un'alterata secrezione insulinica rispetto a coetanei con lo stesso grado di obesità e normoglicemici (50); viceversa, in altri studi sembrerebbe che il difetto principalmente imputato nello sviluppo dell'alterazione glicemica

sia l'IR (51). Un recente studio longitudinale ha dimostrato come la condizione di IGT negli adolescenti obesi sia legata inizialmente ad una riduzione della funzione β cellulare che viene successivamente aggravata da una riduzione della sensibilità periferica (52).

Per quanto riguarda la prevalenza del diabete e del prediabete negli USA i dati sono contrastanti in quanto, secondo i dati del NHANES 1999-2002 tra i soggetti di età compresa tra 12 e 19 anni, il diabete presentava una prevalenza dello 0.5 % e l'IFG del 11% (53); addirittura secondo i dati dello studio STOP-T2DM il 40.5% dei soggetti in età scolare era IFG (54); infine secondo dati pubblicati nel 2002 una alterata tolleranza al glucosio (IGT) era presente nel 25% dei bambini obesi e nel 21 % degli adolescenti obesi (55)

In Italia, la prevalenza delle alterazione del metabolismo glucidico è variabile dal 4.5% registrato in una coorte di bambini ed adolescenti obesi

dell'Italia Settentrionale (56) al 11.4% registrato in Sardegna (57) e al 12.4 % registrato nell'Italia centrale (58)

- La **Sindrome metabolica e i fattori di rischio cardiovascolare**: con il termine di sindrome metabolica si indica, sia nell'adulti che nei bambini, un insieme di alterazioni (quali: obesità, alterata tolleranza ai carboidrati, dislipidemia, ipertensione) la cui presenza si associa ad un aumentato rischio cardiovascolare. Ancora controverso è il dibattito sui criteri da utilizzare per definire la diagnosi nelle fasce d'età più giovani. Negli USA in un campione di adolescenti incluso nel HHANES III la prevalenza della SM era del 6.8% tra i sovrappeso e del 28.7 % tra gli obesi. La prevalenza aumenta all'aumentare del grado di obesità, arrivando ad interessare anche il 50% della popolazione nel caso di bambini ed adolescenti obesi e all'aumentare del grado di IR (59). Sembrerebbe che i bambini e gli adolescenti obesi, come descritto prima, presentino oltre ad un eccesso di

tessuto adiposo viscerale anche un tessuto adiposo disfunzionale e ciò determina una ridotta produzione di adiponectina con conseguente IR da una parte ed un' aumentata produzione di citochine proinfiammatorie dall'altra; tali osservazioni potrebbero spiegare il ruolo dell'IR nello sviluppo precoce delle alterazioni della parete vasale(33).

- La **NAFLD** corrisponde ad uno spettro di malattie epatiche che vanno dalla semplice infiltrazione di grasso a livello epatico (steatosi) all'infiammazione (steatoepatite non alcolica o NASH), alla fibrosi fino alla cirrosi (60). Secondo la definizione dell' American Association for the study of Liver Diseases, la NAFLD corrisponde ad un accumulo di grasso nel fegato, sottoforma di trigliceridi, in quantità maggiore del 5-10% del peso (61). La diagnosi viene fatta dopo aver escluso le cause virali, autoimmuni, farmacologiche e l'abuso di alcol ed il "gold standard" è la biopsia epatica.

La prevalenza della steatosi aumenta all'aumentare del grado di obesità e in alcuni studi è emersa una correlazione significativa tra grado di obesità e gravità del quadro ecografico di steatosi (62,63).

Studi condotti con la metodica del clamp hanno dimostrato che la steatosi epatica si associa ad una condizione di insulino resistenza sia epatica che periferica. La relazione esistente tra IR e NAFLD nei bambini e adolescenti non sempre è chiara, secondo recenti studi, l'iperalimentazione conduce ad un cronico aumento della glicemia, dell'insulinemia e dei livelli di acidi grassi circolanti, tutte condizioni che in presenza di una predisposizione genetica causano l'accumulo di grassi a livello epatico (63). Secondo invece la "two-hit hypothesis" l'accumulo di trigliceridi nel fegato (first hit) determina una cascata di eventi, in parte ancora misconosciuti, che determinano, in soggetti geneticamente predisposti, il danno epatocellulare (second hit) (60).

La prevalenza della steatosi epatica, anch'essa in aumento come conseguenza dell'obesità, oscilla negli USA dal 6 al 23% a seconda delle casistiche e in Europa è del 20% raggiungendo in alcuni paesi come la Spagna e il Portogallo il 30%. In Italia secondo i più recenti dati pubblicati in una coorte di bambini e adolescenti obesi la prevalenza registrata è stata del 41% (64). La prevalenza è maggiore nel sesso maschile, dopo la pubertà ed alcune etnie, come gli Ispanici e gli Asiatici, sembrerebbero presentare una maggiore prevalenza delle forme più gravi (60).

PARTE SPERIMENTALE

E' noto che l'obesità anche in età infantile può condurre a complicanze, quali: alterazioni del metabolismo glucidico, presenza di SM e/o di steatosi epatica; tali disfunzioni oltre che essere causate dall'obesità in sé, sembrerebbero legate all'insulino resistenza e alla condizione di iperinsulinemia tipica dell'eccesso di peso.

Pertanto, abbiamo voluto valutare in una coorte di 269 bambini ed adolescenti obesi:

- la prevalenza delle alterazioni del metabolismo glucidico, della Sindrome Metabolica e della NAFLD
- l'esistenza di correlazione tra queste condizioni e l'insulinoresistenza.

Inoltre, abbiamo cercato di analizzare, mediante l'ausilio dei principali indici di secrezione e sensibilità insulinica, ottenuti durante OGTT, le principali alterazioni presenti nei differenti fenotipi di alterata tolleranza glicemica (IFG, IGT, IFG/IGT).

Metodi

In tutti i soggetti (n=269; M/F 131/139; età 12.9 ± 2.8 anni, range 7-18) abbiamo registrato peso, altezza e calcolato il BMI; poiché tale parametro varia con l'età ed il sesso, trattandosi di bambini ed adolescenti, per ridurre l'influenza di tali parametri sull'analisi statistica, abbiamo calcolato mediante il metodo LMS e sulle curve di Cacciari per il Sud Italia e le isole il BMI Z- score (65) che corrisponde al numero di deviazioni standard rispetto ai valori di riferimento per età e sesso. Per la definizione di obesità abbiamo utilizzato, invece, i tagli dello IOTF(66).

Inoltre, abbiamo misurato la circonferenza vita e la pressione arteriosa (sistolica e diastolica), quest'ultima registrata come media di tre differenti misurazione eseguite dopo aver fatto sedere e riposare il paziente per almeno cinque minuti.

