



Università degli Studi di Cagliari

DOTTORATO DI RICERCA

In SCIENZE CARDIOVASCOLARI

Ciclo XXIII

L'AUMENTATO RISCHIO CARDIOVASCOLARE DEL NEONATO PREMATURO
DIVENUTO ADULTO

Settore scientifico disciplinare di afferenza
MED/11 MALATTIE DELL'APPARATO CARDIOVASCOLARE

Presentata da:

Dott. Pier Paolo Bassareo

Coordinatore Dottorato:

Prof. Francesco Marrosu

Relatore:

Prof. Giuseppe Mercurio

Esame finale anno accademico 2009 - 2010

INDICE

INTRODUZIONE.....	pag 4
Considerazioni di carattere generale.....	4
Sopravvivenza dei nati pretermine nel breve e nel lungo periodo.....	5
Sequela correlate con la nascita pretermine.....	9
Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: l'aumentato rischio cardiovascolare globale.....	10
Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: la relazione inversa tra il peso alla nascita e la concentrazione ematica di colesterolo totale.....	11
Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: rischio precoce di sviluppare aterosclerosi.....	14
Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: l'origine fetale dell'ipertensione arteriosa.....	15
Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: iperuricemia.....	18
Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: il rischio di diventare obesi.....	21
Nascita pretermine ed insorgenza di diabete di tipo 2.....	24
L'influenza dei fattori ambientali: il rischio cardiovascolare del neonato pretermine sottoposto a terapia postnatale con corticosteroidi.....	27
Corticosteroidi nel pretermine.....	27
Effetti collaterali a breve termine dei corticosteroidi sul cuore del pretermine: la comparsa di cardiomiopatia ipertrofica.....	28
Effetti collaterali a lungo termine dei corticosteroidi sul cuore del pretermine: la comparsa di cardiomiopatia dilatativa.....	30
Caratteristiche morfologiche e microscopiche della cardiomiopatia ipertrofica indotta dalla somministrazione di corticosteroidi.....	30

Aspetti umorali della cardiomiopatia ipertrofica indotta dalla somministrazione di corticosteroidi.....	31
Proposta di un modello fisiopatologico coinvolgente tutti i biomarkers della cardiomiopatia ipertrofica indotta dalla somministrazione di corticosteroidi.....	33
Considerazioni conclusive.....	34
LO STUDIO DI UNA POPOLAZIONE DI GIOVANI ADULTI NATI PRETERMINE.....	38
Presupposti.....	38
Scopi.....	38
Misurazione della pressione arteriosa.....	40
Aspetti metodologici.....	40
Risultati.....	41
Discussione.....	43
Analisi elettrocardiografica ed ecocardiografica standard.....	45
Introduzione.....	45
Materiali e metodi.....	45
Analisi statistica.....	46
Risultati.....	47
Discussione.....	51
Prematurità e stiffness arteriosa.....	56
Introduzione.....	56
Materiali e metodi.....	57
Analisi statistica.....	58
Risultati.....	58
Discussione.....	61
Prematurità e marker di disfunzione endoteliale.....	64
Introduzione.....	64

Materiali e metodi.....	65
Analisi statistica.....	66
Risultati.....	67
Discussione.....	70
CONSIDERAZIONI FINALI.....	74
Bibliografia.....	77

INTRODUZIONE

Considerazioni di carattere generale

Secondo la classificazione dell' OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) si definisce neonato pretermine -o prematuro- quello nato prima della 37^a settimana di gestazione [1]. L'incidenza del parto pretermine nei Paesi in via di sviluppo è compresa tra il 5 e il 10% ed è rimasta immutata negli ultimi 30 anni, ad evidenziare come gli sforzi fino ad ora eseguiti per cercare di prevenirlo abbiano solo minimamente modificato la sua occorrenza [2-5]. La prematurità, inoltre, rappresenta una causa molto importante sia di mortalità che di morbidità neonatale, poiché essa può determinare l' insorgenza di sequele anche gravi - soprattutto danni neurologici- specialmente nei piccoli nati con bassissime epoche gestazionale (cioè prima della 26^a settimana di gestazione). In particolare, considerando il peso alla nascita, si distinguono:

- neonati LBW (*Low Birth Weight*), il cui peso alla nascita è compreso tra 1501 e 2500 gr;
- neonati VLBW (*Very Low Birth Weight*) il cui peso alla nascita è compreso tra 1000 e 1500 gr;
- neonati ELBW (*Extremely Low Birth Weight*) il cui peso alla nascita è minore di 1000 gr.

Considerando invece il peso alla nascita in rapporto all'età gestazionale si parla di:

- neonati AGA (*Appropriate for Gestational Age*), il cui peso è appropriato per l'età gestazionale , cioè compreso tra il 10° e il 90° percentile delle tabelle di riferimento;

- neonati SGA (*Small for Gestational Age*) il cui peso è basso per l'età gestazionale, cioè inferiore al 10° percentile;
- neonati LGA (*Large for Gestational Age*) con peso maggiore del 90° percentile.

Il limite di sopravvivenza, cioè quello che distingue il parto pretermine dall'aborto, è generalmente intorno alla 23-24[^] settimana di gestazione nei centri dotati di terapia intensiva neonatale.

Sopravvivenza dei nati pretermine nel breve e nel lungo periodo

La sopravvivenza dei neonati prematuri è cambiata negli ultimi anni. Informazioni importanti in merito provengono da uno studio condotto da David Field et al e recentemente pubblicato sul British Medical Journal, nel quale sono stati confrontati i tassi di sopravvivenza dei bambini nati tra la 22[^] e la 25[^] settimana di gestazione nei periodi 1994-1999 e 2000-2005 [6]. Il numero di parti e la proporzione di neonati morti in sala parto sono risultati simili nei due intervalli di tempo presi in considerazione, mentre si è assistito ad un significativo miglioramento nella sopravvivenza dopo la dimissione dall'unità di terapia intensiva neonatale: dal 36% del periodo 1994-1999 al 47% del 2000-2005. Secondo Field questi cambiamenti sono attribuibili soprattutto al sostanziale miglioramento della sopravvivenza dei bambini nati alla 24[^] e 25[^] settimana.

Nei 12 anni dello studio si è passati infatti dal 24% al 41% di sopravvivenza per i neonati di 24 settimane e dal 52% al 63% per quelli di 25 settimane. La situazione però è molto diversa se si analizzano i dati relativi ai bambini nati alla 23[^] settimana di gestazione. Per questi neonati ammessi a trattamenti di cura

intensiva, la sopravvivenza dopo la dimissione è rimasta praticamente invariata: 18,52% nel primo periodo considerato e 18,46% nel secondo .

Il parto pretermine costituisce comunque ancora oggi la principale causa di mortalità e di morbidità neonatale [7,8]. Indipendentemente dal peso del neonato, il parto pretermine è infatti attualmente responsabile di circa il 75% delle morti neonatali [9].

Più del 90% delle morti neonatali riguarda nati con peso alla nascita inferiori a 2500 gr. Secondo il National Centre for Health Statistics, nel 2002 negli USA si è registrata un'incidenza della mortalità infantile di 60.3 su 1000 per i nati con peso ≤ 2500 gr ed un'incidenza di solo 2,4 su 1000 per i nati con peso alla nascita ≥ 2500 gr [10,11]. La percentuale di neonati pretermine che sopravvive dopo la nascita è comunque progressivamente aumentata in tutto il mondo, grazie ai grandi progressi della medicina perinatale (cioè dell'immediato periodo dopo la nascita) e neonatale (il periodo neonatale corrisponde alle prime quattro settimane di vita dopo il parto). Questo è evidente soprattutto per i soggetti pretermine di peso estremamente basso, cioè inferiore al chilogrammo (ELBW) [6]. Si calcola che oltre il 70% di essi, nati per lo più tra la 22^a e la 27^a settimana di gravidanza, sopravviva almeno un anno [12]. Maršál et al hanno a tal proposito condotto in Svezia uno studio per valutare la prognosi a breve ed a lungo termine dei neonati prematuri venuti alla luce prima della 27^a settimana di gestazione. Il periodo considerato è stato quello del 2004-2007. Nel periodo appunto esaminato sono nati in Svezia 305.318 bambini, di cui 1011 ELBW (incidenza 3,3/1000 nati), venuti alla luce prima delle 27 settimane di gestazione . Di essi 707 sono nati vivi, mentre gli aborti sono stati 304.

