

REVIEW

ATEROSCLEROSI DAL BAMBINO ALL'ADULTO

Atherosclerosis from childhood to adulthood

Con questo titolo il Centro per lo Studio delle Dislipidemie Infantili del Dipartimento di Pediatria della "Sapienza" Università di Roma ha organizzato annualmente un convegno itinerante per l'Italia con lo scopo di diffondere nella classe medica la cultura dell'aterosclerosi e della prevenzione cardiovascolare in età pediatrica.

FRANCESCO MARTINO, CHIARA COLANTONI, ELIANA MARTINO, CRISTINA ZANONI, FRANCESCO MASSIMO PERLA

Dipartimento di Pediatria e Neuropsichiatria Infantile "Sapienza", Università di Roma

SUMMARY

Atherosclerosis starts in the early stages of development and growth. Genetic and environmental factors may interact in specific periods of life (prenatal, perinatal, early childhood), giving rise to altered developmental plasticity and epigenetic modifications with abnormal phenotypic expression of genetic information without change in the nucleotide sequence of DNA. Nutritional imbalances can cause intra-uterine growth retardation (IUGR), decreased gestational age, low birth weight and too postnatal catch-up growth. The IUGR, in later years, may correlate with nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. Fetal exposure to maternal hypercholesterolemia has been associated with increased risk and progression of atherosclerosis. Maternal smoking during pregnancy gives rise to altered fetal renal volume and, subsequently, to arterial hypertension and low levels of HDL - C. In hypercholesterolemic and/or obese children oxidative stress activates both platelets and monocytes forming proinflammatory and proatherogenic substances, resulting in endothelial dysfunction, decreased flow-mediated dilation, and increased carotid intima-media thickness. Primary prevention of atherosclerosis, anchored to the classic risk factors, should be implemented early. It's necessary to identify those at high risk, apparently healthy, and treat them in advance with healthy eating, physical activity, healthy lifestyle, with the possible addition of nutraceuticals and, finally, with drugs if the risk profiles were not normalized. Fundamental is the restoration of endothelial function in the reversible phase of atherosclerosis. Epigenetics could provide novel and early markers to identify earlier those at risk and thereby develop innovative therapies, early intervention and specific nutrition during critical periods.

Keywords: *Atherosclerosis, children, epigenetics, nutrition, oxidative stress, prevention.*

Introduzione

L'aterosclerosi è considerata un processo cronico infiammatorio-degenerativo che si caratterizza per la comparsa, nelle arterie elastiche e muscolari, di ispessimenti focali sclerojalini o sclerolipidici

Indirizzo per la corrispondenza

Prof. Francesco Martino
Dipartimento di Pediatria e Neuropsichiatria
Infantile
"Sapienza" Università di Roma
Viale Regina Elena, 324 - 00161 Roma
E-mail: francesco.martino30@tin.it

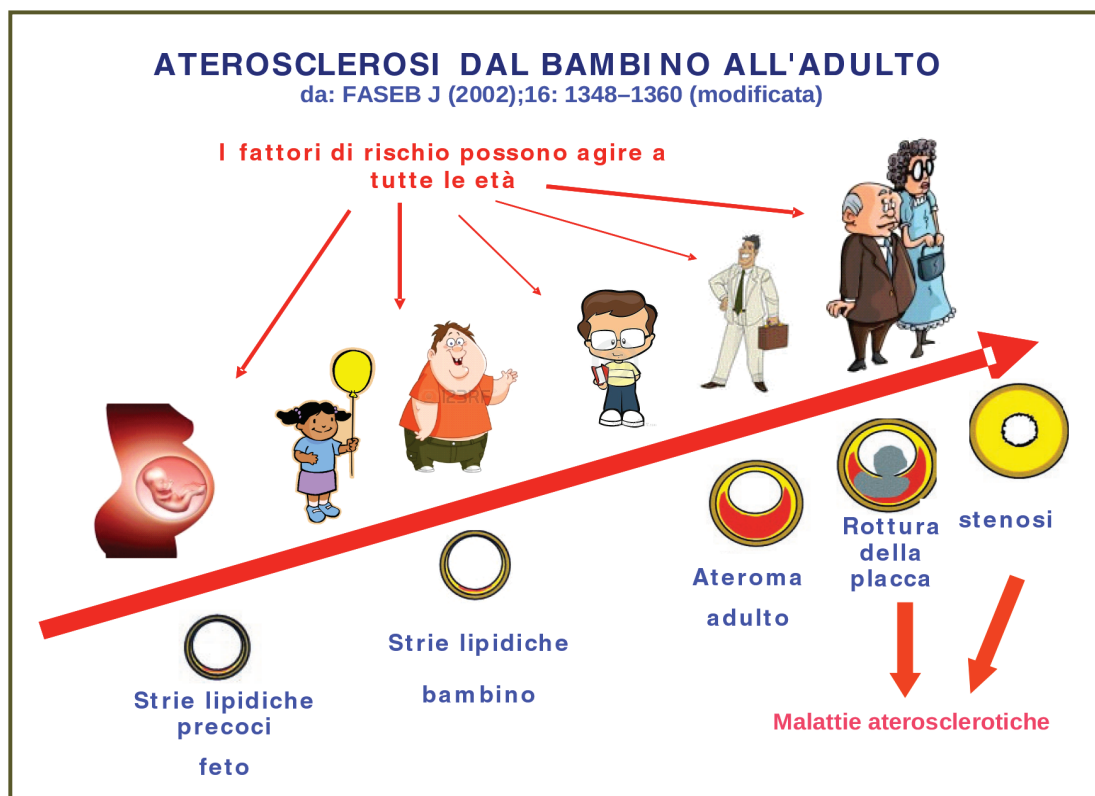


Figura 1

intimo-mediali responsabili di quadri anatomo-clinici, che costituiscono nei paesi industrializzati la più frequente causa di morte. Nonostante l'aterosclerosi si manifesti clinicamente in età adulta, numerosi studi hanno dimostrato come essa abbia una lunga fase asintomatica di sviluppo e possa cominciare il suo lento ma inesorabile danno della parete arteriosa anche prima della nascita. Strie lipidiche, infatti, contenenti caratteristici accumuli di lipidi e monociti/macrofagi, sono osservabili nell'aorta di feti umani prematuri. Un ispessimento intimale è stato osservato, inoltre, nelle arterie coronariche fetali. Il periodo intrauterino è una fase critica che può influenzare il rischio di patologie cronico-degenerative che si svilupperanno nelle età successive. Eventi patogenetici della vita fetale possono essere responsa-

bili di una aumentata suscettibilità all'aterosclerosi sia nell'infanzia che durante l'adolescenza (1).

In bambini e giovani adulti le strie lipidiche possono evolvere e dare origine a lesioni aterosclerotiche più avanzate (2-4) (*Figura 1*).

La progressione della patologia aterosclerotica può essere influenzata dai clas-

Tabella 1 - Fattori di rischio per malattie cardiovascolari.

Dislipidemia
Obesità
Diabete
Iperensione arteriosa
Vita sedentaria
(Predominanti nell'età adulta)
Fumo
Alcool
Stress
Familiarità di MCV precoci in parenti di 1° e 2° grado

sici fattori di rischio che promuovono l'infiammazione e la rottura delle placche (5) (Tabella 1).