Dopo aver ottenuto da parte dei pazienti, se già maggiorenni, o dei genitori il consenso informato, i pazienti sono ritornati presso la nostra

Divisione una mattina, a digiuno da almeno 8-10 ore ed in tutti i pazienti è stato eseguito prelievo per la determinazione di glicemia ed insulinemia, colesterolo totale, colesterolo HDL e trigliceridi, adiponectina ed è stata, inoltre, eseguita una curva da carico orale con 75 g di glucosio (OGTT) con determinazione della glicemia e dell'insulinemia ogni 30 minuti durante le successive due ore dal carico orale. Infine, in un sottogruppo di pazienti (n=176; M/F 92/84; età 13.3±2.8 anni, range 7-18) abbiamo eseguito dosaggio GOT, GPT, γ -GT e successivamente ecografia epatica.

Diagnosi alterazioni del metabolismo glucidico

In accordo con i criteri ADA (67), abbiamo classificato i soggetti in: normotolleranti se presentavano una glicemia a digiuno minore di 100 mg/dl o dopo carico minore di 140 mg/dl, con alterata glicemia a digiuno (IFG) se la glicemia basale era compresa tra 100 e 125 mg/dl, con alterata tolleranza ai carboidrati (IGT) se la glicemia dopo carico risultava compresa tra 140 e 199 mg/dl, con doppia alterazione IFG/IGT se presentavano entrambe le due

precedenti alterazioni ed infine diabetici se la glicemia a digiuno era ≥ 126 mg/dl e/o quella dopo carico ≥ 200 .

Per valutare il grado di insulino resistenza è stato calcolato l' HOMA-IR (Homeostasis model assessment) ottenuto come prodotto dell'insulinemia basale ($\mu\text{U/ml}$) per la glicemia basale (mmol/ml) diviso 22.5. La sensibilità insulinica è stata valutata mediante l'indice ISI che deriva dai livelli di glicemia ed insulinemia durante tutto l'OGTT.

Tra gli altri indici utilizzati per valutare la fisiopatologia delle alterazioni glicemiche abbiamo calcolato l'indice insulinogenico che corrisponde al rapporto tra l'incremento della glicemia e quello dell'insulinemia nei primi 30 minuti dell'OGTT e che viene generalmente utilizzato come indice surrogato della prima fase della secrezione insulinica. Tale indice, nei bambini e adolescenti, correla bene con la risposta insulinica precoce ottenuta durante il clamp ($r=0.68$, $p<0.001$) (55). Un basso indice insulinogenico predice lo sviluppo di diabete mellito negli adulti (68). Altro indice utilizzato è stato il

disposition index (calcolato come prodotto tra l'ISI e l'indice insulinogenico) che esprime la capacità delle β cellule ad adattarsi ad un peggioramento della sensibilità insulinica (69).

Diagnosi Sindrome Metabolica

Per la diagnosi di SM abbiamo utilizzato i criteri di Weiss (14) modificati per l'età giovanile; pertanto, sono stati definiti affetti da sindrome metabolica i soggetti che presentavano almeno tre tra le seguenti alterazioni:

- BMI maggiore del 97th percentile per età e sesso oppure BMI z score maggiore di 2;
- Glicemia a digiuno ≥ 100 mg/dl;
- Colesterolo HDL $< 5^{\text{th}}$ percentile per età e sesso;
- Trigliceridi $> 95^{\text{th}}$ percentile per età e sesso;
- Pressione arteriosa $> 95^{\text{th}}$ percentile per età e sesso.

Diagnosi steatosi epatica non alcolica

Un sottogruppo di 168 pazienti, come già detto, ha eseguito, inoltre, prelievo per dosaggio: GOT, GPT, γ -GT ed ultrasonorografia epatica. La diagnosi di steatosi epatica è stata ottenuta, dopo aver escluso all'anamnesi e agli esami ematochimici, le forme virali, criptogenetiche, autoimmuni e l'uso di farmaci epatotossici, mediante ecografia epatica,. In base all'ecogenicità del parenchima epatico rispetto a quello renale e alle dimensioni delle vene intraepatiche i soggetti sono stati distinti in 4 gruppi rispettivamente con steatosi assente, lieve, moderata e grave (70).

ANALISI STATISTICA

Tutti i risultati sono espressi come medie \pm deviazione standard (DS). L'analisi tra i differenti gruppi di soggetti è stata eseguita mediante t-test per dati non appaiati per le variabili continue e mediante chi-quadro test per le variabili categoriche. Per valutare l'associazione tra i parametri antropometrici, clinici e metabolici studiati e i livelli di glicemia dopo carico, la presenza di

Sindrome Metabolica e steatosi epatica abbiamo eseguito dapprima una regressione semplice e successivamente una regressione multipla stepwise.

RISULTATI

Le principali caratteristiche della popolazione studiata sono illustrate nella

TAB.1

Alterazioni del metabolismo glucidico

Considerando complessivamente tutte le alterazioni del metabolismo glucidico (IFG, IGT, IFG/IGT) queste interessavano il 24.2% (65/269) dell'intera popolazione; in particolare, il 12.4% dei soggetti (n=33) risultavano IFG, il 5.9% (n=16) IGT ed infine il 5.9% (n=16) presentavano la doppia alterazione. Non abbiamo osservato nessuna differenza significativa né per quanto riguardava la distribuzione di tali alterazioni tra i due sessi ($p=0.2$ chi-quadro test) né in base al grado di maturazione sessuale ($p=0.1$).

Durante OGTT abbiamo osservato, come atteso, che tutti i soggetti con un'alterazione del metabolismo glucidico presentavano livelli di glicemia

significativamente maggiori ($p < 0.0001$) rispetto ai soggetti con normale tolleranza ai carboidrati; considerando i tre gruppi con alterazioni, i soggetti con la doppia alterazione erano quelli che presentavano i valori glicemici significativamente maggiori rispetto agli altri due gruppi ($p = 0.005$ vs IFG e $p < 0.001$ vs IGT). (FIG.1)

I soggetti IGT avevano, invece, i livelli d'insulinemia significativamente più elevati ($p < 0.0001$ vs tutti gli altri gruppi) (FIG 2).

Gli IGT e gli IFG/IGT presentavano un indice HOMA-IR significativamente più elevato rispetto agli NGT (rispettivamente $p < 0.0001$ e $p = 0.02$), inoltre, gli IGT avevano un indice d'insulino resistenza significativamente più elevato anche rispetto agli IFG ($p = 0.004$) (FIG.3).

L'indice d'insulino sensibilità (ISI) sia degli IGT che degli IFG/IGT era significativamente più basso rispetto ai normotolleranti (IFG/IGT vs NGT $p = 0.005$ e IGT vs NGT $p = 0.003$)(FIG 4).

Considerando invece l'indice insulinogenico i soggetti IFG/IGT presentavano l'indice significativamente più basso sia rispetto ai normotolleranti ($p=0.04$) che rispetto agli IFG ($p=0.03$) (FIG 5).

Il Disposition Index degli IGT e dei soggetti con la doppia alterazione era significativamente più basso rispetto ai normotolleranti (rispettivamente $p=0.03$ e $p=0.003$) e agli IFG ($p=0.02$ e $p=0.002$) (FIG 6).