La sopravvivenza di tutti gli ELBW ad 1 anno è stata del 70%. In particolare, per quelli nati alla 22[^] settimana la sopravvivenza è stata del 9.8%; per quelli nati alla 23[^] settimana è stata del 53%; a 24 settimane è stata del 67%, a 25 settimane dell' 82% ed a 26 dell' 85%. Di tutti i sopravvissuti, il 45% di essi ad 1 anno dalla nascita non aveva manifestato alcuna patologia di rilievo.

La mortalità perinatale totale è stata del 45%, con una variabilità compresa tra un massimo del 93% per i prematuri di 22 settimane ed un minimo del 24% per i piccoli venuti alla luce alla 26[^] settimana di gestazione. Fra i prematuri nati vivi, 152 di essi (22%) sono morti molto precocemente (0-6 giorni), compresi 58 (8.2%) deceduti al momento del parto. Trentacinque sono invece morti nel periodo neonatale (7-27 giorni). Nel complesso, 210 prematuri nati vivi (30%) sono morti entro il primo anno di vita. E' stata riscontrata anche una netta proporzionalità inversa tra l'età gestazionale e la mortalità dei soggetti pretermine.

E' stato inoltre dimostrato che la nascita pretermine è responsabile di una diminuita sopravvivenza anche nel lungo periodo, come pure di una ridotta capacità riproduttiva. Infatti in uno studio, condotto dai ricercatori della Duke University Medical Center (Durham, USA) [13], ci si è posti l'obiettivo di determinare gli effetti a lungo termine dell' essere venuti alla luce pretermine proprio sulla sopravvivenza, sulla capacità riproduttiva e sulla nascita pretermine della successiva generazione. In questo studio di popolazione longitudinale, osservazionale e retrospettivo, ci si è avvalsi dei dati del Medical Birth Registry of Norway del ventennio 1967-1988, riguardanti 1.167.506 nascite non-gemellari.

La percentuale dei soggetti nati pretermine è risultata più alta tra i maschi (5.6%) che tra le femmine (4.7%). La coorte di pazienti è stata

seguita fino al 2002 per valutarne la sopravvivenza. Per la valutazione dell'outcome riproduttivo, invece, sono state prese in considerazione le nascite comprese tra il 1967 ed il 1976, ed il follow-up è stato proseguito fino al 2004. I soggetti pretermine hanno presentato un aumentato rischio di mortalità nel corso dell'infanzia. In particolare, per i maschi nati tra la 22[^] e la 27[^] settimane di gestazione, la percentuale di mortalità infantile precoce è risultata pari a 1.33%, mentre quella tardiva è stata dell' 1.01%, con un rischio relativo (RR) di 5.3 e 7.0, rispettivamente. La percentuale di mortalità per le femmine nate nel periodo 22-27 settimane, è stata pari all'1.71% per la morte infantile precoce, con un RR di 9.7. Non sono state invece osservate morti infantili tardive. Per la nascita pretermine compresa tra la 28[^] e la 32[^] settimana, la mortalità infantile precoce e tardiva tra i maschi è stata pari rispettivamente a 0.73% e 0.3%, ed i rispettivi RR sono stati di 2.5 e 2.3. Le femmine nate nel periodo 28-32 settimane di gestazione non hanno presentato un significativo aumento del rischio di mortalità infantile. La capacità riproduttiva è risultata sempre diminuita per i soggetti nati pretermine.

Per gli uomini e le donne nati tra la 22[^] e la 27[^] settimana, la riproduzione assoluta era del 13.9% e del 25%, con RR di 0.24 e 0.33, rispettivamente. Per i soggetti di ambo i sessi nati tra la 28[^] e la 32[^] settimana, la riproduzione assoluta era pari al 38.6% per gli uomini e al 59.2% per le donne, con RR di 0.7 e 0.81, rispettivamente. Le donne pretermine, ma non gli uomini, avevano un rischio aumentato di generare esse stesse una prole pretermine.

Sequele correlate con la nascita pretermine.

I nati pretermine hanno un rischio molto alto di sviluppare importanti sequele neurologiche: tra le più frequenti vi sono la paralisi cerebrale e le disfunzioni

cognitive [14,15]. La prematurità (soprattutto per età gestazionali al di sotto della 34^a settimana) ed il peso molto basso alla nascita (inferiore ai 1500gr) sembrano essere infatti i principali fattori di rischio per lo sviluppo della paralisi cerebrale infantile (definita come una turba persistente, ma non immutabile, della postura e del movimento) che, si osserva attualmente in Europa con una prevalenza di 2-6 bambini ogni 1000 nati vivi [16-18]. Anche il ritardo mentale e l'epilessia sono alcuni dei possibili danni neurologici legati alla prematurità, tanto più frequenti quanto minore è il peso alla nascita del prematuro [19].

La nascita pretermine è un fattore di rischio anche per il corretto sviluppo renale. I reni dei nati pretermine sono caratterizzati infatti da un ridotto numero di nefroni alla nascita. Sebbene la glomerulogenesi continui per un breve tempo dopo la nascita stessa, essa non è comunque in grado di compensare la ridotta riserva renale del pretermine, che rappresenta un fattore di rischio maggiore per lo sviluppo di una progressiva insufficienza renale in età adulta [20]. A tal proposito, è consigliato un attento follow up sin dall'età giovanile [21].

Proprio a causa di queste considerazioni, in anni non troppo lontani voci autorevoli si sono levate per chiedersi se l'accanimento terapeutico che spesso si riscontra nei reparti di terapia intensiva neonatale non rappresenti più un atteggiamento opportunistico dei neonatologi – che nell'immediato, per motivi medico-legali, cercano di salvare tutti i loro piccoli pazienti, senza curarsi del dopo, cioè della ridotta qualità di vita e delle sofferenze cui essi andranno comunque incontro nelle età successive alla nascita – che non un atteggiamento realmente avveduto. Sempre secondo questo ragionamento paradossale, anche la compassione spesso rappresenta il *primum movens* che guida il lavoro degli specialisti in neonatologia [22].

Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: l'aumentato rischio cardiovascolare globale

Dati epidemiologici abbastanza recenti hanno dimostrato sia un' aumentata mortalità per cause cardiovascolari sia un incremento dei fattori di rischio ad essa associati nei pazienti nati prematuri. Dalziel et al hanno perciò cercato di dare una risposta riguardo al contributo specifico esercitato sia dall' età gestazionale che dalla ridotta crescita fetale sull' aumentato rischio cardiovascolare di questi soggetti[23]. A tal proposito, sono stati arruolati 458 soggetti di trent'anni (147 nati a termine, 311 pretermine), cui sono stati misurati peso, altezza, body mass index, pressione arteriosa, assetto lipidico, e livelli di cortisolo al mattino dopo un carico orale di 75 grammi di glucosio. La nascita pretermine è risultata associata con un incremento della pressione arteriosa sistolica (3.5 mmHg, 95% CI 0.9-6.1 mmHg, P = 0.009), come pure con l'insorgenza d'insulino resistenza all' età di 30 anni [Log (Insulin area under the curve) = 0.17, 95% CI 0.05-0.28, P = 0.006]. Lo stesso dicasi anche per la ridotta età gestazionale alla nascita, mentre un' associazione simile non è stata riscontrata con il peso alla nascita, corretto per l'età gestazionale. Tutto ciò testimonia come la nascita pretermine in sé, più che la ridotta crescita fetale, sia il maggior determinante dell' aumentato rischio cardiovascolare dei soggetti pretermine diventati adulti. Poiché, grazie ai progressi della scienza medica, la percentuale di essi che sopravvive sino all' età adulta è in costante aumento, si sta col tempo delineando una nuova popolazione ad aumentato rischio cardiovascolare globale.

Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: la relazione inversa tra il peso alla nascita e la concentrazione ematica di colesterolo totale

Nel corso degli ultimi dieci anni in letteratura sono emersi dei dati sporadici sostenenti l'esistenza di un'associazione tra basso peso alla nascita ed insorgenza d'ipercolesterolemia in età adulta, fondati però su piccoli studi con un ridotto numero di pazienti. Per testare la reale consistenza di tale associazione, dal 1994 al 1996 vennero studiati 132.000 impiegati nell'azienda telefonica britannica, dei quali vennero registrati peso alla nascita e misurati statura e concentrazione totale di colesterolo. Dati completi vennero raccolti solo per 18.286 uomini e 7557 donne (intervallo d'età: 17-64 anni). È stato così riscontrato che il genere ed il peso alla nascita interagiscono nel predire i livelli di colesterolo totale negli adulti ($p = 0.002$). Nei maschi, un più basso peso alla nascita si associa con un livello di colesterolo più alto tra gli adulti (specificamente, si ha un aumento di 0.07 mmol/L di colesterolo totale per ogni diminuzione di 1 Kg del peso alla nascita; 95% CI, da 0.09 a 0.04 mmol/L; $p < 0.001$), mentre nessuna correlazione simile è stata riscontrata nelle donne. Anche l'aggiustamento per i potenziali fattori confondenti, compresa la corporatura da adulti, non ha alterato questi risultati. Negli uomini, una riduzione del BMI di una deviazione standard riduce il colesterolo totale circa 5 volte di più che un incremento di una deviazione standard nel peso alla nascita. In conclusione, l'associazione peso alla nascita e concentrazione di colesterolo totale è fortemente influenzata dal genere. Tale mancata associazione nelle donne non è spiegata dallo stato menopausale [24]. Peraltro si deve sottolineare che, mettendo a confronto da una parte la relazione tra il peso alla nascita ed il colesterolo totale e dall'altra quella tra lo stesso colesterolo totale ed il body mass index, per capire quale delle due sia più forte, si è riscontrato che la prima

associazione è assai più debole e di ridotto impatto sulla salute pubblica rispetto all'influenza esercitata dall'obesità infantile. Per arrivare a queste conclusioni, in una metanalisi sono stati esaminati 1532 soggetti (92% bianchi, 55% maschi) di 10 città della Gran Bretagna, reclutati in 32 studi precedenti (6 condotti nell'infanzia, 14 in adolescenza, 12 in età adulta). I risultati hanno mostrato che esiste una correlazione inversa tra il peso alla nascita ed i livelli di colesterolo totale (ogni riduzione di 1 Kg di peso alla nascita determina un aumento dei livelli di colesterolo totale pari a 0.061 mmol/L. Intervallo di confidenza 95% compreso tra 0.131 e 0.008 mmol/L per kg). Peraltro la differenza nella concentrazione di colesterolo totale legata ad una diminuzione di un quartile di peso alla nascita (0.03 mmol/L) è risultata essere di circa un quarto di quella provocata da un equivalente incremento del body mass index (0.11 mmol/L), indipendentemente dall'età dei soggetti esaminati [25]. L'influenza del genere nella correlazione inversa tra il peso alla nascita ed i livelli di colesterolo totale nel sangue è stata confermata anche da una metanalisi condotta sui coefficienti di regressione del colesterolo stesso rispetto al peso alla nascita. Venne analizzato un totale di 34 coefficienti di regressione, derivati da 30 studi coinvolgenti 33.650 maschi e 23.129 femmine. E' così risultato evidente che la correlazione inversa tra le due variabili in esame era più forte nel genere maschile, essendo la differenza dei coefficienti di regressione pari a 0.03 mmol/l (intervallo: 0.06 -0.01 mmol/l, $p = 0.02$). Questa differenza di genere si può spiegare con il fatto che, durante lo sviluppo fetale, differenze nel peso alla nascita riflettono processi biologici differenti tra maschi e femmine. Altri studi sono però necessari per una conferma di queste conclusioni [26].

L'esistenza di una correlazione inversa tra il peso alla nascita ed i livelli ematici di colesterolo è stata utilizzata appunto per sostenere l' "ipotesi fetale" dell' origine di molte malattie cardiovascolari dell' adulto.

Un' altra review sistematica è stata condotta sia per valutare – con un' analisi statistica sofisticata- la consistenza di tale associazione, sia il suo reale influenza sulla vita futura. Sono stati identificati tutti gli studi pubblicati sino al 30 Settembre 2004, utilizzando motori di ricerca come EMBASE, MEDLINE e MeSH ed utilizzando termini come birth weight, intrauterine growth retardation, fetal growth retardation and cholesterol, lipoprotein, lipid.

In questo modo sono stati selezionati tutti gli studi riportanti una stima qualitativa o quantitativa della suddetta associazione, come pure quelli le cui conclusioni avevano portato ad escludere una tale correlazione.

In totale sono stati selezionati 79 studi, coinvolgenti nel complesso 74.122 soggetti: 65 di essi avevano riportato una correlazione inversa tra concentrazione ematica di colesterolo e peso alla nascita. Solo in 14 studi su 65 era stato pubblicato il coefficiente di regressione, che è comunque stato possibile ricavare per 58 di essi, per un totale di 68.974 soggetti.

Dall' analisi statistica è emerso che, nel complesso, vi era un incremento di 1.39 mg/dL (0.036 mmol/L) di colesterolo per ogni Kg di riduzione del peso corporeo alla nascita (CI 95%: da 1.81 a 0.97 mg/dL [da 0.047 a 0.025 mmol/L]). Vi era però anche una forte eterogeneità nei risultati finali ($p < 0.001$), che rifletteva una più forte correlazione inversa dei due parametri esaminati negli studi con un minor numero di pazienti ed in quelli condotti valutando i livelli di colesterolo nell' infanzia.

Tutto ciò ha portato gli autori della review a sostenere che, nonostante l'esistenza di una relazione inversamente proporzionale tra il peso alla nascita e la concentrazione plasmatica di colesterolo totale, probabilmente tale

osservazione ha una scarsa influenza nel determinare poi un aumentato rischio di eventi cardiovascolari maggiori da adulti [27].

Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: rischio precoce di sviluppare aterosclerosi

Come precedentemente già accennato nel paragrafo "Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: l'aumentato rischio cardiovascolare globale", il basso peso neonatale è associati ad un aumentato rischio di coronaropatia in età adulta. Ci si è chiesti allora se tale aumentato rischio potesse essere identificato già in età giovanile sotto forma di una precoce disfunzione endoteliale. Quest'ultima viene definita come la ridotta capacità dell' endotelio stesso di dilatarsi di fronte ad uno stimolo appropriato (ischemia; somministrazione di nitrati sublinguali) e rappresenta lo stadio più precoce dello sviluppo di aterosclerosi.

Sono stati così arruolati 315 giovani adulti (165 femmine e 150 maschi, di età compresa tra 20 e 28 anni), per valutarne le risposte vascolari endotelio-dipendente (la risposta vasodilatatoria ad uno stimolo ischemico. Prende anche il nome di flow-mediated dilation) ed endotelio-indipendente (la risposta vasodilatatoria alla somministrazione di nitrati) a livello dell' arteria brachiale.

Tali risposte sono poi state messe in relazione con dei classici fattori di rischio cardiovascolare (fumo, assetto lipidico, pressione sanguigna, insulinemia, capacità fisica, body mass index, e punteggio di rischio combinato) e con il peso alla nascita.

Il basso peso alla nascita è risultato associato con una ridotta flow-mediated dilation (coefficiente =0.18 kg(-1), 95% CI da 0.004 a 0.35, p:=0.04), ma non con la vasodilatazione endotelio-indipendente. La differenza nella capacità

vasodilatativa dell'arteria brachiale tra il più basso quintile di peso alla nascita ed il più alto è risultata analoga a quella esistente tra i fumatori ed i non fumatori.

La concomitanza di altri fattori di rischio aumenta la forza della correlazione tra il basso peso e la disfunzione endoteliale. Ciò è particolarmente evidente per quanto riguarda l'aumentato punteggio di rischio combinato (coefficiente d'interazione [peso alla nascita + punteggio di rischio] = -0.12, 95% CI da 0.22 a 0.03, p:=0.01). In conclusione il basso peso si associa ad una precoce disfunzione dell'endotelio degli ex pretermine che raggiungono l'età adulta, la quale potrebbe essere di rilevante importanza nella patogenesi del successivo sviluppo di aterosclerosi [28].