Epigenetica e aterosclerosi

Negli ultimi decenni sono stati compiuti numerosi studi epidemiologici e sperimentali che supportano L'“ipotesi delle origini dello sviluppo della salute e della malattia”. Condizioni diverse durante la gravidanza, quali restrizione calorica o proteica, somministrazione di glucocorticoidi, insufficienza placentare, malattie della madre tipo il diabete ecc, possono dare origine nella prole, in età adulta, a ipertensione, diabete, cancro, malattie cardiovascolari (MCV) e renali. Nonostante l'aumento dei livelli sierici di LDL-Colesterolo (LDL-C) siano la causa più importante nell'insorgenza della patologia aterosclerotica, fattori eziologici e patogenetici, di origine sia genetica che ambientale, possono interagire tra loro in determinati periodi critici della vita (fetale, neonatale, dello svezzamento, dell'adiposity rebound, dell'adolescenza), creando i presupposti per la formazione di markers precoci di rischio cardiovascolare, che possono protrarsi nel tempo e dare origine alle manifestazioni cliniche (infarto e ictus cerebrale) (6). Le alterazioni epigenetiche sembrano svolgere un ruolo chiave influenzando lo sviluppo successivo della struttura e funzione di diversi organi e apparati. La crescita fetale è un processo complesso che dipende sia dal corredo genetico che dall'ambiente intrauterino. Un adeguato apporto nutritivo durante la gravidanza e l'allattamento è necessario per il normale sviluppo del feto/neonato. Non solo gli squilibri nutrizionali prima della nascita, dovuti a sovrappeso, obesità e diabete della madre, ma anche quelli pre-periconcezionali sia materni che paterni, possono dare origine ad un ritar-

do di crescita intrauterino (IUGR), ad una diminuita età gestazionale, ad un basso peso alla nascita e, infine, ad una eccessiva crescita di recupero dopo la nascita. In tale ottica si inserisce lo studio dei meccanismi epigenetici, individuati recentemente, come possibili agenti in grado di modificare il rischio di progressione dell'aterosclerosi precoce.

L'epigenetica rappresenta un fenomeno di alterata espressione fenotipica ereditabile, senza variazioni nella sequenza nucleotidica del DNA. Le modificazioni epigenetiche controllano lo sviluppo embrionale, la differenziazione, la programmazione e la riprogrammazione delle cellule staminali, possono essere influenzate da stimoli esogeni (obesità, diabete, fumo

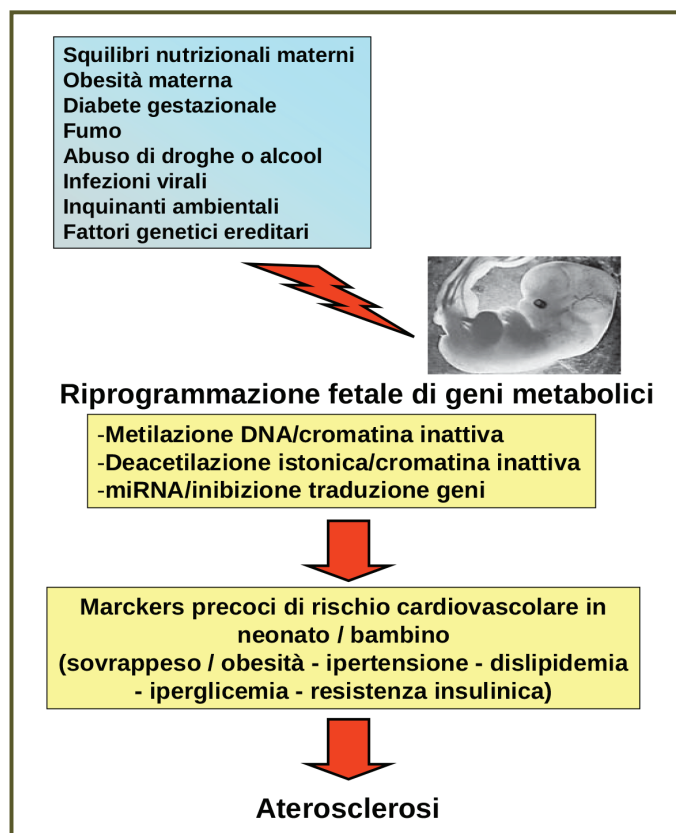


Figura 2 - Possibili alterazioni epigenetiche coinvolte nell'eziopatogenesi dell'aterosclerosi.

ecc.) e spesso culminano nell'inizio della malattia (7). Le più frequenti modificazioni epigenetiche nei mammiferi includono la metilazione del DNA e le modificazioni degli istoni, con conseguente cambiamento della struttura della cromatina e del pathway dei piccoli RNA non codificanti (*Figura 2*).

La metilazione del DNA rappresenta il meccanismo di regolazione più compreso ed è finalizzato al mantenimento di uno schema di espressione genica. Si verifica, attraverso il legame di un gruppo metile in posizione 5 dell'anello della citosina presente in sequenze dinucleotidiche CpG del DNA, ad opera delle DNA-metiltransferasi che sono in grado sia di metilare che demetilare, così da rendere la modificazione reversibile. In generale, bassi livelli di metilazione del DNA (ipometilazione) sono associati ad una maggiore attività del gene e alti livelli di metilazione (ipermetilazione), invece, ad una repressione genica (8).

Alterazioni della metilazione del DNA sono state correlate a diverse patologie, quali autismo, infertilità maschile, sindrome di Rett, di Prader-Willi, di Angelman, alcune forme di cancro e, recentemente, sviluppo di MCV, come lo scompenso cardiaco, e delle componenti della sindrome metabolica (SM) (9).

Un altro meccanismo epigenetico è rappresentato dalle modificazioni che possono intervenire a carico degli istoni (proteine basiche che si aggregano formando ottameri intorno a cui il DNA si avvolge dando origine al nucleosoma).

Ciascun istone può subire numerose alterazioni ad opera di specifici enzimi che provocano acetilazione, metilazione e fosforilazione. Tali modificazioni avvengono a livello delle code N-terminali degli istoni alterando la formazione della cromatina. Generalmente l'acetilazione rende la cromatina trascrizionalmente attiva, mentre i

nucleosomi deacetilati sono caratteristici della cromatina condensata e trascrizionalmente inattiva (10).

È di recente l'interesse per i microRNA (brevi sequenze endogene di RNA non codificante) in grado di regolare l'espressione genica principalmente a livello post-trascrizionale e solo occasionalmente interagendo con specifici target nucleari. I miRNA svolgono un ruolo determinante nella fisiologia e fisiopatologia vascolare sin dalle prime fasi dello sviluppo embrionale. Infatti numerosi studi sperimentali, condotti su modelli animali, hanno dimostrato il loro intervento nella modulazione di geni coinvolti sia nello sviluppo fisiologico dell'apparato cardiovascolare che nei meccanismi fisiopatologici di malattie cardiovascolari (rimodellamento e insufficienza cardiaca, aritmie, fibrosi, aterosclerosi e ischemia miocardica e cerebrale).

I miRNA sono in grado di interferire con le varie fasi della aterogenesi (11-13):

- alcuni possono condizionare l'infiltrazione leucocitaria nella parete vasale, processo cardine nella genesi della patologia vascolare;
- i miR-33a/b modulano l'efflusso di colesterolo dai macrofagi e i miR 27-b regolano il metabolismo lipidico;
- altri, come i miR-21, sono implicati nella modulazione della risposta endoteliale allo shear stress, determinando la fosforilazione e l'attivazione della ossido nitrico-sintasi endoteliale (eNOS) con aumento della produzione di ossido nitrico (NO);
- i miR-21 e miR-145 giocano un ruolo chiave nello sviluppo della neointima, modulando i processi di migrazione e proliferazione delle cellule muscolari lisce;
- i miR-22 e i miR-222 sono coinvolti nella regolazione della proliferazione delle cellule endoteliali;

- altri miRNA sono coinvolti nell'infiammazione vasale, condizionando la differenziazione e la modulazione delle cellule infiammatorie;
- molti miRNA svolgono un ruolo importante nel processo di angiogenesi e neoangiogenesi;
- i miR-155, infine, modulano l'espressione del recettore di tipo 1 dell'angiotensina.

Data la stabilità nel siero dei microRNA, una loro alterata espressione (ridotta o aumentata), può riflettere la presenza di una patologia. È stato dimostrato, tra l'altro, che i microRNA possono essere utilizzati come biomarkers non invasivi per il rilevamento precoce di aterosclerosi coronarica asintomatica in bambini obesi con SM; ciò potrebbe rivestire importanza per la diagnosi prematura di MCV in uno stadio asintomatico (14).

Interazioni tra epigenetica e ambiente

I cambiamenti epigenetici rappresentano una risposta biologica a fattori di stress ambientale (obesità, diabete, fumo etc.) e possono essere trasmessi alla prole influenzando anche il loro rischio aterosclerotico. L'alimentazione è un importante modificatore del profilo epigenetico, anche prima della nascita (15). Infatti squilibri nutrizionali paterni prima del concepimento e materni durante la gravidanza possono predisporre il feto al rischio di malattie cardiovascolari e metaboliche in età adulta (16).