Abbiamo successivamente cercato di individuare, mediante un'analisi di regressione semplice, quali tra i principali parametri antropometrici (età, BMI Z score, CV), clinici (pressione arteriosa sistolica e diastolica) e metabolici (colesterolo HDL, trigliceridi, HOMA-IR e adiponectina) studiati correlavano con i livelli di glicemia due ore dopo il carico di glucosio ed abbiamo osservato che il BMI Z score ($p=0.04$), la circonferenza vita ($p=0.05$), la pressione diastolica ($p=0.02$), i trigliceridi ($p=0.02$), l' HOMA-IR ($p<0.001$) e l'adiponectina ($p=0.008$) correlavano significativamente (TAB 2); di tali parametri, mediante una regressione multipla stepwise, l'HOMA IR e

l'adiponectina correlavano significativamente e indipendentemente tra loro con la glicemia dopo carico ($r^2 = 0.12$; $p < 0.0001$) (TAB 3).

Sindrome metabolica

La prevalenza della SM nella nostra casistica era del 13.4% (n=36); nessuna differenza è stata osservata per quanto riguardava la prevalenza tra i due sessi (F/M: 15/21; $p = 0.2$) ed in base al grado di maturazione sessuale (puberi/prepuberi: 16/20; $p = 0.1$); inoltre, la Sindrome Metabolica risultava significativamente più frequente tra i soggetti con alterazione del metabolismo glucidico (IFG, IGT, IFG/IGT) rispetto ai normotolleranti (20/65 pari al 30.8%; $p < 0.0001$).

Mediante una regressione semplice, abbiamo osservato che tra i principali parametri antropometrici (età e CV) e metabolici (Homa-IR, adiponectina) non inclusi nella diagnosi di SM, soltanto l'Homa-IR ($p < 0.0001$) correlava significativamente con la presenza della SM (TAB 4).

Steatosi epatica non alcolica

Dei 176 pazienti (F/M: 92/84; età 13.5 ± 2.8) sottoposti ad ecografia epatica, 101 (pari al 57.4%) presentavano un quadro di NAFLD; nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata per quanto riguardava la presenza della steatosi epatica tra i due sessi (M/F: 54/47; $p=0.07$) ed in base al grado di maturazione sessuale (prepuberi/puberi: 58/43; $p=0.4$). In particolare, la steatosi lieve interessava il 33% della nostra popolazione ($n=58$), la moderata il 17.6% ($n=31$) ed infine la grave il 6.8% ($n=12$).

Il 22.8% ($n=23$) dei soggetti con steatosi presentava un'alterazione del metabolismo glucidico (IFG, IGT, IFG/IGT); nessuna differenza significativa è stata osservata nella prevalenza della steatosi epatica tra i soggetti NGT e quelli con alterazioni ($p=0.5$).

La Sindrome Metabolica era presente nel 9.7% (17/176); una significativa differenza nella prevalenza della NAFLD è stata osservata tra i soggetti con SM (82.3%; $n=14$) rispetto ai soggetti senza SM ($p=0.03$).

Mediante una regressione semplice abbiamo osservato che il BMI Z score ($p < 0.0001$), la CV ($p < 0.0001$), l' HOMA-IR ($p = 0.0006$) l' adiponectina ($p = 0.02$), i livelli di GPT ($p = 0.0001$), γ -GT ($p = 0.02$) e la presenza della SM ($p = 0.03$) correlavano significativamente con la presenza di steatosi epatica (TAB 5). Di tali parametri, mediante regressione multipla stepwise, soltanto il BMI Z score e i livelli di GPT correlavano significativamente ed indipendentemente gli uni dagli altri con la presenza della NAFLD ($r = 0.22$; $p < 0.0001$) (TAB 6).

DISCUSSIONE

I nostri dati, come la maggior parte dei dati presenti in letteratura, confermano come l'obesità già in età infantile e adolescenziale si associ a numerose complicanze (12,14,16) ed infatti nella nostra casistica di bambini ed adolescenti obesi abbiamo osservato una prevalenza delle alterazioni del metabolismo glucidico (IFG, IGT IFG/IGT) del 24.2%, della Sindrome Metabolica del 13.4% e della steatosi epatica non alcolica del 57.4%.

Per quanto riguarda le alterazioni del metabolismo glucidico, il dato da noi osservato risulta tra i più alti registrati in Italia ed infatti si discosta notevolmente dai dati presenti in letteratura, risultando il doppio della prevalenza (12.4%) descritta nel 2010 (58). e da quella registrata in Sardegna (11.4%) (57). Una possibile spiegazione di tale discrepanza potrebbe essere rappresentata dall'elevato grado di obesità dei soggetti della nostra casistica (BMI Z score 2.5 ± 0.5 ; range 1.6-4.4) rispetto alla altre due casistiche (rispettivamente BMI Z Score 2.2 ± 0.4 per la casistica dell'Italia centrale e BMI

27.5±4.4 per quella sarda) conseguente molto probabilmente all'elevata prevalenza di obesità esistente nella nostra regione rispetto alle altre regioni italiane (11) oppure al fatto che mentre nelle due casistiche di cui sopra il reclutamento è avvenuto presso degli ambulatori di pediatria, dove i pazienti venivano condotti per vari motivi di salute, i soggetti del nostro studio sono stati reclutati presso degli ambulatori dedicati alla cura dell'obesità.

L'obesità in età infanto-giovanile si associa, dunque, ad un deterioramento della normale tolleranza glucidica che identifica tre differenti fenotipi (IFG, IGT, IFG/IGT); in particolare, rispetto alle conoscenze di fisiopatologia dell'adulto (71), in questi giovani pazienti sembrerebbe che il fenotipo degli IFG, forse proprio per la giovane età, non abbia né marcati segni di insulino resistenza, né ridotta insulino sensibilità, bensì presenti un lieve deficit relativo d'insulina, tale da non ridurre a sufficienza la produzione epatica di glucosio a digiuno e conseguentemente da determinare un incremento della glicemia basale. Al contrario, negli IGT sembrerebbe esserci, in condizioni di digiuno, un

elevato grado di IR che viene compensato durante l'OGTT da un aumento della secrezione insulinica, che però non è sufficiente a riportare, dopo due ore dal carico, i valori glicemici nella norma, a causa della scarsa sensibilità insulinica periferica. Nella nostra casistica, a differenza di quanto descritto nel 2008, il difetto più marcato presente negli IGT è, dunque, la ridotta sensibilità periferica, mentre la funzione β cellulare non risulta compromessa (52). Tale discrepanza potrebbe essere dovuta alle differenti metodologie utilizzate; nel nostro studio, infatti, la funzione β cellulare è stata valutata indirettamente mediante l'utilizzo dell'indice insulinogenico, che rappresenta il rapporto tra l'incremento dell'insulinemia e della glicemia nei primi trenta minuti dal carico e che nonostante sia considerato un buon indice surrogato della prima fase di secrezione insulinica, non è comunque una metodica diretta. L'alterazione della funzione β cellulare è stata riscontrata da noi, come alterazione peculiare, nel fenotipo IFG/IGT; questi soggetti infatti, se per alcune caratteristiche sembrerebbero corrisponde ad un fenotipo caratterizzato da una sovrapposizione