Peraltro un articolo comparso su una rivista pediatrica molto autorevole sembrerebbe confutare l'associazione tra l'essere venuti alla luce prematuri ed il successivo sviluppo di aterosclerosi in età adulta, sulla base della mancanza di differenze statisticamente significative nei valori di FMD tra ex prematuri e gruppo di controllo di adulti nati a termine sani (0.225 mm vs 0.220 mm, p=0.78) [29].

Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: l'origine fetale dell'ipertensione arteriosa.

I nati prematuri con ritardo di crescita intrauterina hanno un aumentato rischio di diventare adulti ipertesi. Studiando 50 di essi (21 SGA e 29 AGA) ormai ventenni mediante monitoraggio ambulatoriale della pressione arteriosa in confronto con un gruppo di controllo di soggetti nati a termine, è stato riscontrato che la loro pressione sistolica diurna era di 122.7 mmHg per gli SGA

e 123.1 mmHg per gli AGA, ovverosia rispettivamente di 3.6 mmHg [95% intervallo di confidenza(CI) -0.9 to 8.0] e 4.2 mmHg (95% CI 0.4-8.0) più elevata dei controlli. Nessuna differenza statisticamente significativa è stata riscontrata per la pressione diastolica diurna e per le pressioni notturne [30].

Un tale comportamento si può spiegare con il fatto che il processo di formazione dei reni, detto nefrogenesi, normalmente si completa entro le 31-32 settimane di gestazione [31]

Ciò significa quindi che molti piccoli prematuri vengono alla luce prima che la formazione dei loro reni abbia avuto il tempo di completarsi. La nefrogenesi risulta tanto più incompleta quanto più precoce è stata la nascita, cioè quanto minore è l'età gestazionale del prematuro. Nefrogenesi incompleta significa anche che i reni hanno, nel complesso, un ridotto numero di unità filtranti (nefroni) [32]. Esiste proprio un correlazione inversa tra il numero di nefroni e l'età gestazionale come pure tra il numero di nefroni ed il peso alla nascita, come dimostrato sia in studi sulle cavie da laboratorio che in ricerche condotte sull'uomo [33,34].

Le conseguenze di una nefrogenesi che non abbia avuto il tempo di completarsi sono una ridotta superficie filtrante dei reni, l'iperfiltrazione di ogni singolo nefrone, la sclerosi glomerulare, l'apoptosi [35].

Il rene gioca un ruolo fondamentale nel predire il futuro sviluppo d'ipertensione arteriosa e delle malattie cardiovascolari nell'età adulta. E' la cosiddetta ipotesi di Guyton o *foetal origin hypothesis* [36]. Erikson et al, analizzando una coorte di 4630 maschi nati ad Helsinki nel decennio 1934-1944, hanno dimostrato proprio un correlazione inversa tra l'insorgenza di eventi cardiovascolari maggiori ed il peso alla nascita [37]. La stessa correlazione inversa esiste anche per lo sviluppo d'ipertensione arteriosa [38].

Le ipotesi etiologiche per spiegare l'origine fetale dell'ipertensione arteriosa sono almeno tre: l'ipotesi renale, quella vascolare ed infine quella neuroendocrina.

- 1) L'ipotesi renale presuppone – come detto sopra- la riduzione globale del numero di nefroni con conseguenti ridotta superficie filtrante dei reni, iperfiltrazione di ogni singolo nefrone, sclerosi glomerulare e morte cellulare programmata. Una teoria più suggestiva, invece, sostiene che l'ipertensione arteriosa non sia la risultante del ridotto numero di nefroni (la riduzione del numero di nefroni verrebbe infatti bilanciata da un'ipertrofia compensatoria, sicchè la superficie filtrante in toto risulterebbe invariata), bensì la conseguenza di modificazioni postglomerulari renali, che implicherebbero un maggior riassorbimento di sodio e l'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone [39].
- 2) secondo l'ipotesi vascolare, invece, esiste una correlazione inversa tra il contenuto in elastina della parete arteriosa ed il peso alla nascita [40]. L'incremento della rigidità arteriosa determinerebbe quindi, vasocostrizione ed aumento della pressione arteriosa [41, 42].
- 3) l'ipotesi neuroendocrina, infine, sostiene che l'esposizione materna ai glucocorticoidi sia responsabile sia della ridotta crescita fetale che dell'aumento pressorio per attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, con conseguenti aumentata attività simpatica, aumentato riassorbimento tubulare di sodio, attivazione surrenalica della secrezione di aldosterone, vasocostrizione arteriolare diretta, ridotta secrezione

pituitaria di ormone antidiuretico. Vi sono proprio dei modelli animali che dimostrano come il basso peso alla nascita sia associato all'attivazione renale del sistema renina-angiotensina-aldosterone [43].

L'associazione tra ridotta età gestazionale/basso peso alla nascita ed ipertensione arteriosa potrebbe persino essere modulata anche da fattori razziali, come suggerito da uno studio nel quale l'efficacia antipertensiva dei farmaci differisce appunto a seconda della razza e del genere degli ex prematuri. In particolare, nelle donne ex premature afroamericane i farmaci più efficaci nel controllo pressorio sono i Calcio antagonisti, mentre negli ex prematuri maschi bianchi vi è una migliore risposta agli ACE inibitori [44]. L'associazione tra il basso peso e lo sviluppo di pressione alta riguarda soprattutto i valori di pressione sistolica, mentre i valori diastolici non appaiono correlati [45].

Quanto detto sottolinea come lo sviluppo d'ipertensione arteriosa nell'età adulta possa avere la sua origine nelle prime fasi della vita. Il meccanismo responsabile dell'associazione prematurità alla nascita/ipertensione non è ancora del tutto chiaro, ma è probabilmente multifattoriale.

Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: iperuricemia

Da circa trent'anni è stato osservato che esiste una piccola, ma statisticamente significativa differenza nei valori di acido urico tra i nati a termine e quelli di basso peso [46].

Il basso peso alla nascita pare, come già detto, associato con un aumentato rischio cardiovascolare in età adulta, compreso il rischio di sviluppare

ipertensione arteriosa. D'altro canto, è noto come -negli adulti- livelli elevati di pressione arteriosa si associno ad segni di disfunzione endoteliale ed a più alti livelli di acido urico nel sangue. Pertanto in uno studio abbastanza recente si è cercato di capire se tale associazione esistesse già in età pediatrica, in soggetti venuti alla nascita con un basso peso. Nei 78 piccoli pazienti selezionati (35 femmine e 43 maschi, di età compresa tra 8 e 13 anni) sono stati riscontrati livelli ematici di acido urico e pressioni sistoliche più elevati rispetto ai controlli sani nati a termine. Il peso alla nascita è risultato essere inversamente proporzionale alla pressione sistolica (sebbene questa fosse ancora entro limiti normali) ed all'uricemia, mentre vi era una proporzionalità diretta tra i livelli di acido urico e la pressione sistolica. Il basso peso era fortemente correlato con una precoce disfunzione endoteliale, espressa come ridotta risposta vasodilatatoria ad uno stimolo ischemico, la cosiddetta flow-mediated dilation ($r=0.427$, $p<0.001$). L'analisi multivariata ha rivelato inoltre che l'uricemia è correlata in maniera inversamente proporzionale con la flow-mediated dilation, senza differenze di genere o di razza ($\beta=-2.886$; $SE=1.393$; $P=0.040$). In conclusione i bambini nati con un basso peso hanno valori di uricemia e di pressione sistolica più alti rispetto ai controlli, come pure segni di una precoce disfunzione dell'endotelio. Nel complesso, queste osservazioni potrebbero essere l'espressione di una precoce disfunzione vascolare, che potrebbe essere il preludio al futuro sviluppo di malattie cardiovascolari in età adulta [47].