Prove importanti, in tal senso, sono venute anche dagli studi condotti su soggetti che durante l'inverno del 1944-45 erano stati esposti in utero alla carestia olandese. Questi, dopo 6 decenni di vita, presentavano metilazioni differenti di diversi geni

coinvolti nella regolazione metabolica rispetto a soggetti non esposti a carestia nel periodo prenatale. Essi infatti andavano incontro ad aumentato rischio sesso-dipendente di iperlipidemia, obesità, mortalità per infarto del miocardio e ictus durante la vita adulta (17).

Sono numerose le ricerche che suggeriscono che la maggior parte delle malattie cronico-degenerative dell'età adulta, come l'aterosclerosi, originano da un'alterata crescita e sviluppo intrauterini. È ampiamente provato, infatti, che bambini con basso peso alla nascita sono a maggiore rischio di malattie coronariche, ipertensione, dislipidemia e resistenza insulinica nelle età successive.

Uno studio condotto su gemelli omozigoti, dotati dello stesso corredo genetico perché nati da un'unica cellula uovo fecondata da un solo spermatozoo, che si sviluppano in ambienti uterini diversi (due cordoni ombelicali e due sacche amniotiche), presentano differenze nella metilazione del DNA e possono avere evoluzione diversa nel rischio di MCV. Tra l'altro lo studio conferma che i nati con basso peso o prematuri hanno maggiore rischio di sviluppo successivo di MCV e diabete (18).

Importanti studi clinici, inoltre, dimostrano una forte associazione tra basso peso alla nascita e resistenza insulinica (19). L'insulino-resistenza potrebbe portare, oltre che a diabete di tipo 2 (DM2) e dislipidemia, anche a steatosi epatica non alcolica (NAFLD). La NAFLD può, nel tempo, evolvere a steatoepatite non alcolica (NASH), e tutto ciò è correlato allo sviluppo della SM (20). La presenza di NAFLD contribuisce, in modo indipendente, a modificazioni vascolari morfologiche e funzionali (21). Il fegato ha una centralità nell'infiammazione sistemica e nelle sue variazioni determinando una progressione della malattia vascolare e dell'aterosclero-

si. Tutti i pazienti con NAFLD hanno una maggiore incidenza di eventi cardiovascolari indipendentemente dagli altri fattori di rischio, per cui devono essere presi in considerazione per una prevenzione primaria.

Il PREMA study (The Prediction of Metabolic Syndrome in Adolescence Study) dimostra che più basso è il peso alla nascita maggiore è il rischio di SM in età adolescenziale (22). La rapida crescita del Body Mass Index (BMI) in bambini di alto peso alla nascita si associa positivamente ad ipertensione nei maschi ma non nelle femmine (23). È possibile che ciò sia dovuto alle variazioni dei livelli sierici dell'acido urico e la differenza tra i due sessi potrebbe essere legata agli effetti uricosurici degli estrogeni. L'iperuricemia attiva il sistema renino-angiotensina con conseguente diminuzione di sintesi di NO, vasocostrizione renale e ritenzione di sodio. Tra l'altro l'acido urico ha effetti proinfiammatori sulla muscolatura liscia vasale attraverso l'attivazione di un fattore di crescita piastrinico. Recentemente è stato dimostrato che l'acido urico contribuisce alla disfunzione endoteliale e predice l'insorgenza di diabete in soggetti ipertesi. Nei bambini e negli adolescenti obesi, aumentati livelli di acido urico si associano a sindrome metabolica e ad aterosclerosi carotidea (24). Si può, quindi, ipotizzare un possibile ruolo dell'acido urico come fattore di rischio per aterosclerosi precoce.

L'ambiente intrauterino svolge un ruolo importante nel regolare lo sviluppo di ipertensione. L'esposizione del feto all'ipercolesterolemia materna è stata associata ad un maggior rischio di formazione e progressione dell'aterosclerosi sia nell'uomo che in modelli sperimentali (25). In questo processo sono implicati vari meccanismi:

- ipometilazione dei geni coinvolti nella suscettibilità all'aterosclerosi (aumentato);

- ipermetilazione dei geni coinvolti nella resistenza all'aterosclerosi (diminuzione).

Bambini nati da madri ipercolesterolemiche durante la gravidanza presentano a livello dell'aorta addominale lesioni aterosclerotiche rispetto a quelli nati da madri normocolesterolemiche (4). Infatti l'ipercolesterolemia materna durante la gravidanza può dare origine nel plasma fetale ad ipercolesterolemia e perossidazione lipidica con conseguente disfunzione endoteliale, aumentato stress ossidativo e formazione di lesioni aterosclerotiche primordiali a livello delle arterie fetali (25). Recentemente è stato anche osservato, in modelli animali, che durante alcune fasi della gravidanza, l'ipercolesterolemia materna può influenzare il metabolismo fetale degli steroli.

Alla nascita vi è un'augmentata suscettibilità ai classici fattori di rischio cardiovascolare con differenze persistenti nell'espressione di geni aterogeni. L'alimentazione materna, quindi, può condizionare lo stato epigenetico del genoma fetale che può permanere anche in età adulta. È stato anche dimostrato che una dieta ipoproteica prenatale si associa ad una alterata metilazione del DNA dei geni coinvolti nel metabolismo dei lipidi (26). Micronutrienti, come il folato e il consumo di alcool svolgono un ruolo importante nella regolazione dell'epigenoma alterando l'attività della metiltransferasi e la metilazione del DNA (27). L'epigenetica, inoltre, gioca un ruolo importante nel controllo dei processi infiammatori scatenati da stimoli aterogeni nella parete vasale, aggravando, così, la degenerazione aterosclerotica delle arterie coinvolte (28).

Anche l'abitudine al fumo della madre può provocare cambiamenti epigenetici nel genoma fetale. Bambini esposti al fumo materno vanno incontro ad aumentato ri-

schio di patologie cronico-degenerative in età adulta, se confrontati con i controlli. Il fumo materno durante la gravidanza può dare origine anche ad un diminuito volume renale del feto con conseguente riduzione nefronica e ipertensione in età successiva. I nati da madri fumatrici presentano, all'età di 5 anni, aumento dell'ispessimento medio-intimale carotideo (IMT) e riduzione della elasticità arteriosa (29). Il fumo materno, inoltre, si associa ad una diminuita sintesi di HDL colesterolo (HDL-C) nei figli, con conseguente riduzione delle sue proprietà protettive nei riguardi dell'aterosclerosi (diminuzione di efflusso di colesterolo dai macrofagi, di sintesi endoteliale di ossido nitrico, di inibizione di perossidazione lipidica, e aumento dell'attivazione piastrinica e monocitica e dell'adesione leucocitaria). Bassi livelli di HDL-C si correlano a maggiore progressione delle lesioni aterosclerotiche (30). Anche l'esposizione ad inquinanti ambientali (metalli pesanti quali nichel, cadmio e arsenico e radiazioni ionizzanti o raggi ultravioletti) può dare origine a disfunzione endoteliale con alterazione della permeabilità, adesione e migrazione sottoendoteliale leucocitaria e successiva formazione di cellule schiumose, *primum movens* dell'evoluzione aterosclerotica (31).

Stress ossidativo e aterosclerosi

Fino a qualche tempo fa la comprensione delle alterazioni in età pediatrica delle MCV era limitata principalmente a studi autoptici e reperti patologici in adolescenti e giovani adulti morti per cause accidentali. Recenti progressi nello sviluppo di tecniche non invasive hanno reso possibile rilevare precoci cambiamenti (anatomici, fisiologici, meccanici, proinfiammatori e protrombotici) della parete vasale, che

riflettono una situazione subclinica di aterosclerosi (32). I primi ispessimenti della parete arteriosa (IMT), possono essere osservati con una tecnica di ultrasuoni ad alta risoluzione. Gli IMT, che precedono di decenni gli eventi clinici cardiovascolari, sono considerati un marker di aterosclerosi sistemica. Le arterie più comunemente esaminate negli adulti, sono le carotidi interna e comune in vicinanza del bulbo carotideo e il bulbo carotideo stesso. Gli IMT negli adulti sono associati a lesioni, arteriograficamente documentate, ed alla presenza di fattori di rischio cardiovascolare. Tale tecnica non invasiva è stata utilizzata, negli ultimi anni, in età pediatrica, per esaminare l'associazione dei fattori di rischio per MCV con la struttura e la funzione della parete arteriosa. In particolare è stato osservato che gli IMT si correlano positivamente con i livelli della colesterolemia totale e con il BMI (33).