tra IFG e IGT, per altre caratteristiche (quali appunto la ridotta funzione β cellulare) sono da considerarsi un fenotipo “*a se stante*” e con una omeostasi glicemica maggiormente compromessa rispetto agli altri due. Di conseguenza ne deriva che i soggetti IGT e IFG/IGT sembrerebbero probabilmente quelli più a rischio di DMT2 e per tale ragione più meritevoli di un trattamento precoce. La glicemia al 120', che è il parametro che consente di identificare tali soggetti, è predetta, nella nostra casistica, in maniera indipendente dai livelli d'insulina, resistenza e di adiponectina e non dal grado di obesità. L'HOMA-IR è risultato, quindi, anche nella nostra casistica, un forte predittore dei livelli di glicemia due ore dopo il carico a testimonianza del ruolo chiave di tale alterazione nella transizione da una normale tolleranza glucidica ad una alterata tolleranza. Inoltre, come già evidenziato in altri studi (55) anche nel nostro studio, il grado di obesità correla, mediante analisi di regressione semplice, con i livelli di glicemia al 120', ma in una regressione multipla la correlazione non si mantiene significativa probabilmente perché l'effetto dell'obesità sull'alterazione della

tolleranza glucidica potrebbe non essere diretto, ma bensì essere mediato (come detto nella parte introduttiva) dall'insulino-resistenza e dall'iperinsulinemia, nonché dai livelli di adiponectina.

La prevalenza della Sindrome Metabolica nella nostra casistica è risultata, come già detto, del 13.4%, dato questo che si pone in media con i dati presenti in letteratura riguardanti i paesi europei, mentre risulta inferiore ai dati registrati negli USA (72). A differenza però di tali dati, nella nostra casistica non abbiamo osservato nessuna differenza nella prevalenza della SM nei due sessi, né in base al grado di maturazione sessuale. La prevalenza è risultata, invece, statisticamente significativa nei soggetti con alterazione del metabolismo glicemico; questo dato probabilmente trova spiegazione nel fatto che, nella nostra casistica, il grado d'insulino resistenza sembra essere l'unico parametro in grado di correlare significativamente con la presenza della SM.

Nel nostro studio emerge, infine, una stretta relazione tra presenza di SM e NAFLD, testimoniata dal fatto che la steatosi è presente in circa 84% dei

soggetti con SM. Tali dati sono concordi con recenti dati pubblicati (73) in cui in una popolazione pediatrica è stata osservato un progressivo aumento sia dei livelli di transaminasi che della prevalenza della steatosi epatica in base al numero dei componenti della SM; secondo tali studi, il parametro che legherebbe la SM alla steatosi epatica è l'insulino resistenza. In realtà, i dati da noi registrati sono differenti in quanto, nonostante, come già detto, la prevalenza di NAFLD sia maggiore tra i soggetti con SM, né il grado di insulino resistenza, né la SM correlano indipendentemente con la presenza di steatosi, per cui probabilmente il “*trait-d'union*” tra tutte queste alterazioni potrebbe essere l'obesità che determinando un aumento della deposizione ectopica di grasso a livello epatico (steatosi) comporta un aumento dell'insulino resistenza e conseguentemente della Sindrome Metabolica.

CONCLUSIONI

Dai dati presenti in letteratura emerge chiaramente come l'obesità, anche in età infantile ed adolescenziale, determini l'insorgenza di alterazioni gravi,

quali: le alterazioni del metabolismo glucidico, la presenza di fattori di rischio cardiovascolare e/o di steatosi. Tale situazione rappresenta in atto una vera emergenza, in quanto con elevata probabilità i bambini e adolescenti obesi di oggi diventeranno adulti obesi o superobesi con complicanze croniche. Dai nostri dati sembrerebbe emergere che l'IR, tipica di questi bambini e adolescenti obesi, si associ indipendentemente da altri fattori all'insorgenza delle alterazioni del metabolismo glicemico e della SM e indirettamente, attraverso probabilmente il grado di obesità ed altri parametri, ancora da individuare, alla NAFLD. In realtà però non tutti i bambini ed adolescenti obesi sviluppano precocemente tali alterazioni; verosimilmente, quindi esisterebbe un fenotipo “più a rischio”. Tutti i nostri sforzi futuri dovrebbero, quindi, convergere per cercare di individuare dei semplici parametri clinici e/o laboratoristici che ci potrebbero consentire di individuare rapidamente questi soggetti “più a rischio” da sottoporre eventualmente a programmi di prevenzione mirati.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Dietz WH, Bellizzi MC. 1999 Introduction: the use of body mass index to assess obesity in children. *Am J Clin Nutr* 70: 123S-125S.
- 2) NCHS 2004 2000 CDC growth charts: United States. National Center For Health Statistics. Available at: <http://www.cdc.gov/growthcharts/>.
- 3) Haslam DW, James WPT 2005 Obesity. *Lancet* 366:893-899S.
- 4) Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. 1997 Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med* 337:869-873.
- 5) Baker JL, Olsen LW, Sorensen TI 2007 Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. *N Engl J Med* 357:2329-2337.
- 6) Ogden CL, Flegal KM, Carroll MD, Johnson CL 2002 Prevalence and trend in overweight among U.S. children and adolescents, 1999-2000. *JAMA* 288:1728-1732
- 7) Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, MCDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM 2006 Prevalence of overweight and obesity in United States, 1999-2004 *JAMA* 295:1549-1555
- 8) Ogden CL, Carroll MD, Flegal KM, 2008 High body index for age among U.S. children and adolescents, 2003-2006. *JAMA* 299:2401-2405
- 9) Uauy R, Albala C, Kain J 2001 obesity trends in Latin America: transition from under- to overweight. *J Nutrition* 131: 893S-899S).
- 10) Lazzeri G, Pammolli A, Pilato V, Giacchi MV Relationship between 8/9-yr-old school children BMI, parents' BMI and educational level: a cross sectional survey. *Nutr J.* 2011 Jul 19;10:76.
- 11) Baratta R, Degano C, Leonardi D, Vigneri R, Frittitta L High prevalence of overweight and obesity in 11-15 years old children from Sicily. *NMCD* 2006;16:249-255)
- 12) Gidding SS, Nehgme R, Heise C, Muscar C, Linton A, Hassink S. Severe obesity associated with cardiovascular deconditioning, high prevalence of cardiovascular risk factor, diabetes mellitus/hyperinsulinemia and respiratory compromise. *J. Pediatr* 2004;144:766-9
- 13) Falkner NH, Neumark-Sztainer D, Story M, Jeffery RW, Beuhring T, Resnick MD. Social, Educational and psychological correlates of weight status in adolescents. *Obes Res* 2001;9:32-42
- 14) Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, Allen K, Lopes M, Savoye M, Morrison J, Sherwin RS, Caprio S. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med.* 2004 Jun 3;350(23):2362-74.
- 15) Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. 1997 Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med* 337:869-873
- 16) Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman III WP, Tracy RE, Wattigney WA 1998 Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. *N Engl J Med* 338:1650-1656).
- 17) Ten S, Maclaren N 2004 Insulin resistance syndrome in children. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2526-2539)
- 18) Lee JM. Insulin resistance in children and adolescents. *Rev Endocr Metab Disord.* 2006 Sep;7(3):141-7. Review.
- 19) Ferranini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G 1997 Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for the study of insulin resistance (EGIR). *J Clin Invest* 100:1166-1173.
- 20) Sinaiko AR, Steinberger J, Moran A, Prineas RJ, Vessby B, Basu S, Tracy R, Jacobs Jr DR 2005 Relation of body mass index and insulin resistance to cardiovascular risk factors, inflammatory factors and oxidative stress during adolescence. *Circulation* 111: 1985-1991
- 21) Arslanian SA. Clamp techniques in paediatrics: what have we learned? *Horm Res* 2005;64 (suppl 3);16-24