L'osservazione che l'iperuricemia può avere un ruolo nella patogenesi dell'ipertensione essenziale ha portato a chiedersi come i nati con basso peso – e quindi anche con un ridotto numero di nefroni- possano essere predisposti ad andare incontro ad ipertensione da adulti [48]. Specificamente, è noto che le madri a rischio di mettere alla luce neonati di basso peso sono spesso ipertese,

obese o in stato di preeclampsia, tutte condizioni associate con elevati livelli di acido urico. Inoltre, l'iperuricemia materna è un fattore di rischio maggiore per il dare alla luce bimbi di basso peso [49,50].

L'acido urico è una piccola molecola che facilmente passa attraverso la barriera placentare per entrare nella circolazione fetale, dove è in grado d'inibire la proliferazione delle cellule endoteliali [48,51].

Un incremento dell'uricemia materna nel terzo trimestre di gravidanza potrebbe influenzare negativamente il processo di formazione dei reni, che si formano nella parte finale della gravidanza stessa. Il neonato, pertanto, potrebbe nascere con un ridotto numero di unità funzionali renali, cioè i nefroni. Con la crescita successiva, il bambino potrebbe avere la stessa predisposizione materna a sviluppare iperuricemia ed ipertensione. Quest'ipotesi è confortata da studi in vitro ed anche su modelli animali. La riduzione del numero di nefroni nei ratti predispone infatti all'insorgenza di una malattia dell'arteriola afferente al glomerulo, innescando così il circolo vizioso del danno microvascolare e dell'infiammazione interstiziale che sostiene lo sviluppo dell'ipertensione arteriosa [52].

È stato trovato che soggetti adolescenti con una prima diagnosi d'ipertensione arteriosa hanno livelli di acido urico più elevati rispetto ai controlli sani in circa il 90% dei casi e che tali livelli si correlano con la severità dell'ipertensione arteriosa sistolica e diastolica. Con il peso alla nascita invece la correlazione è inversa [53]. Una correlazione simile è invece assente nei bambini con valori pressori normali, ipertensione da camice bianco o ipertensione secondaria [48]. Un'altra ipotesi patogenetica è che ciò che predispone allo sviluppo d'ipertensione sia la malattia microvascolare renale indotta dall'iperuricemia e non il ridotto numero di nefroni. Alcune sperimentazioni animali dimostrano che i

ratti con arteriole renali di piccolo calibro sviluppano ipertensione arteriosa essenziale in percentuale significativamente maggiore di quelli con un ridotto numero di nefroni [54,55]. Una dieta povera di proteine porta i ratti femmine a partorire piccolo di basso peso, che successivamente sviluppano ipertensione arteriosa. Recenti ricerche hanno mostrato che questi piccoli soffrono di una malattia microvascolare renale e d'infiammazione interstiziale precoci, che possono essere bloccati somministrando loro micofenolato, prevenendo così anche l'insorgenza d'ipertensione [56].

In conclusione, la capacità dell'acido urico d'indurre disfunzione endoteliale e d'inibire l'angiogenesi è un meccanismo affascinante che potrebbe spiegare il legame tra il basso peso alla nascita ed il futuro sviluppo di malattie cardiovascolari. L'osservazione che la dieta occidentale, particolarmente ricca di fruttosio e purina, può innalzare di molto i livelli di acido urico rappresenta anche un meccanismo capace di spiegare il rapido sviluppo d'obesità ed ipertensione nel mondo [57]. Naturalmente vi è anche la possibilità alternativa che l'iperuricemia sia un fenomeno secondario che riflette semplicemente una precoce disfunzione endoteliale. Saranno quindi necessari nuovi studi sperimentali e clinici per dipanare i dubbi attuali sull'argomento.

Nascita pretermine ed apparato cardiovascolare: il rischio di diventare obesi

La prevalenza dell'obesità nella popolazione generale, anche in quella pediatrica, è in drammatico aumento in tutto il mondo, specie nell'ultimo decennio. Un gran numero di studi epidemiologici ha mostrato come vi sia una

forte influenza del peso alla nascita sul body mass index dell'infanzia e dell'età adulta. In particolare il basso peso alla nascita pare avere una correlazione diretta con il futuro sviluppo dell'obesità centrale. Un'associazione è stata trovata anche tra l'obesità e l'essere nati da madre affetta da diabete gravidico. Si tratta del cosiddetto Perinatal programming dell'obesità, che testimonia come fatti antecedenti - anche molto lontani- possano influenzare la successiva deposizione del grasso corporeo. In altre parole, sia una ridotta disponibilità di nutrienti durante la vita fetale che un loro eccesso possono indurre il successivo sviluppo d'obesità [58].

L'associazione tra il basso peso alla nascita ed un aumentato rischio di malattie cardiovascolari da adulti è altresì ben nota. Comunemente la si interpreta secondo la cosiddetta "ipotesi del fenotipo smunto/florido (thrifty phenotype hypothesis)", secondo cui tale correlazione è dovuta ad uno squilibrio tra la nutrizione fetale ridotta e quella postnatale eccessivamente abbondante. Al riguardo, comunque, esistono opinioni differenti. Utilizzando un'analisi statistica del tipo della regressione logistica, Rajaleid et al hanno studiato 1058 soggetti -messi a confronto con 1478 controlli- per valutare l'influenza del peso alla nascita sul rischio d'infarto del miocardio. Anche il concomitante contributo del body mass index da adulti è stato preso in considerazione, esprimendolo sotto forma di indice sinergico. E' così risultato che il peso molto basso alla nascita è associato con un aumento rischio d'infarto del miocardio (odds ratio= 2.0;intervallo di confidenza 95%] = 1.4-2.9). Nei casi d'infarto non fatale, estrapolando l'influenza del rapporto circonferenza addominale/circonferenza delle anche, dell'insulino-resistenza, della pressione arteriosa e dell'assetto lipidico, la forza dell'associazione basso peso-infarto si riduce un po'. Il basso peso alla nascita insieme ad un body mass index elevato

al momento dell' infarto dà luogo ad un odds ratio di 10.8 (3.6-31.8) in confronto a quello dei soggetti venuti alla luce normopeso e con un BMI normale al momento dell' insorgenza della sindrome coronarica acuta. L'indice sinergico era 6.5 (95% CI = 1.8-24.0). In conclusione, il sinergismo tra il basso peso alla nascita ed un BMI alto da adulti conforta l' "ipotesi del fenotipo smunto/florido". Comunque tale meccanismo pare sottendere solo ad una minoranza dei casi d'infarto ed appare così di ridotta importanza per la salute pubblica [59].

Altri autori ritengono invece che solamente i neonati venuti alla luce macrosoma (peso alla nascita > 4000g) – e non quelli con basso peso- siano a maggior rischio per il successivo sviluppo di sovrappeso/obesità da adulti [60].

Anche secondo Wei JN et al, il basso peso alla nascita si associa solo ad un aumentato rischio di diabete infantile, ma non ad un più alto rischio di diventare sovrappeso/obesi. La condizione di macrosomia invece è quella correlata sia con l'obesità infantile che con il diabete. Comunque, nel criterio usato per reclutare i pazienti sono stati esclusi quelli pretermine, cioè quelli con un età gestazionale inferiore alle 37 settimane. Con questo modo di agire si è esclusa completamente la possibile influenza della prematurità sulla deposizione postnatale di adipe. Così facendo i prematuri di peso più basso, nati certamente ben prima delle 37 settimane di gestazione, e che avrebbero potuto portare a conclusioni statistiche diverse, sono stati esclusi dalla ricerca [61].