La dilatazione flussomediata dell'arteria brachiale (flow mediated dilation- FMD) costituisce la tecnica di scelta per lo studio della funzione endoteliale in adulti e bambini e rappresenta il gold standard per la ricerca sulla funzionalità dell'endotelio in fisiopatologia cardiovascolare (34). Essa misura le variazioni di diametro dell'arteria brachiale in risposta all'aumento dello shear stress prodotto da una breve ischemia meccanica. Una significativa riduzione della FMD, associata ad un aumentato stress ossidativo, è stata dimostrata in bambini ipercolesterolemici (35). Numerosi studi sperimentali e clinici hanno suggerito che un aumento dello stress ossidativo vasale rappresenta un importante meccanismo che porta ad una ridotta disponibilità endoteliale di NO in risposta ai fattori di rischio cardiovascolare e, successivamente, promuove lo sviluppo e la progressione dell'aterosclerosi. Lo stress ossidativo svolge un ruolo chiave nel modulare la

bioattività e la generazione di NO, potente vasodilatatore e molecola anti-aggregante prodotto dalle cellule endoteliali.

L'endotelio vasale, a cui negli ultimi anni è stata riconosciuta l'entità di organo, in condizioni fisiologiche sintetizza fattori vaso-protettivi, vaso-dilatatori, antitrombotici, antiinfiammatori, inibitori della crescita cellulare come l'ossido nitrico. Invece, quando viene attivato da fattori di rischio cardiovascolare (dislipidemia, obesità, ipertensione, diabete, fumo, stress ecc.), produce sostanze vaso-costrittrici, proinfiammatorie, protrombotiche, promotrici della crescita cellulare, con conseguente disfunzione endoteliale. È in queste condizioni che si instaura una attivazione cellulare sia piastrinica che monocitica, come dimostrano importanti e recenti ricerche. In uno studio effettuato su bambini ipercolesterolemici è stato dimostrato che l'aumentato stress ossidativo provoca un'attivazione piastrinica con conseguente rilascio nel sangue di elevate quantità di una proteina proaterogena e proinfiammatoria - la sCD40L - correlata in modo significativo al colesterolo LDL (36). L'aumentata espressione di sCD40L facilita la formazione delle strie lipidiche. La stimolazione delle piastrine produce, inoltre, il rilascio di isoprostani contribuendo ad un loro aumento in circolo. Studi sperimentali condotti su modelli animali suggeriscono che la Nicotinamide-adenine-dinucleotide-phosphate-oxidase (NADPH) svolge un ruolo fondamentale nella modulazione del tono arterioso, assumendo un ruolo patogenetico nelle alterazioni anatomiche e funzionali della parete arteriosa in bambini con aterosclerosi precoce (37). In uno studio multicentrico nazionale è stato osservato che i soggetti affetti da granulomatosi cronica X linked con deficit congenito di gp91phox (una delle 5 subunità catalitiche della NADPHossidasi) presen-

tano una diminuzione significativa dello stress ossidativo e un aumento della FMD (38). Si dimostra così che la NADPHossidasi è implicata nella modulazione del tono vasale, favorendo la vasocostrizione. La gp91phox, mediata dallo stress ossidativo, può avere un ruolo patogenetico nelle modificazioni anatomo-funzionali delle pareti arteriose in bambini con aterosclerosi precoce (35). Inoltre, in bambini con coesistenti fattori di rischio (ipercolesterolemia e obesità), è stato osservato un aumento di Nox2 e stress ossidativo, responsabili delle manifestazioni iniziali della malattia aterosclerotica (39). Esiste quindi una stretta relazione tra vasodilatazione e stress ossidativo (37). Un ulteriore studio ha dimostrato che in bambini ipercolesterolemici si ha una significativa attivazione dei monociti con conseguente aumento di una glicoproteina, la mieloperoxidasi, che interviene nei processi ossidativi attraverso la produzione di acido ipocloroso, promuovendo la formazione di foam cells, (40).

Prevenzione dell'aterosclerosi in età pediatrica

La prevenzione primaria delle malattie cronico-degenerative non comunicabili (MCV, cancro, malattie neurodegenerative) e di quelle comunicabili (infezioni) deve essere il principale obiettivo. Ancel Keys, circa 60 anni fa, intuì per primo che esiste una stretta correlazione tra apporto di grassi con la dieta, colesterolemia e MCV (41). Il Seven Countries Study ha confermato questa intuizione (42). Infatti la campagna per abbassare la colesterolemia negli Stati Uniti ha ridotto significativamente la mortalità per MCV. Il Framingham Heart Study è stato il primo studio prospettico ad evidenziare che l'iperlipidemia, l'ipertensione, l'obesità, il diabete e il

fumo sono i principali fattori determinanti di aterosclerosi e di conseguenti MCV (43). Altri studi, tra cui il Muscatine Study, il Bogalusa Heart Study, il Cardiovascular risk in Young Finns Study, il Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA), hanno dimostrato che esiste un tracking della colesterolemia dall'età pediatrica a quella dell'adulto e una aggregazione familiare dei fattori di rischio e che obesità ed ipercolesterolemia sono predittivi di danno vascolare già nei giovani adulti (44-46).

Un sano stile di vita è fortemente associato ad un basso rischio cardiovascolare (47). A livello di popolazione è necessario promuovere e diffondere corrette abitudini di vita (come l'attività fisica) ed alimentari (assunzione limitata di calorie, grassi saturi e sale, aumento di frutta, verdure e fibre), che possono avere importanza anche nel modulare positivamente le alterazioni epigenetiche. La dieta mediterranea (patrimonio culturale immateriale dell'umanità dal novembre 2010) è il modello alimentare più efficace nel modificare i fattori di rischio rispetto a diete con basso contenuto di grassi e se integrato con olio extra vergine d'oliva o noci, è in grado di ridurre in modo significativo il rischio di eventi cardiovascolari nei soggetti ad alto rischio. Essa è caratterizzata dall'uso di amidi e cibi vegetali, (pane, pasta, verdure, insalate, legumi, frutta), di olio d'oliva, come fonte principale di grassi, di pesce, di una quantità bassa o moderata di latticini, carne (preferibilmente bianca), e uova. Tra l'altro, gli antiossidanti, derivati soprattutto dai cibi vegetali e dall'olio di oliva, come vitamina E, beta-carotene, vitamina C, flavonoidi ed altri composti fenolici, sembrano avere un ruolo importante nella riduzione dell'ossidazione delle lipoproteine a bassa densità e quindi nella prevenzione dell'aterosclerosi. Il consumo

di frutta e vegetali si associa ad un ridotto rischio di malattie cardiovascolari. Recentemente è stato dimostrato che la dieta mediterranea rappresenta un intervento nutrizionale efficace nella riduzione del rischio cardiovascolare anche in bambini ipercolesterolemici (48). I risultati di una metanalisi suggeriscono, tra l'altro, che l'aderenza alla dieta mediterranea è associata ad una più bassa prevalenza e progressione della SM con favorevoli effetti sui singoli componenti e può essere facilmente adottata da tutti i gruppi di popolazione e di culture diverse (49). Durante l'infanzia e l'adolescenza la nutrizione può svolgere un ruolo importante nel prevenire o favorire lo sviluppo delle MCV nell'età adulta.