- 22) Bergman RN, minimal model: perspective from 2005. *Horm Res* 2005;64 (suppl 3):8-15
- 23) LS Conwell, SG Trost, WJ Brown, JA Batch. 2004 Indexes of Insulin Resistance and secretion in Obese Children and Adolescents. *Diabetes Care*. Vol 27, 2:314-319
- 24) Matsuda M, De Fronzo RA: Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes care* 22:1462-1470, 1999
- 25) Gungor N, Saad R, Janosky J, Arslanian S: validation of surrogate estimates of insulin sensitivity and insulin secretion in children and adolescents. *J Pediatr* 144:47-55, 2004)
- 26) Yeckel CW, Weiss R, Dziura J, Taksali SE, Dufour S, Burgert TS, Tamborlane WV, Caprio S 2004 Validation of insulin sensitivity indices from oral glucose tolerance test parameters in obese children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 89:1096-1101
- 27) Arslanian S, Suprasongsin C, Janosky JE. Insulin secretion and sensitivity in black versus white prepubertal healthy children. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(6):1923-7.
- 28) Arslanian S, Suprasongsin C. Differences in the in vivo insulin secretion and sensitivity of healthy black versus white adolescents. *J Pediatr* 1996;129(3):440-3.
- 29) Goran MI, Bergman RN, Cruz ML, Watanabe R. Insulin resistance and associated compensatory responses in African- American and Hispanic children. *Diabetes Care* 2002;25(12):2184-90)
- 30) Cook JS, Hoffman RP, Stene MA, Hansen JR, Effects of maturational stage on insulin sensitivity during puberty. *J. Clin Endocrinol Metab* 1993;77(3):725-30
- 31) Amiel SA, Sherwin RS, Simonson DC, Lauritano AA, Tamborlane, WV. Impaired insulin action in puberty. A contributing factor to poor glycemic control in adolescents with diabetes. *N Engl J Med* 1986;315(4):215-9)
- 32) Lee JM, Okumura MJ, Davis MM, Herman WH, Gurney JG. Prevalence and determinants of insulin resistance among U.S. adolescents: a population based study. *Diabetes Care* 2006;29 (11):2427-32).
- 33) Taksali S, Caprio s., Dziura J, Dufour S, Cali A, Goodman R, Papademetris X, Burget T, Pierpont B, Savoye M, Seyal A, weiss R 2008 High visceral and low abdominal subcutaneous fat stores in the obese adolescent. A determinant of an adverse metabolic phenotype. *Diabetes* 57:367-371
- 34) Bacha F, Saad R, Gungor N, Janosky J, Arslanian SA. Obesity, regional fat distribution, and syndrome X in obese black versus white adolescents: race differential in diabetogenic and atherogenic risk factors. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(6):2534-40
- 35) Weiss R, Taksali Se, Dufour S, yeckel CW, Papademetris X Cline G, Tamborlane WV, Dziura J, Shuman GI, Caprio S 2003 Prediabetes in obese youth: a syndrome of impaired glucose tolerance, severe insulin resistance, and altered myocellular and abdominal fat partitioning. *Lancet* 362:951-957);
- 36) Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB 2002 Dysfunction in mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 51:2944-2950
- 37) Deric TW, Davidson CJ, Schenk S, Byerley LO, Coyle EF 2003 High-fat diet elevates resting intramuscular triglyceride concentration and whole-body lipolysis during exercise *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286:E217-E225
- 38) MI Goran, BA Gower, Longitudinal study on pubertal insulin resistance. *Diabetes* 2001;50 (11):2444-50.
- 39) Hoffman RP, Vicini P, Sivitz WI, Cobelli C. Pubertal adolescent male-female differences in insulin sensitivity and glucose effectiveness determined by the one compartment minimal model. *Pediatr Res* 2000;48(3):384-8.
- 40) Travers SH, Jeffers BW, Bloch CA, Hill JO, Eckel RH. Gender and Tanner stage differences in body composition and insulin sensitivity in early pubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80(1):172-8
- 41) Moran A, Jacobs DR Jr, Steinberger J, Hong CP, Prineas R, Luepker R. Insulin resistance during puberty: results from clamp studies in 357 children. *Diabetes* 1999;48(10):2039-44.