Anche i neonati piccoli per l'età gestazionale (SGA) sono esposti al rischio di andare incontro ad un rapido incremento di peso nel periodo postnatale, sino al punto di poter diventare obesi e di sviluppare malattie come il diabete di tipo 2, l'ipertensione arteriosa ed altre patologie cardiovascolari. Se da una parte si conoscono molti fattori di rischio potenzialmente responsabili di nascite SGA (fumo di sigaretta, madri di peso corporeo ridotto, madri di statura ridotta, dieta

materna, influenze etniche, ipertensione materna), invece non è noto quale possa essere il legame tra l'essere venuti al mondo SGA ed il successivo andare incontro allo sviluppo di sovrappeso/obesità. Per risolvere questo dilemma Morgan AR et al hanno studiato la concomitante presenza, in 227 soggetti nati SGA, di polimorfismi genetici già noti per essere associati all' obesità ed al diabete. Il gruppo di controllo era costituito da 319 bambini nati di peso appropriato per l'età gestazionale (AGA). I risultati ottenuti hanno mostrato che alcune mutazioni genetiche (KCNJ11, BDNF, PFKF, PTER e SEC16B) – già note per essere presenti nei soggetti obesi o diabetici di tipo 2- sono associate anche con la nascita SGA, essendo esse di gran lunga più diffuse in questo gruppo di pazienti che in quelli nati AGA. Allo sviluppo del fenotipo SGA, quindi, concorrono sia fattori ambientali che fattori genetici [62].

Nascita pretermine ed insorgenza di diabete di tipo 2

La nascita pretermine ed il basso peso alla nascita sembrerebbero anche predisporre all' insorgenza di diabete di tipo 2. Comunque l'entità e la forza di tale correlazione è rimasta incerta sino a quando, nel 2008, è stata pubblicata una review sistematica su tutti i dati pubblicati in letteratura sull' argomento, attinti dai motori di ricerca EMBASE (dal 1980), MEDLINE (dal 1950) e Web of Science (dal 1980).

Dei 327 studi esaminati, solo 31 sono stati considerati rilevanti. Nel complesso essi coinvolgevano 152.084 soggetti. La correlazione tra le due condizioni in esame è stata espressa come odds ratio per chilogrammo d'incremento di peso. Sono stati costruiti dei modelli statistici che hanno consentito sia correzioni

(per il body mass index e lo status socioeconomico) sia di escludere l'effetto di fattori come la macrosomia alla nascita ed il diabete gestazionale.

Una correlazione inversamente proporzionale tra basso peso alla nascita e diabete di tipo 2 è stata osservata in 23 di questi studi (in 9 di essi c'era una significatività statistica), mentre un'associazione comunque positiva è stata riscontrata in 8 (in 2 di questi studi c'era una significatività statistica). Le popolazioni in studio sono risultate essere abbastanza eterogenee tra di loro, come testimoniato dal fatto che in 2 popolazioni di nativi nord americani vi era un'alta prevalenza di diabete materno, come pure anche in un'altra popolazione di giovani adulti. Nel complesso degli studi esaminati, l'odds ratio per il diabete di tipo 2, aggiustato per età e genere, è risultato pari a 0.75 (95% CI, 0.70-0.81) per chilogrammo di peso. La correlazione tra peso alla nascita e futura insorgenza di diabete di tipo 2 è risultata particolarmente evidente per pesi inferiori ai 3 chilogrammi. La correzione per il body mass index da adulti rinforzava solo di poco la correlazione in esame (odds ratio 0.76 [95% CI, 0.70-0.82] prima della correzione e 0.70 [95% CI, 0.65-0.76] dopo la correzione). La correzione per le condizioni socioeconomiche non influenzava materialmente l'associazione (OR, 0.77 [95% CI, 0.70-0.84] prima della correzione e 0.78 [95% CI, 0.72-0.84] dopo la correzione). In conclusione, nella gran parte delle popolazioni studiate esiste una proporzionalità inversa tra peso alla nascita e rischio di diabete di tipo 2 [63].

Un altro recente studio è stato condotto su una popolazione danese per valutare l'associazione tra prematurità/peso alla nascita e l'insorgenza di diabete di tipo 2. Su questa possibile correlazione è stato valutato anche l'effetto dell'insulino-resistenza e della funzionalità delle beta cellule pancreatiche. Sono stati così esaminati 4744 danesi di mezz'età. Le informazioni sul peso alla

nascita e sull'età gestazionale sono stati ricavati dai registri dei nidi di puericoltura, mentre la glicemia, l'insulino-resistenza (indice di Matsuda) e la funzionalità delle beta cellule pancreatiche (disposition index) sono stati testati dopo un carico orale di 75 g di glucosio. I partecipanti ex pretermine divenuti ormai adulti sono stati messi a confronto con un gruppo di soggetti anch'essi adulti, ma nati a termine e piccoli per l'età gestazionale. I risultati trovati hanno dimostrato che una riduzione di 1 Kg di peso è associata ad un aumentato rischio di sviluppare un diabete di tipo 2 del 51% (OR 0.49, 95% CI 0.35-0.69). Lo stesso dicasi per l'indice ponderale, che esprime la magrezza alla nascita, il quale è quindi anch'esso associato all'insorgenza di diabete di tipo 2. La prevalenza di quest'ultimo è simile nei partecipanti allo studio nati prematuri ed in quelli venuti alla luce piccoli per l'età gestazionale, sebbene i primi avessero un maggiore peso alla nascita. Inoltre gli z-scores del peso alla nascita negli ex prematuri, che riflettono la crescita del feto, non sono risultati correlati con il rischio di sviluppare diabete di tipo 2 e con le altre misure della regolazione della glicemia. Mentre esiste una proporzionalità inversa tra il basso peso alla nascita e l'insulino-resistenza e la funzione delle beta cellule, la prematurità in sé è associata con la sola ridotta sensibilità all'insulina. L'interpretazione di questi dati porta a sostenere che, mentre l'associazione del basso peso alla nascita con il rischio di diabete di tipo 2 dipende sia dalla funzione delle beta cellule pancreatiche che dalla ridotta sensibilità all'insulina, invece la prematurità è correlata con il rischio di sviluppare diabete di tipo 2 attraverso la sola ridotta sensibilità all'insulina ed indipendentemente dalla crescita fetale [64].

La ridotta sensibilità all'insulina, o insulino-resistenza, svolge quindi un ruolo di fondamentale importanza nella patogenesi dell'aumentato rischio diabetico di

chi è nato prematuro e/o con basso peso. Per valutare anche l'influenza esercitata sull'insulino-resistenza dalla crescita durante l'infanzia, sono stati messi a confronto 31 soggetti nati pretermine ed appropriati per l'età gestazionale, 28 soggetti nati pretermine piccoli per l'età gestazionale e 30 nati a termine con un peso normale (gruppo di controllo). I pretermine hanno dimostrato una ridotta sensibilità all'insulina rispetto ai controlli, come pure valori pressori più elevati. Aumenti di altezza e peso durante l'infanzia non fanno altro che accentuare queste differenze [65].

L'influenza dei fattori ambientali: il rischio cardiovascolare del neonato pretermine sottoposto a terapia postnatale con corticosteroidi

Lo sviluppo nei nati pretermine d'ipertrofia cardiaca indotta dalla somministrazione di corticosteroidi è ben noto da molto tempo. Tale ipertrofia comporta un incremento delle dimensioni dei miociti cardiaci, come pure la perdita del loro normale orientamento spaziale nel muscolo e lo sviluppo di fibrosi.

Corticosteroidi nel pretermine

La somministrazione di corticosteroidi per prevenire e curare la cosiddetta "malattia polmonare cronica" (chronic lung disease, CLD) o bronco displasia del pretermine è stata ed è oggetto di un ampio dibattito. Sino ai primi anni novanta i corticosteroidi sono stati largamente utilizzati nei reparti di Terapia intensiva neonatale, in particolar modo il desametasone [66]. Questo comportamento era giustificato dai benefici effetti dei corticosteroidi nel migliorare la funzione

respiratoria, nel ridurre sia il bisogno della ventilazione meccanica assistita che la necessità di somministrare ossigeno e nel ridurre la mortalità perinatale [6]. Comunque, tenendo conto dei numerosi effetti collaterali a breve ed a lungo termine dei corticosteroidi, sin dal 2002 l'Accademia Americana dei Pediatri e la Società Canadese di Pediatria ne hanno sconsigliato l'uso per la CLD del pretermine, suggerendo di limitarne la somministrazione alle circostanze cliniche estremamente serie (pretermine in condizioni critiche di massimo supporto ventilatorio e di somministrazione d'ossigeno) [68]. Nonostante queste avvertenze, i corticosteroidi continuano comunque ad essere ampiamente somministrati nelle Terapie intensive neonatali di periferia, anche in condizioni cliniche di non estrema necessità.