Nutrizione del bambino

Studi sperimentali condotti su animali e studi osservazionali umani hanno dimostrato che un alterato equilibrio dei macronutrienti di nutrizione materna in gravidanza e la composizione corporea della madre stessa, influenzano negativamente il programming fetale con importanti effetti a breve e lungo termine sulla prole (50, 51). In epoca post-natale l'allattamento al seno ridurrebbe del 10% i livelli di colesterolo totale (CT), del 25% l'incidenza di MCV e del 13-14% la mortalità per queste ultime; tutto ciò sarebbe dovuto ad una crescita più contenuta dei bambini. Il latte materno, rispetto al latte formulato, contiene una maggiore quantità di acidi grassi polinsaturi (PUFA), in particolare l'acido docosaesanoico (DHA). L'allattamento esclusivo al seno promuove la crescita ottimale, la resistenza alle infezioni, la salute cardiovascolare e lo sviluppo neurocognitivo (52). Il latte materno, inoltre, non stimola la sintesi dell'Insulin Growth Factor-1 (IGF-1), per cui nei primi mesi di

vita si ha una minor crescita del neonato, esercitando, così, un effetto di prevenzione globale del rischio di obesità (53). Altra tappa fondamentale dell'alimentazione è il divezzamento (periodo altamente critico per l'outcome futuro del bambino), durante il quale si hanno variazioni nutrizionali ed energetiche. Secondo le linee guida dell'ESPGHAN Committee on Nutrition del 1994 non è indicata alcuna restrizione del contenuto di lipidi nel primo anno di vita (salvo rare eccezioni), in quanto una dieta povera in grassi può compromettere l'accrescimento del bambino (54). Per la prima volta nel 1992 e successivamente nel 1998 e nel 2008, il National Cholesterol Education Panel Program per l'età pediatrica ha fornito raccomandazioni dieteti-

che per ridurre il rischio cardiovascolare. Nel 2011 un gruppo di esperti ha pubblicato una relazione di sintesi che ha fornito evidenze sull'efficacia di interventi dietetici per ridurre il rischio cardiovascolare in età pediatrica, ponendo l'accento sull'assunzione calorica dei grassi (30% delle calorie totali giornaliere) e sulla ripartizione percentuale dei singoli lipidi (grassi saturi 7-10%, monoinsaturi 10%, polinsaturi 10%, evitando i grassi trans). Proteine e carboidrati dovrebbero rappresentare rispettivamente il 15-20% e il 50-55% delle calorie giornaliere. L'apporto di colesterolo deve essere inferiore ai 300 mg/die. Tali raccomandazioni sono per bambini d'età superiore ai due anni (55). Questo approccio dietetico non determina influenze negative sui pattern di crescita staturale e ponderali e puberali (Tabella 2).

Tabella 2 - Raccomandazioni per la prevenzione dell'aterosclerosi in età pediatrica.

Durante la gravidanza:
 Adeguato apporto calorico e di micro e macronutrienti da parte della madre
 Corretto stile di vita (evitare fumo, alcool, uso di droghe)
 Opportuna attività fisica
 In epoca neonatale:
 Promozione dell'allattamento al seno
 Svezzamento intorno al 5°-6° mese
 Nel 1° anno di vita:
 Non è indicata la restrizione dell'apporto lipidico con la dieta
 Un consumo elevato di proteine può porre le basi per un "adiposity rebound precoce"
 Dopo il 2° anno di vita:
 - Rispettare i reali fabbisogni nutrizionali del bambino per sostenere una crescita ottimale
 - Garantire un adeguato apporto calorico e una corretta ripartizione dei nutrienti:
 - Grassi totali: 30% delle calorie (suddivisi in parti uguali tra acidi grassi saturi, monoinsaturi e polinsaturi);
 - Il contenuto di colesterolo introdotto con l'alimentazione dovrebbe essere al di sotto dei 300 mg/die;
 - Proteine: 15-20% delle calorie;
 - Carboidrati: 55% delle calorie.
 Introduzione moderata di zuccheri semplici e sale.
 Favorire e incoraggiare l'attività fisica indispensabile per un normale ed equilibrato sviluppo delle capacità fisiche, intellettive e psicologiche del bambino e del ragazzo.

Attività fisica

L'attività fisica (AF), regolare e costante, intesa come "educazione alla non sedentarietà" e non tanto come pratica sportiva agonistica o non agonistica, è alla base della prevenzione delle patologie

cardiovascolari. L'AF attenua l'aumento di rigidità arteriosa che si verifica con l'età. Studi osservazionali trasversali, infatti, hanno dimostrato che i soggetti fisicamente più attivi hanno arterie meno rigide rispetto a quelli sedentari (56).

Inoltre, studi di intervento dimostrano che l'esercizio aerobico migliora l'elasticità arteriosa specie se iniziato in giovane età. Un regolare programma di AF riduce la pressione e la rigidità arteriosa, il grasso addominale, e aumenta la fitness cardiorespiratoria in bambini obesi prepuberi (57).

L'AF migliora il metabolismo ossidativo cellulare, la funzionalità cardio-circolatoria e quella respiratoria e brucia meglio le

calorie in eccesso introdotte con l'alimentazione.

Il gioco e l'AF, tra l'altro, sono indispensabili per un normale ed equilibrato sviluppo delle capacità fisiche, intellettive e psicologiche del bambino e del ragazzo. Inoltre i bambini che li praticano, come da recenti studi (58), presentano:

- livelli meno elevati di colesterolo totale (CT) e trigliceridi (TG) e più elevati di HDL-C;
- minore frequenza di sovrappeso;
- livelli meno elevati di pressione arteriosa;
- aumento della sensibilità all'insulina ed incremento della tolleranza al glucosio;
- minore rischio di diventare fumatori.

Da ciò emerge l'importanza di favorire ed incoraggiare l'AF nei bambini e negli adolescenti e a tale scopo è importante la sensibilizzazione ed il coinvolgimento della famiglia e delle istituzioni (59). L'AF da sola potrebbe non determinare la diminuzione di peso, e quindi non ridurre lo stress ossidativo nei bambini in sovrappeso. Le cellule adipose, infatti, producono adipochine che incrementano lo stress ossidativo e promuovono così il processo di aterosclerosi. L'esercizio fisico migliora la fitness cardiorespiratoria e l'iperinsulismo ma non le concentrazioni di adipochine. È necessario quindi associare una dieta appropriata, dal momento che l'AF e il decremento ponderale riducono il rischio cardiovascolare con meccanismi distinti ma sinergici (60).

Conclusioni

Allo stato attuale le evidenze scientifiche indicano che la prevenzione primaria dell'aterosclerosi, ancorata ai classici fattori di rischio cardiovascolare, deve essere attuata il più precocemente e in-

tensivamente possibile. Corrette abitudini alimentari e l'AF sono fondamentali per la prevenzione primaria. Inoltre, fattori di rischio per MCV, quali: alterazioni metaboliche (dislipidemie, diabete), meccanismi trombotogenici, ipertensione, forniscono la spiegazione più razionale per l'individuazione dei soggetti portatori, apparentemente sani, per avviarli ad un programma di follow-up e trattamento. Nel follow-up del bambino dislipidemico, l'Expert Panel suggerisce di seguire inizialmente le indicazioni della dieta Step 1 per un periodo di 6 mesi. Se tale approccio risulta insufficiente nel migliorare il profilo lipidico, si deve passare ad un regime più restrittivo (dieta Step 2), che si differenzia dalla dieta Step 1 per un apporto di lipidi totali inferiore al 28%, di grassi saturi inferiore al 7% e di colesterolo inferiore ai 200 mg/die. La restrizione dell'intake lipidico, a partire dal secondo anno di età, rappresenta il primo passo fondamentale per il trattamento dell'ipercolesterolemia, garantendo, però, un apporto quotidiano di lipidi non inferiore al 25% delle calorie totali. Nel caso in cui i livelli di LDL-C risultino ancora elevati dopo questo intervento dietetico (in particolare LDL-C >190 mg/dl e nessun fattore di rischio o >160 mg/dl con familiarità positiva o altri fattori di rischio per MCV) si valuterà l'opportunità dell'impiego di integratori alimentari e/o della terapia farmacologica (61).