- 42) Ball GD, Huang TT, Gower BA, Cruz ML, Shaibi GQ, Weigensberg MJ, et al. Longitudinal changes in insulin sensitivity, insulin secretion, and beta-cell function during puberty. *J Pediatr* 2006;148(1):16–22
- 43) Arslanian SA, Bacha F, Saad R, Gungor N. Family history of type 2 diabetes is associated with decreased insulin sensitivity and an impaired balance between insulin sensitivity and insulin secretion in white youth. *Diabetes Care* 2005;28(1):115–9)
- 44) Goran MI, Coronges K, Bergman RN, Cruz ML, Gower BA. Influence of family history of type 2 diabetes on insulin sensitivity in prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(1):192–5).
- 45) Lee JM, Okumura MJ, Davis MM, Herman WH, Gurney JG. Prevalence and determinants of insulin resistance among U.S. adolescents: a population based study. *Diabetes Care* 2006;29 (11):2427–32.
- 46) Moran A, Jacobs DR, Jr., Steinberger J, Hong CP, Prineas R, Luepker R, et al. Insulin resistance during puberty: results from clamp studies in 357 children. *Diabetes* 1999;48(10):2039–44)
- 47) Veening MA, Van Weissenbruch MM, Delemarre-Van De Waal HA. Glucose tolerance, insulin sensitivity, and insulin secretion in children born small for gestational age. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(10):4657–61)
- 48) Hofman PL, Regan F, Jackson WE, Jefferies C, Knight DB, Robinson EM, et al. Premature birth and later insulin resistance. *N Engl J Med* 2004;351(21):2179–86.
- 49) Gungor N, Bacha F, Saad R, Janosky J, arslanian S 2005 Youth type 2 diabetes: insulin resistance, β -cell failure, or both? *Diabetes care* 28:638-644
- 50) Bacha F, Gungor N, Lee S, Arslanian SA 2009 In vivo insulin sensitivity and secretion in obese youth: what are the differences between normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance and type 2 diabetes? *Diabetes Care* 32:100-105)
- 51) Weiss R, Capri S, Trombetta M, Taksali Se, Tamborlane WV, Bonadonna R 2005, β cell function across the spectrum of glucose tolerance in obese youth. *Diabetes* 54: 1735-1743).
- 52) Cali AM, Man Cd, Cobelli C, Diziura J, Seyal A, Shaw M, Allen K, chen S, Caprio S 2009 Primary defects in β -cell function further exacerbated by worsening of insulin resistance mark the development of impaired glucose tolerance in obese adolescents. *Diabetes care* 32:456-461)
- 53) Duncan GE 2006 Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose levels among adolescents: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Arch Pediatr Adolesc Med* 160:523-528
- 54) Baranowski T, Cooper DM, Harrell J, Hirst K, Kaufman FR, Goran M, Resnicow K 2006 The Stopp-T2DM Prevention Study group. Presence of diabetes risk factor in a large U.S. eighth-grade color. *Diabetes care* 29:212-217).
- 55) R Sinha, G Fisch, B Teague, WV Tamborlane, B Banyas, K. Allen, M savoye, V Rieger, S Taksali, G Barbetta, RS Sherwin, and S Caprio. 2002 Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity. 2002 *N Engl J Med*, 11. 346:802-810.
- 56) Invitti C, Guzzaloni G, Gilardini L, Morabito F., Viberti G Prevalence and concomitants of glucose intolerance in European obese Children and Adolescents. 2003 *Diabetes care*, 26 (1)118-124
- 57) Cambuli VM, Incani M, Pilia S, Congiu T, Cavallo MG, Cossu E, Sentinelli F, Mariotti S, Loche S, Baroni MG Oral glucose tolerance test in Italian overweight/obese children and adolescents results in a very high prevalence of impaired fasting glycaemia, but not of diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2009 Sep;25(6):528-34)
- 58) Brufani C, Ciampalini P, Grossi A, Fiori R, Fintini D, Tozzi A, Cappa M, Barbetti F. Glucose tolerance status in 510 children and adolescents attending an obesity clinic in Central Italy. *Pediatr Diabetes*. 2010 Feb;11(1):47-54.)
- 59) Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, Allen K, Lopes M, Savoye M, Morrison J, Sherwin RS, Caprio S. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*. 2004 Jun 3;350(23):2362-74)
- 60) Angulo P 2002 Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 346:1221-1231.

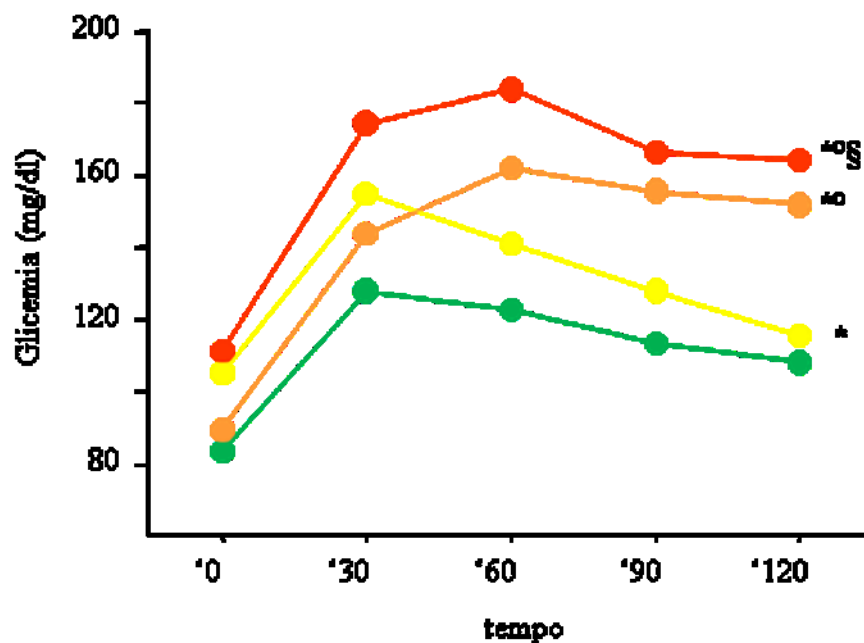
- 61) Schwimmer JB, Behling C, Newbury R, Deutsch R, Nievergelt C, Schork NJ, Lavine JE 2005 Histopathology of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 42:641-649.
- 62) Chan DF, Li AM, Chu Wc, Chan MH, Wong EM, Liu EK, Chan IH, Yi J, Lam CW, Fok TF, Nelson EA: Hepatic steatosis in obese Chinese children. *Int J Obes relat Metab disord* 2004, 28:1257-63.
- 63) Franzese A, Vajro O, Argenziano A, Puzziello A, Iannucci M, Saviano MC, Brunetti F, Rubino A. Liver involvement in obese children. Ultrasonography and liver enzyme levels at diagnosis and during follow-up in an Italian population. *Dig Dis Sci* 1997, 42:1428-1432
- 64) Bedogni G, Gastaldelli A, Manco M, De Col A, Agosti F, Tiribelli C, Sartorio A. Relationship between fatty liver and glucose metabolism: A cross-sectional study in 571 obese children. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010 Sep 27
- 65) Cacciari E, Milani S, Balsamo A, Dalmacco F, De Luca F, Chiarelli F, Pasquino AM, Tonini G, Vanelli M. Italian cross-sectional growth charts for height, weight and BMI (6-20y). *Eur J Clin Nutr* 56: 171-180, 2002
- 66) Cole TJ et al establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: International survey. *BMJ* 2000;320 (7244):1240-1243
- 67) American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus *Diabetes Care January 2011 34:S62-S69*
- 68) Efendic S, Luft R, Wajngot A. Aspects of the pathogenesis of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 1984;5:395-410.
- 69) R Weiss, A. Cali, J Dziura, T S Burgert, WV Tamborlane and S. Caprio. Degree of Obesity and Glucose Allostasis are Major Effectors of Glucose Tolerance Dynamics in Obese Youth. 2007 *Diabetes Care* (7)-30;1845-1849.
- 70) Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD 1986 Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 292:13-15)
- 71) Faerch K, Borch-Johnsen K, Holst JJ and Vang A. Pathophysiology and aetiology of impaired fasting glycemia and impaired glucose tolerance: does it matter for prevention and treatment of type 2 diabetes? 2009. *Diabetologia* 52:1714-1723.
- 72) Lee S, Bacha F, Gungor N, Arslanian S. Comparison of different definition of pediatric metabolic syndrome: relation to abdominal adiposity, insulin resistance, adiponectin and inflammatory biomarkers. *J pediatr* 2008;152:177-184
- 73) Schwimmer JB, Pardee PE, Lanive JE, Blumkin AK, Cook S. Cardiovascular Risk Factor and the Metabolic Syndrome in Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Circulation* 2008;118:277-283.