Effetti collaterali a breve termine dei corticosteroidi sul cuore del pretermine: la comparsa di cardiomiopatia ipertrofica

Riguardo alle perplessità sui possibili effetti collaterali dei corticosteroidi neonatali, tra quelli a breve termine a carico dell'apparato cardiovascolare vi è certamente il fatto che una terapia corticosteroidica postnatale protratta per 2-3 settimane può determinare un ingrossamento delle pareti cardiache, con conseguente possibile ostruzione del tratto d'efflusso ventricolare sinistro, la quale generalmente regredisce con l'interruzione del trattamento [69-70].

Nello specifico, il rischio relativo di sviluppare una cardiomiopatia ipertrofica è del 4,39 (intervallo di confidenza al 95%: 1,40-13,37) nei pretermine sottoposti ad un iniziale breve trattamento con il desametasone (meno di 36 ore) e del 14,3 (intervallo di confidenza al 95%: 1,20 - 67,69) in coloro che sono stati sottoposti ad un trattamento moderatamente prolungato (7-14 giorni) [71,72].

Un simile effetto collaterale può essere provocato anche dall' uso del metilprednisolone e dell' idrocortisone, due altri corticosteroidi utilizzati contro la CLD [73, 74]

In relazione al meccanismo fisiopatologico responsabile di questo effetto avverso, è noto che la terapia prolungata con corticosteroidi determina un aumento della sintesi proteica all' interno dei cardiomiociti, che in ultimo induce la comparsa d'ipertrofia. Questi effetti sono generalmente transitori e scompaiono dopo 1-2 settimane dalla cessazione della somministrazione [75,76].

Nella pratica clinica s' incontrano moltissimi casi di cardiomiopatia ipertrofica del pretermine indotta dalla somministrazione di corticosteroidi. Il più delle volte si riscontra un transitorio ispessimento delle pareti ventricolari, in assenza di ostruzione del tratto d'efflusso. Dopo l'interruzione del trattamento, generalmente l'ipertrofia regredisce [77].

In un numero ridotto di casi il desametasone è responsabile della comparsa sia di un' ostruzione dell' efflusso ventricolare sinistro sia d'insufficienza cardiaca(5). Questi cambiamenti emodinamici richiedono un' intervento terapeutico di tipo cardiologico per ridurre il precarico, la congestione polmonare ed il calo dell' output cardiaco [78].

E' riportato in letteratura un singolo caso di pretermine con cardiomiopatia ipertrofica ostruttiva indotta dai corticosteroidi con conseguenti riduzione del flusso coronarico ed infarto transmurale [79]

In considerazione dei potenzialmente rapidi, significativi cambiamenti nello spessore delle pareti ventricolari sinistre e del tratto d'efflusso dello stesso ventricolo, si raccomanda di eseguire ecocardiogrammi seriati per avere un attento quadro della situazione [80].

Effetti collaterali a lungo termine dei corticosteroidi sul cuore del pretermine: la comparsa di cardiomiopatia dilatativa

Studi recenti, inoltre, hanno ipotizzato che i corticosteroidi somministrati nel periodo neonatale possano avere anche un effetto negativo a lungo termine sul cuore, dovuto all' inibizione della mitosi dei cardiomiociti, che determinerebbe una riduzione nel numero delle cellule muscolari cardiache da adulti [81]. Questi cambiamenti sembrano indurre la comparsa di una precoce disfunzione diastolica, secondaria allo sviluppo di cardiomiopatia dilatativa [82].

Tutto ciò potrebbe determinare una riduzione dell' aspettativa di vita, come osservato nelle cavie da laboratorio trattate con desametasone nel periodo neonatale

Caratteristiche morfologiche e microscopiche della cardiomiopatia ipertrofica indotta dalla somministrazione di corticosteroidi

La cardiomiopatia ipertrofica del pretermine indotta dalla somministrazione di corticosteroidi da un punto di vista macroscopico si caratterizza per l'ipertrofia asimmetrica delle pareti ventricolari e per la riduzione del diametro interno della cavità ventricolare sinistra [75, 83].

Le caratteristiche microscopiche sono invece quelle di un ridotto numero di cardiomiociti, che appaiono di lunghezza e volume aumentati, ad indicare come il loro ipertrofizzarsi sia un meccanismo per compensare la riduzione del loro numero in toto. Al microscopio sono evidenti anche aree di fibrosi. E' possibile osservare inoltre uno sbilanciamento tra le dimensioni aumentate delle pareti del cuore ed i piccolo vasellini intramurali [81, 83-85].

L'esame citologico conferma gli effetti sul cuore del desametasone e degli altri corticosteroidi, con il conseguente aumento dei depositi di collagene tra i miociti.

Foci di miocitolisi sono di frequente riscontro, soprattutto nelle porzioni subendocardiche ed in quelle di mezzo delle pareti del cuore, piuttosto che in quelle epicardiche ed anche, seppur in modo meno evidente, intorno ai vasi del cuore stesso. Vicino ai siti di miocitolisi sono presenti numerosi macrofagi. La loro presenza, come pure quella di un gran numero di linfociti, presuppone la presenza di un certo grado d'infiammazione. Mast cellule, anch'esse implicate nell' infiammazione, sono presenti soprattutto in prossimità dei vasi sanguigni [83, 86].

Aspetti umorali della cardiomiopatia ipertrofica indotta dalla somministrazione di corticosteroidi

Da un punto di vista umorale la cardiomiopatia ipertrofica indotta dalla somministrazione di corticosteroidi comporta nel complesso l'intervento di una miriade di sostanze: ormoni (catecolamine, angiotensina II, TGF-beta, coinvolti nei processi d'ipertrofia e fibrosi), fattori di crescita (coinvolti nell' ipertrofia cardiaca), fattori apoptotici (responsabili della miocitolisi), troponine (liberate nel sangue in conseguenza della necrosi miocardica, anche parcellare), fattori endoteliali (Et-1, ADMA, vWf, responsabili del danno endoteliale), fattori protrombotici (PAF, PDGF, fibrinopeptide A, TAT, F1+2), markers dell' infiammazione (TGF-beta, IL-6), indici di aumentato stress delle pareti cardiache (ANP per gli atri; BNP e NTpBNP per i ventricoli), metalloproteinasi (MMPs, responsabili della fibrosi e TIMPs, responsabili della collagenolisi. Dallo squilibrio derivante da una eccessiva attivazione delle prime e da un eccesso d'inibizione delle seconde discende il prevalere dei processi fibrotici) [87].

Tabella . Biomarkers of hypertrophic cardiomyopathy induced by corticosteroids administration

Class	Biomarkers	Action
Hormones	catecholamines	Hypertrophy
	TGF-beta	Fibrosis
	Ang-II	hypertrophy/fibrosis
Growth factors	?	hypertrophy
Apoptotic biomarkers	?	myocytolysis
Troponins	cTnT	myocyte injury
Endothelial biomarkers	ET-1	endothelial damage
	ADMA	endothelial damage
	vWf	endothelial damage
Prothrombotic	PAF	biomarkers thrombotic status
	PDGF	thrombotic status
	fibrinopeptide A	thrombotic status
	TAT	thrombotic status
	F1+2	thrombotic status
Inflammatory biomarkers	TGF-beta	fibrosis
	IL-6	hypertrophy
Cardiac walls stress biomarkers	ANP	atrial walls stress
	BNP	ventricular walls stress
	NTpBNP	ventricular wall stress
Metalloproteinases	MMPs	fibrosis
	TIMPs	collagenolysis

Abbreviations: transforming growth factor-beta (TGF-beta), angiotensin II (Ang-II), troponin T (cTnT), endothelin (ET-1), asymmetric dimethylarginine (ADMA), Von Willebrand factor (vWf), platelet-activating factor (PAF), platelet-derived growth factor (PDGF), fibrinopeptide A, thrombin - antithrombin III complex (TAT), F1+2, tumour growth factor-beta (TGF- beta), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), atrial natriuretic peptide (ANP), B-type Natriuretic Peptide (BNP), N-terminal-Pro-BNP (NTpBNP), matrix metalloproteinases (MMPs), and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMPs)

Proposta di un modello fisiopatologico coinvolgente tutti i biomarkers della cardiomiopatia ipertrofica indotta dalla somministrazione di corticosteroidi

Un gran numero dei fattori umorali appena citati (soprattutto l'angiotensina II, il TGF-beta, l'ET-1 e l'IL-6) sono direttamente o indirettamente attivati dal desametasone nel cuore dei neonati pretermine. Queste molecole inducono una serie di reazioni a cascata che, in ultimo, determinano a livello della membrana cellulare un'apertura dei canali del calcio e, quindi, un aumento della concentrazione di questo ione dentro la cellula.