Infatti la normalizzazione della funzione endoteliale nella fase reversibile dell'aterosclerosi può rivestire un'importanza fondamentale nella prevenzione delle MCV in età pediatrica. L'aggiunta di nutraceutici alla dieta, può migliorare significativamente gli squilibri metabolici, ridurre la pressione sanguigna e il peso corporeo. Il glucomannano ad alta viscosità ha dimostrato una capacità ipolipidemizzante da 3 a 5 volte maggiore di quella dello psyllium,

del guar e dei prodotti d'avena (62). Nel DM2 migliora il controllo glicemico, quello lipidico e la pressione sistolica (63). È stato poi ipotizzato che il gel formato dal glucomannano aumenti la viscosità della massa del cibo ingerito, interferendo sul suo assorbimento a livello dell'intestino tenue, diminuendo così il glucosio post-prandiale e la secrezione di insulina e contribuendo a migliorare, nel lungo termine, l'insulino-resistenza. È stato dimostrato, inoltre, che il glucomannano può inibire l'assorbimento del colesterolo nel tratto digiunale e l'assorbimento degli acidi biliari nell'ileo, migliorando i livelli plasmatici di CT, LDL-C e ApoB, anche in soggetti ipercolesterolemici in età pediatrica (64, 65).

Una metanalisi di 14 studi (N=531) ha dimostrato che il glucomannano sembra avere benefici effetti sul CT, LDL-C, TG, peso corporeo, glicemia a digiuno, ma non sull'HDL-C o sulla pressione arteriosa (66). Sulla base delle evidenze scientifiche l'European Food Safety Authority (EFSA) ha dichiarato il glucomannano efficace nel modulare la colesterolemia (67). Inoltre, recentemente, è stato dimostrato che il glucomannano esplica anche una importante azione a livello ormonale tramite l'aumento di ormoni della sazietà (CCK, PEPTIDE YY, GLP1 e leptina) e la diminuzione degli ormoni agenti sul senso della fame (greлина, GIP). Con tali azioni riesce a combattere sia la "satiety" (sazietà) che la "satiation" (saziamento) (68).

L'uso di integratori dietetici, come steroli o stanoli vegetali, può avere effetti ipocolesterolemizzanti a breve termine nei bambini con ipercolesterolemia familiare (69). Un altro composto naturale in grado di ridurre i livelli del colesterolo è l'estratto di lievito di riso rosso (*Monascus purpureus*), che contiene la monacolina, un inibitore della HMG-CoA reduttasi. Numerosi studi hanno dimostrato, infatti, un ef-

fetto ipolipidemizzante delle preparazioni commerciali di questo supplemento. Una metanalisi che ha coinvolto 9.625 pazienti in 93 trials randomizzati ha mostrato una riduzione del CT, del LDL-C e dei TG e un aumento medio di HDL-C (70). L'estratto di lievito di riso rosso associato a policosanoli è stato utilizzato per la prima volta, con successo, in bambini ipercolesterolemici, ottenendo una riduzione significativa sia del CT (18.5%) che del LDL-C (25,1%) e dell'apoproteina B (25.3%) (71).

Allo stato attuale il trattamento farmacologico con statine e farmaci antiipertensivi dovrebbe essere considerato in casi selezionati a rischio molto elevato e che non rispondono a modifiche dello stile di vita. L'utilizzo della metformina per prevenire il DM2 non è stato formalmente studiato nella popolazione pediatrica. L'uso di statine in età pediatrica è in aumento e la letteratura ne riporta dati di sicurezza ed efficacia al punto che sono state inserite come farmaci di prima scelta nel trattamento delle ipercolesterolemie del bambino dall'American Academy of Pediatrics (AAP) e dall'American Heart Association (AHA) (72, 73). In Italia questa categoria di farmaci non è univocamente autorizzata all'uso pediatrico. L'inserimento delle statine fra i farmaci di prima scelta per il trattamento delle ipercolesterolemie del bambino da parte dell'AAP ha provocato numerose controversie poiché gli studi effettuati fino ad ora hanno incluso un numero limitato di pazienti, valutandone sicurezza ed efficacia solo a breve-medio termine (durata media massima del follow-up 4,5 anni) (74); mancano dati di efficacia a lungo termine sulla riduzione della mortalità e morbilità per MCV e sulla riduzione della mortalità totale.

L'unica categoria di pazienti per cui esistono evidenze dell'efficacia della terapia sulla progressione del danno endoteliale

in età prepuberale è la ipercolesterolemia familiare. A causa del loro meccanismo d'azione le statine potrebbero teoricamente interferire con la produzione degli ormoni steroidei e, riducendo la quota di lipoproteine con funzione di trasporto delle vitamine liposolubili, provocare deficit vitaminici severi. Nonostante ciò, sono in genere ben tollerate e gli effetti avversi (principalmente disfunzione epatica e miotossicità), nella maggior parte dei casi, si risolvono nel corso del primo mese di terapia senza la necessità di interrompere il trattamento. Oggi sembra prudente riservare l'uso delle statine ai bambini con ipercolesterolemia genetica e livelli estre-

mamente elevati di LDL-C associati ad altri fattori di rischio. Tuttavia gli interventi attuali ignorano, in gran parte, il ruolo che ha lo sviluppo nei primi anni di vita nel modulare il rischio di malattia, concentrando l'attenzione sugli screening o sul trattamento dei soggetti con patologia (75).

L'epigenetica rappresenta una nuova sfida che potrebbe fornire nuovi marcatori specifici di rischio cardiovascolare e individuare più precocemente i soggetti portatori. Si potrebbero così sviluppare nei periodi critici terapie innovative e specifici interventi nutrizionali precoci per combattere il rapido incremento delle malattie croniche non comunicabili.

Glossario

Aterosclerosi: processo cronico degenerativo caratterizzato dalla comparsa, nelle arterie elastiche e muscolari, di ispessimenti focali sclerojalini o sclerolipidici intimo-mediali.

Programming fetale: processo per cui uno stimolo o un insulto durante la vita fetale può condizionare sfavorevolmente la crescita e la funzione di organi e apparati correlandosi con l'insorgenza di patologie cronico-degenerative.

Epigenetica: fenomeno di alterata espressione fenotipica ereditabile, che si verifica senza variazioni nella sequenza nucleotidica del DNA.

Metilazione del DNA: è un meccanismo epigenetico ben definito coinvolto nella regolazione di una grande varietà di processi biologici, tra cui l'espressione genica, la stabilità del genoma e l'imprinting dei genitori.

Istoni: proteine basiche che si aggregano formando ottameri intorno a cui si avvolge il DNA dando origine al nucleosoma. Ciascun istone può subire numerose alterazioni ad opera di specifici enzimi che provocano acetilazione, metilazione e fosforilazione. Tali modificazioni avvengono a livello delle code N-terminali alterando la formazione della cromatina.

microRNA: brevi sequenze endogene di RNA non codificante (lunghe da 19 a 25 nucleotidi a singolo filamento) che agiscono come regolatori dell'espressione genica prevalentemente a livello post trascrizionale. I miRNA svolgono un ruolo determinante nella fisiologia e fisiopatologia vascolare sin dalle prime fasi dello sviluppo embrionale e sono in grado di interferire con le varie fasi dell'aterogenesi.

Dislipidemie: alterazioni qualitative/quantitative dei lipidi circolanti nel sangue.

Resistenza insulinica: ridotta sensibilità delle cellule dell'organismo all'azione dell'insulina.

NAFLD: non alcoholic Fatty Liver Disease (steatosi epatica non alcolica).

NASH: non alcoholic steatohepatitis (steatoepatite non alcolica).

Stress ossidativo: è la conseguenza diretta dell'azione dannosa esercitata da quantità abnormemente elevate di radicali liberi sulle cellule e sui tessuti dell'organismo. Può influenzare l'attività e la generazione di ossido nitrico (NO), una potente molecola vasodilatatrice prodotta dalle cellule endoteliali. Lo stress ossidativo è considerato uno dei meccanismi patogenetici fondamentali della disfunzione endoteliale e dell'aterosclerosi.

NOX2: core catalitico della NADPH ossidasi, uno dei più importanti produttori cellulari di anione superossido

Disfunzione endoteliale: è caratterizzata da vasocostrizione, aggregazione piastrinica, adesione leucocitaria e proliferazione delle cellule muscolari lisce ed è correlata ad una ridotta biodisponibilità di NO, ad un eccesso ossidativo e ad un'umentata azione di vasocostrittori endoteliali.