FIGURE

TAB 1: Caratteristiche generali della popolazione (n=269)

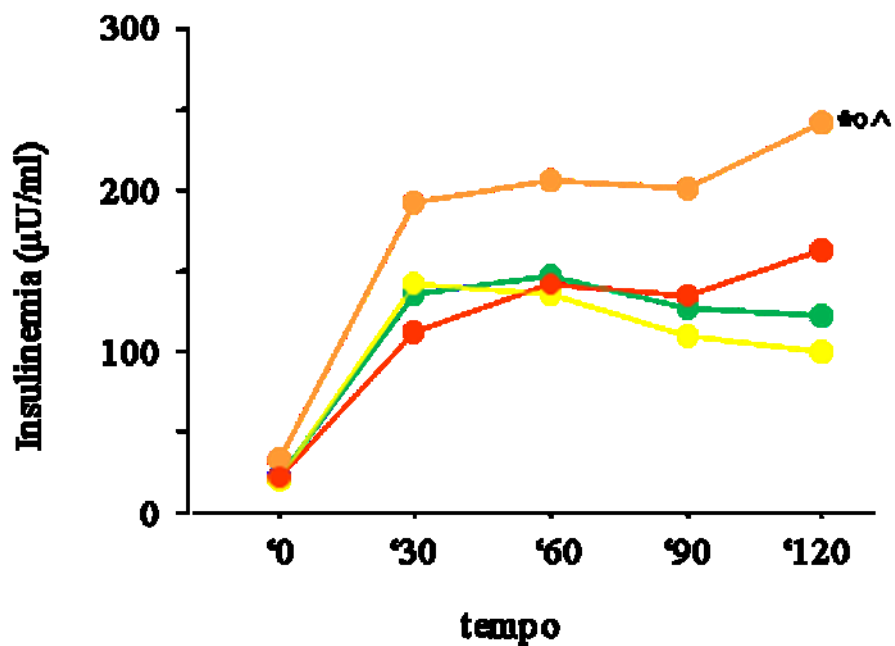
	Media±DS	range
F/M	138/131	-
Prepuberi/puberi	151/118	-
Età (anni)	12.9±2.7	7-18
Peso (kg)	86.4±22.3	42.0-168.4
BMI Z score	2.5±0.5	1.6-4.4
CV (cm)	106.5±13.6	73.0-158.0
PAS (mmHg)	111.8±12.8	80-145
PAD (mmHg)	70.2±8.8	40-95
Colesterolo totale (mg/dl)	157.1±30.7	80-278
Colesterolo HDL (mg/dl)	40.0±10.2	20-70
Trigliceridi (mg/dl)	93.4±48.2	23-299
Adiponectina (µg/ml)	11.4±4.8	2.1-29.6

FIG.1: Andamento delle glicemie durante OGIT nei soggetti normoglicemici (NGT; linea verde) e nei soggetti con alterazioni glicemiche (IFG, linea gialla; IGT, linea arancione; IFG/IGT, linea rossa)



*p<0.0001 vs NGT; †p=0.005 vs IFG; §p<0.001 vs IGT

FIG.2: Andamento delle insulinemie durante OGTT nei soggetti normoglicemici (NGT; linea verde) e nei soggetti con alterazioni glicemiche (IFG, linea gialla; IGT, linea arancione; IFG/IGT, linea rossa)



***p<0.0001 vs NGT; °p <0.0001 vs IFG; ^ p<0.0001 vs IFG/ IGT**

FIG.3: Differenze dell'indice HOMA-IR tra normotolleranti (NGT; colonna verde) e soggetti con alterazioni glicemiche (IFG, colonna gialla; IGT, colonna arancione; IFG/IGT, colonna rossa)

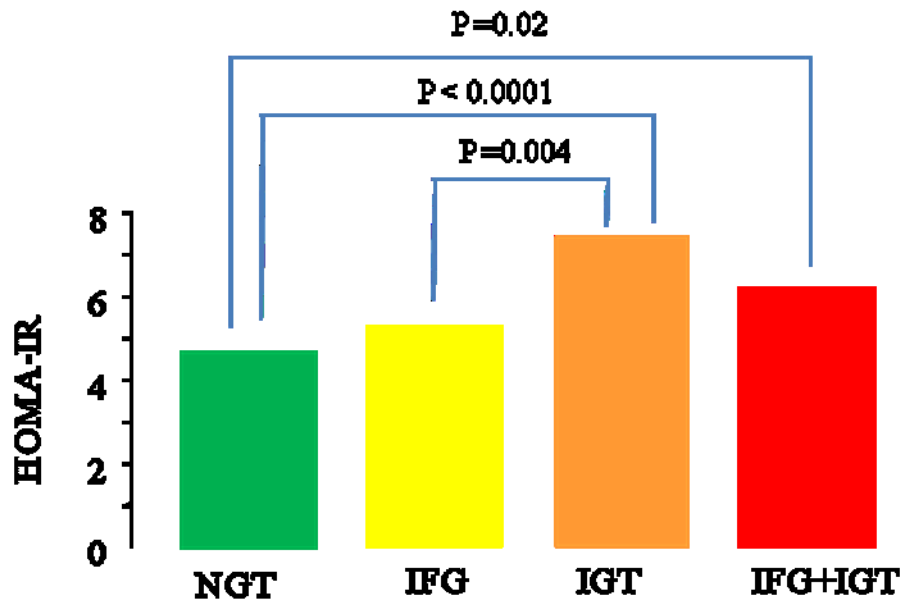


FIG.4: Differenze dell'indice ISI tra normotolleranti (NGT; colonna verde) e soggetti con alterazioni glicemiche (IFG, colonna gialla; IGT, colonna arancione; IFG/IGT, colonna rossa)

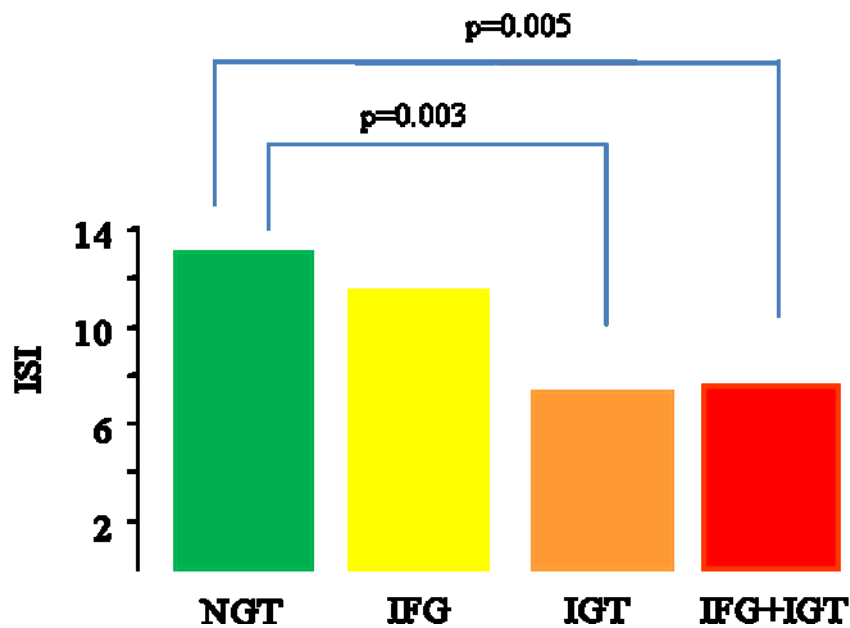


FIG.5: Differenze dell'indice insulinogenico tra normotolleranti (NGT; colonna verde) e soggetti con alterazioni glicemiche (IFG, colonna gialla; IGT, colonna arancione; IFG/IGT, colonna rossa)