IMT: intima media thickness (ispessimento medio-intimale della parete arteriosa). Riflette una situazione subclinica di aterosclerosi sistemica.

FMD : Flow-mediated dilation (vasodilatazione mediata dell'arteria brachiale). Costituisce la tecnica di scelta per lo studio della funzione endoteliale.

Adiposity rebound: età alla quale si raggiunge il valore minimo prima dell'aumento fisiologico del BMI. Mediamente corrisponde all'età di 5-6 anni. Un incremento dei valori di BMI prima dei 5 anni (adiposity rebound precoce) aumenta il rischio di obesità.

RIASSUNTO

L'aterosclerosi origina nelle prime fasi dello sviluppo e della crescita. Fattori genetici e ambientali possono interagire in particolari periodi della vita (prenatale, perinatale, primissima infanzia) dando origine ad alterata plasticità dello sviluppo e a modificazioni epigenetiche con anormale espressione fenotipica di informazioni genetiche senza cambiamenti nella sequenza nucleotidica del DNA. Squilibri nutrizionali possono provocare ritardo di crescita intrauterino (IUGR), diminuita età gestazionale, basso peso alla nascita e eccessiva crescita di recupero post-natale. L'IUGR, nelle età successive, può correlarsi con steatosi epatica non alcolica e sindrome metabolica. L'esposizione del feto a ipercolesterolemia materna si associa ad aumentato rischio e progressione di aterosclerosi. Il fumo materno in gravidanza dà origine ad alterato volume renale fetale e, in seguito, a ipertensione arteriosa e bassi livelli di HDL-C. In bambini ipercolesterolemici e/o obesi lo stress ossidativo attiva sia le piastrine che i monociti formando sostanze proinfiammatorie e proaterogene, con conseguente disfunzione endoteliale, riduzione della flussimetria mediata, e aumento dello spessore medio-intimale carotideo. La prevenzione primaria dell'aterosclerosi, ancorata ai classici fattori di rischio, deve essere attuata precocemente. È necessario individuare i soggetti ad alto rischio, apparentemente sani, e trattarli preventivamente con sana alimentazione, attività fisica, corretto stile di vita, con eventuale aggiunta di nutraceutici e, infine, con farmaci se i profili di rischio non si sono normalizzati. Fondamentale è il ripristino della funzione endoteliale nella fase reversibile dell'aterosclerosi. L'epigenetica potrebbe fornire nuovi marcatori per individuare più precocemente i soggetti a rischio e sviluppare così terapie innovative e specifici interventi precoci nutrizionali nei periodi critici.

Parole chiave: *Aterosclerosi, bambino, epigenetica, nutrizione, stress ossidativo, prevenzione.*

Bibliografia

1. Falinski W, and Napoli C. Pathophysiological events during pregnancy influence the development of atherosclerosis in humans. *Trends Cardiovasc. Med* 1999; 9: 205-14.
2. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youths (PDAY) Research Group. Natural history of aortic and coronary atherosclerotic lesions in youth. Findings from the PDAY study. *Arterioscler. Thromb.* 1993; 13: 1291-8.
3. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, et al. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N. Engl. J. Med.* 1998; 338: 1650-6.
4. Napoli C, Glass CK, Witztum JL, et al. Influence of maternal hypercholesterolaemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesions in childhood: Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. *Lancet* 1999; 354: 1234-41.
5. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 115-26.
6. Dawber TR. The Framingham Study: the ep-

- idemiology of atherosclerotic disease. Cambridge, Mass.: Harvard University Press. 1980.
7. Nistala R, Hayden MR, VG, DeMarco, et al. Prenatal Programming and Epigenetics in the Genesis of the Cardiorenal Syndrome. *Cardiorenal Med.* 2011; 1: 243-54.
 8. Lorenzen JM, Martino F, Thum T. Epigenetic modifications in cardiovascular disease. *Basic Res Cardiol.* 2012; 107: 245-55.
 9. Napoli C, Infante T, Casamassimi A. Maternal-foetal epigenetic interactions in the beginning of cardiovascular damage. *Cardiovasc Res.* 2011; 92: 367-74.
 10. Kim JK, Samaranyake M, Pradhan S. Epigenetic mechanisms in mammals. *Cell Mol Life Sci.* 2009; 66: 596-612.
 11. Harris TA, Yamakuchi M, Ferlito M, et al. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105: 1516-21.
 12. Kasey C, Vickers, Bassem M, Shoucri, Michael G, Levin, et al. MicroRNA-27b is a regulatory hub in lipid metabolism and is altered in dyslipidemia. *Hepatology.* 2013; 57: 533-42.
 13. Sun X, Belkin N, Feinberg MW. Endothelial microRNAs and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2013; 15: 372.
 14. Omran A, Elimam D, He F, et al. Potential role of blood microRNAs as non-invasive biomarkers for early detection of asymptomatic coronary atherosclerosis in obese children with metabolic syndrome. *Medical Hypotheses.* 2012; 79: 889-93.
 15. Heijmansa BT, Tobia EW, Steinb AD, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *PNAS.* 2008; 105: 17046-9.
 16. Nistala R, Hayden MR, DeMarco VG, et al. Prenatal Programming and Epigenetics in the Genesis of the Cardiorenal Syndrome. *Cardiorenal Med.* 2011; 1: 243-54.
 17. Kyle UG, Pichard C. The Dutch Famine of 1944–1945: a pathophysiological model of long-term consequences of wasting disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2006; 9: 388-94.
 18. Gordon L, Joo JE, Powell JE, et al. Neonatal DNA methylation profile in human twins is specified by a complex interplay between intrauterine environmental and genetic factors, subject to tissue-specific influence. *Genome Res.* 2012; 22: 1395-1406.
 19. Hokken-Koelega ACS, De Waal WJ, Sas TCJ, et al. "Small for gestational age (SGA): endocrine and metabolic consequences and effects of growth hormone treatment," *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism.* 2004; 17(3): 463-9.
 20. Alis A, Panera N, Agostoni C, et al. Intrauterine growth retardation and nonalcoholic fatty liver disease in children. *International Journal of Endocrinology.* 2011; 2011: Article ID 269853, 8.
 21. Pacifico L, Anania C, Martino F, et al. Functional and morphological vascular changes in pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52(5): 1643-51.
 22. Stamatis P, Efstathiou, Irini I, Skeva, Evi Zorbala, et al. Metabolic syndrome in adolescence: can it be predicted from natal and parental profile? The Prediction of Metabolic Syndrome in Adolescence (PREMA) study. *Circulation.* 2012; 125: 902-10.
 23. Halldorsson TI, Gunnarsdottir I, Birgisdottir BE, et al. Childhood growth and adult hypertension in a population of high birth weight. *Hypertension* 2011; 58: 8-15.
 24. Pacifico L, Cantisani V, Anania C, et al. Serum uric acid and its association with metabolic syndrome and carotid atherosclerosis in obese children. *European Journal of Endocrinology.* 2009; 160: 45-52.
 25. Palinski W and Napoli C. The fetal origins of atherosclerosis: maternal hypercholesterolemia, and cholesterol-lowering or antioxidant treatment during pregnancy influence in utero programming and postnatal susceptibility to atherogenesis. *FASEB J.* 2002; 16: 1348-60.
 26. Harris A, Seckl J. Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease. *Horm Behav.* 2011; 59: 279-89.
 27. Lillycrop KA, Burdge GC. The effect of nutrition during early life on the epigenetic regulation of transcription and implications for human diseases. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 2011; 4: 248-60.