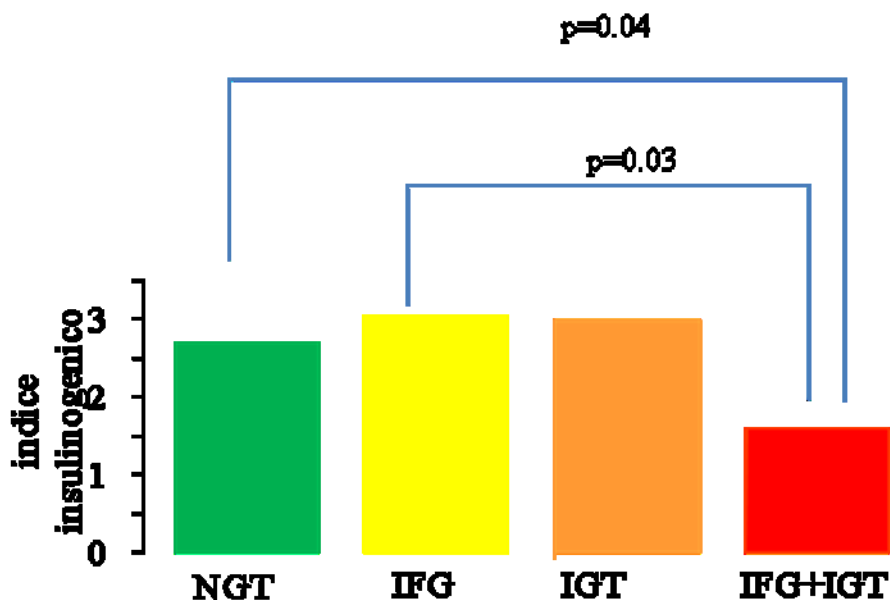
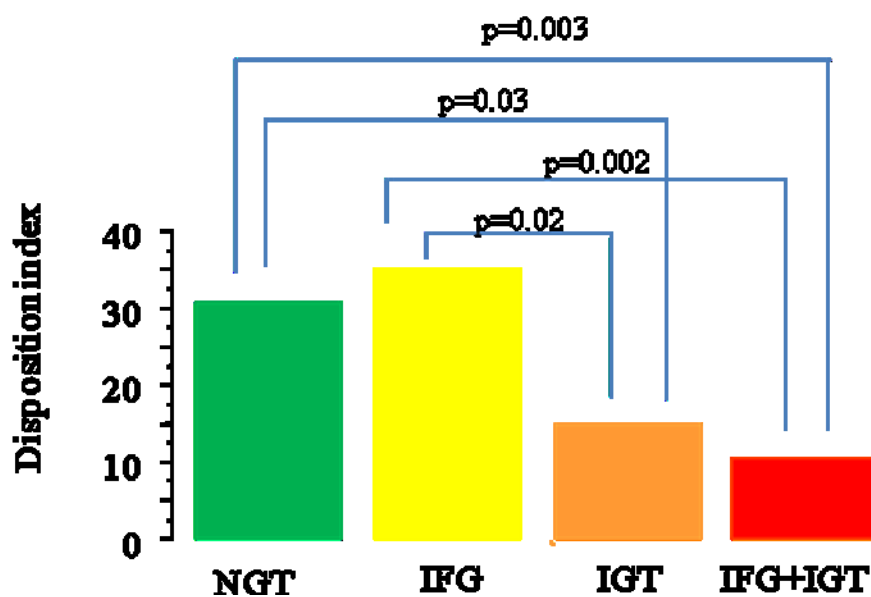


FIG.6: Differenze del Disposition Index tra normotolleranti (NGT; colonna verde) e soggetti con alterazioni glicemiche (IFG, colonna gialla; IGT, colonna arancione; IFG/IGT, colonna rossa)



TAB 2: Relazione tra la glicemia dopo carico orale con 75 g di glucosio (variabile dipendente) e principali parametri antropometrici, clinici e metabolici (regressione semplice).

Variabili			
Dipendente	Indipendenti	r²	p
Glicemia 120' (mg/dl)	Età	1.9	0.8
	BMI Z score Cacciari	0.015	0.04
	Circonferenza vita	0.015	0.05
	Pressione arteriosa sistolica	0.001	0.5
	Pressione arteriosa diastolica	0.021	0.02
	Colesterolo HDL	0.012	0.07
	Trigliceridi	0.019	0.02
	Homa- IR	0.080	<0.001
	Adiponectina	0.045	0.008

TAB 3: Variabili indipendentemente associate alla glicemia dopo carico (variabile dipendente) in una regressione multipla stepwise corretta per i valori di BMI Z score, circonferenza vita, pressione diastolica e trigliceridi.

Variabili			
Dipendente	Indipendenti	r²	p
Glicemia 120' (mg/dl)	Homa-IR	0.116	<0.0001
	Adiponectina		

TAB 4: Relazione tra presenza di Sindrome Metabolica e principali parametri antropometrici, clinici e metabolici (regressione semplice).

Variabili			
Dipendente	Indipendenti	r²	p
	Età	0.002	0.4
Presenza SM	Circonferenza vita	0.010	0.1
	Homa- IR	0.035	0.003
	Adiponectina	0.003	0.38

TAB 5: Relazione tra presenza di steatosi epatica e principali parametri antropometrici, clinici e metabolici (regressione semplice).

Variabili			
Dipendente	Indipendenti	r²	p
Presenza di steatosi epatica	Età	0.001	0.7
	BMI Z score Cacciari	0.183	<0.0001
	Circonferenza vita	0.159	<0.0001
	Homa- IR	0.065	0.0006
	GOT	0.011	0.17
	GPT	0.080	0.0001
	γ-GT	0.051	0.02
	Adiponectina	0.039	0.02
	Presenza SM	0.027	0.03

TAB 6: Variabili indipendentemente associate alla presenza di steatosi epatica (variabile dipendente) in una regressione multipla stepwise corretta per i valori di circonferenza vita, HOMA-IR, adiponectina, γ -GT, presenza di SM

Variabili			
Dipendente	Indipendenti	r^2	p
Presenza di steatosi epatica	BMIZ score	0.217	<0.0001
	GPT		