28. Wierda RJ, Geutskens SB, Jukema JW, et al. Epigenetics in atherosclerosis and inflammation. *J Cell Mol Med.* 2010; 14: 1225-40.
29. Geerts CC, Bots ML, van der Ent CK, et al. Parental smoking and vascular damage in their 5-year-old children. *Pediatrics.* 2012; 129: 45-54.
30. Ayer JG, EBelousova, Harmer JA, et al. Maternal cigarette smoking is associated with reduced high-density lipoprotein cholesterol in healthy 8-year-old children. *European Heart Journal.* 2011; 32: 2446-53.
31. Baccarelli A and Ghosh S. Environmental exposures, epigenetics and cardiovascular disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2012; 15: 323-9.
32. Järvisalo MJ, Jarhti L, Nanto-Salonen K, et al. Increased aortic intima-media thickness. a marker of preclinical atherosclerosis in high-risk children. *Circulation.* 2001;104: 2943-7.
33. Raitakari OT, Juonala M, Kahonen M, et al. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima media thickness in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *JAMA.* 2003; 290: 2277-83.
34. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007; 115: 1285-95.
35. Martino F, Loffredo L, Carnevale R, et al. Oxidative stress is associated with arterial dysfunction and enhanced intima-media thickness in children with hypercholesterolemia: the potential role of nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate oxidase. *Pediatrics.* 2008; 122: e648-55.
36. Martino F, Pignatelli P, Martino E, et al. Early increase of oxidative stress and soluble CD40L in children with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 49: 1974-81.
37. Loffredo L, Carnevale R, Sanguigni V, et al. Does NADPH oxidase deficiency cause artery dilatation in humans? *Antioxidants & Redox Signaling.* 2013; 18: 1491-6.
38. Violi F, Sanguigni V, Carnevale R, et al. Hereditary deficiency of gp91phox is associated with enhanced arterial dilatation. Results of a multicenter study. *Circulation.* 2009; 120: 1616-22.
39. Loffredo L, Martino F, Carnevale R, et al. Obesity and hypercholesterolemia are associated with NOX2 generated oxidative stress and arterial dysfunction. *J Pediatr.* 2012; 161: 1004-9.
40. Pignatelli P, Loffredo L, Martino F, et al. Myeloperoxidase overexpression in children with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2009; 205: 239-43.
41. Mancini M, Stamler J. Diet for preventing cardiovascular diseases: light from Ancel Keys, distinguished centenarian scientist. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2004; 14: 52-7.
42. Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, et al. The diet and 15-year death rate in the Seven Countries Study. *Am J Epidemiol.* 1986; 124: 903-15.
43. Dawber TR, Meadors GF, Moore FE Jr. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Health Nations Health.* 1951; 41: 279 -81.
44. Newman WP, Freedman DS, Voors AW, et al. Relation of serum lipoprotein levels and systolic blood pressure to early atherosclerosis. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med.* 1986; 314: 138-44.
45. Lauer RM, Clarke WR. Use of cholesterol measurements in childhood for the prediction of adult hypercholesterolemia. The Muscatine Study. *JAMA.* 1990; 264: 3034-8.
46. Juonala M, Viikari JS, Ronnema T, et al. Associations of dyslipidemias from childhood to adulthood with carotid intima-media thickness, elasticity, and brachial flow-mediated dilatation in adulthood. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28:1012-7.
47. Kiang Liu, Martha L. Daviglius, Catherine M. Loria, et al. Healthy lifestyle through young adulthood and the presence of low cardiovascular disease risk profile in middle age. The Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults (CARDIA) Study. *Circulation.* 2012; 125: 996-1004.
48. Giannini C, Diesse L, D'Adamo E, et al. Influence of the Mediterranean diet on carotid intima-media thickness in hypercholesterolaemic children: A12-month intervention study. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 2013; xx, 1-8.

49. Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito, et al. The Effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol*. 2011; 57: 1299-313.
50. Godfrey KM, Forrester T, Barker DJP, et al. Maternal nutritional status in pregnancy and blood pressure in childhood. *Br J Obstet Gynaecol*. 1994; 101: 398-403.
51. Forsen T, Eriksson JG, Tuomilehto J, et al. Mother's weight in pregnancy and coronary heart disease in a cohort of Finnish men: follow up study. *BMJ* 1997;315:837-40.
52. Agostoni C, Riva E, Scaglioni S, et al. Dietary fats and cholesterol in Italian infants and children. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72: 1384S-91S.
53. Anke L, Gunther B, Walz H, Kroke A, et al. Breastfeeding and its prospective association with components of the GH-IGF-Axis, insulin resistance and body adiposity measures in young adulthood - Insights from linear and quantile regression analysis. *Plos One*. 2013; 8: e79436.
54. Aggett PJ, Haschke F, Heine W et al Committee report: childhood diet and prevention of coronary heart disease. ESPGAN Committee on Nutrition. European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1994; 19: 261-9.
55. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report; 2011. *Pediatrics*. 2011; 128 (5): s213-s56.
56. Boreham CA, Ferreira I, Twisk JW, et al. Cardiorespiratory fitness, physical activity, and arterial stiffness: the Northern Ireland Young Hearts Project. *Hypertension*. 2004; 44: 721-6.
57. Nathalie J, Farpour-Lambert, Aggoun Y, Marchand LM, et al. Physical activity reduces systemic blood pressure and improves early markers of atherosclerosis in prepubertal obese children. *J Am Coll Cardiol*. 2009; 54: 2396-406.
58. Kodama S, Tanaka S, Saito K, et al. Effect of aerobic exercise training on serum levels of high-density lipoprotein cholesterol: a meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2007; 167: 999-1008.
59. Kristen E, Holm, Holly R. Wyatt, James R. Murphy, et al. Parental influence on child change in physical activity during a family-based intervention for child weight gain prevention. *J Phys Act Health*. 2012; 9: 661-9.
60. Kelly AS, Steinberger J, Olson TP, Dengel DR. In the absence of weight loss, exercise training does not improve adipokines or oxidative stress in overweight children. *Metabolism*. 2007; 56: 1005-9.
61. Daniels SR. Diet and primordial prevention of cardiovascular disease in children and adolescents. *Circulation*. 2007; 116: 973-4.
62. Brown L, Rosner B, Willett W, et al. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis^{1,2} *Am J Clin Nutr*. 1999; 69: 30-42.
63. Vuksan V, Sievenpiper J, Xu Z. Konjac-Mannan and American ginseng: emerging alternative therapies for type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Nutr*. 2001; 20: 370S-80S.
64. Martino F, Martino E, Morrone F, et al. Effect of dietary supplementation with glucomannan on plasma total cholesterol and low density lipoprotein cholesterol in hypercholesterolemic children. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2005; 15: 174-80.
65. Martino F, Puddu PE, Pannarale G, et al. Low dose chromium-polynicotinate or policosanol is effective in hypercholesterolemic children only in combination with glucomannan. *Atherosclerosis*. 2013; 228: 198-202.
66. Sood N, Baker WL, Coleman CI. Effect of glucomannan on plasma lipid and glucose concentrations, body weight, and blood pressure: systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2008; 88: 1167-75.
67. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies² Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to glucomannan and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 836, 1560) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006¹. *EFSA Journal*. 2009; 7: 1258.
68. Vuksan V, Panahi S, Lyon M, et al. Viscosity of fiber preloads affects food intake in adolescents. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2009; 19: 498e503.
69. Guardamagna O, Abello F, Baracco V, et al. Primary hyperlipidemias in children: effect

- of plant sterol supplementation on plasma lipids and markers of cholesterol synthesis and absorption. *Acta diabetol.* 2011; 48: 127-33.
70. Liu J, Zhang J, Shi Y, et al.. Chinese red yeast rice (*monascus purpureus*) for primary hyperlipidemia: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Chin Med.* 2006; 1: 4.
71. Guardamagna O, Abello F, Baracco V, et al. The treatment of hypercholesterolemic children: Efficacy and safety of a combination of red yeast rice extract and policosanols. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 2011; 21: 424e429.
72. American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics.* 2008; 122: 198-208.
73. McCrindle BW, Urbina EM, Dennison BA, et al. Drug therapy of high-risk lipid abnormalities in children and adolescents: a scientific statement from the American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension and Obesity in Youth Committee, Council of Cardiovascular Disease in the Young, with the Council on Cardiovascular Nursing. *Circulation.* 2007; 115: 1948-67.
74. Rodenburg J, Vissers MN, Wiegman A, et al. Statin treatment in children with familial hypercholesterolemia. The younger, the better. *Circulation.* 2007; 116: 664-8.
75. Martino F, Puddu PE, Pannarale G, et al. Arterial blood pressure and serum lipids in a population of children and adolescents from Southern Italy: the Calabrian Sierras Community Study (CSCS). *Int J Cardiol.* 2013; 168: 1108-14.