A testimonianza di ciò, questa cascata può essere inibita dal calcio-antagonista nifedipina, capace perciò di indurre una regressione dell'ipertrofia cardiaca [88].

Il ruolo principale dell'elevata concentrazione intracellulare di calcio è quello di modulare – a livello del nucleo – l'attività di alcuni fattori di trascrizione (NFAT, MEF₂, NF-KB, AP-1, SMADA, STAT), che possono indurre ipertrofia cardiaca, apoptosi e fibrosi attraverso l'attivazione di alcune isoforme di proteine fetali.

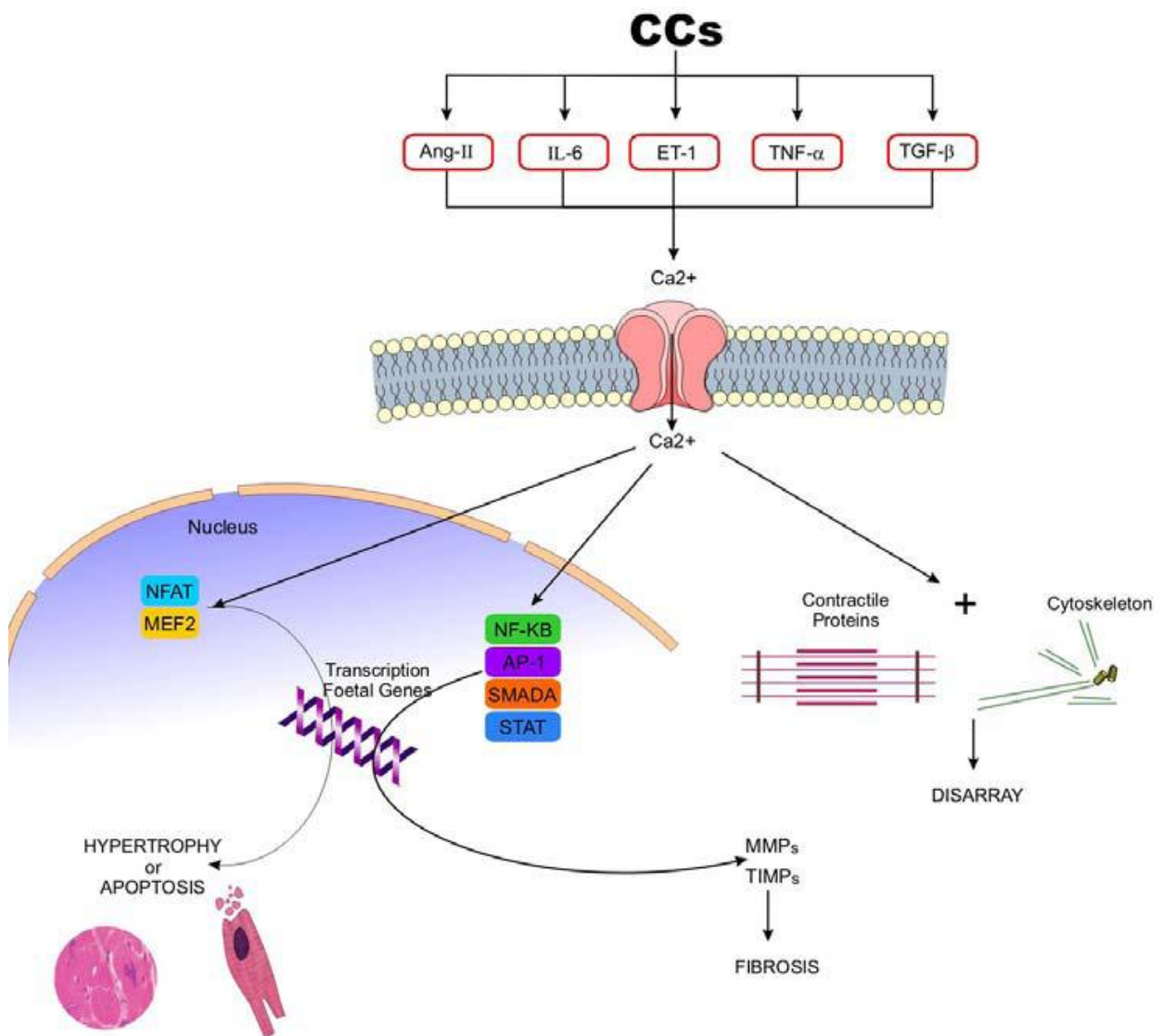
Il calcio agisce anche sulle proteine contrattili e su quelle del citoscheletro, l'impalcatura che mantiene la normale struttura spaziale del miocita.

A testimonianza di ciò, in studi sperimentali condotti sulle cavie da laboratorio, il desametasone era in grado d'indurre ipertrofia nelle cellule cardiache dei cuccioli neonati, attraverso modificazioni nei filamenti di desmina, responsabile della disorganizzazione ("disarray") nella disposizione spaziale dei miociti cardiaci. Il disarray potrebbe predisporre al peggioramento della funzionalità cardiaca, con la comparsa di cardiomiopatia dilatativa e d'insufficienza cardiaca in età più avanzata [89,90].

Studi di microscopia elettronica hanno confermato queste osservazioni anche nel cuore umano colpito da scompenso (92). Osservazioni d'estremo interesse sono

stati ottenuti studiando la redistribuzione delle isoforme delle catene pesanti di miosina. La miosina è una proteina contrattile presente nel muscolo cardiaco. Con le tecniche di biologia molecolare denominate Northern e Southern Blot è stato riscontrato, nei cuori dei neonati pretermine trattati alla nascita con corticosteroidi, un aumento delle catene alfa di miosina ed una riduzione di quelle beta. Un simile reperto è presente anche nell'ipertrofia cardiaca del neonato figlio di madre diabetica [91].

Queste considerazioni suggeriscono che quello appena proposto possa rappresentare il modello capace di spiegare i meccanismi molecolari e cellulari implicati nell'insorgenza dell'ipertrofia ventricolare dei neonati pretermine sottoposti a terapia con corticosteroidi contro la displasia broncopolmonare [87].



Considerazioni conclusive

I meccanismi fisiopatologici, molecolari e cellulari, alla base dell'insorgenza della cardiomiopatia ipertrofica dell'adulto (sia idiopatica che acquisita) sono stati ampiamente descritti in letteratura. Al contrario, poco ancora è stato pubblicato sulla cardiomiopatia ipertrofica del neonato, specie se indotta dai corticosteroidi.

Come appena riportato, molte modificazioni sono state riscontrate nel cuore del neonato pretermine in risposta alla somministrazione di corticosteroidi.

Studi epidemiologici sono stati condotti sulla base dell'ipotesi dell'origine fetale delle malattie dell'adulto: in altre parole, modificazioni dell'ambiente intrauterino o neonatale possono indurre un aumentato rischio di sviluppare poi ipertensione arteriosa o altre malattie cardiovascolari [92]. In particolare l'esposizione a dosi di corticosteroidi, anche eccessive o eccessivamente prolungate, durante le prime fasi della vita neonatale sembrerebbe determinare dei lenti cambiamenti nella funzione cardiaca, che sfocerebbero nella cardiopatia conclamata da adulti [93].

La definizione "perinatal programming" descrive proprio i cambiamenti adattativi a lungo termine cui un organismo va incontro in risposta ad uno stimolo precoce, come l'effetto collaterale che fa seguito alla somministrazione neonatale di un farmaco. In questo caso specifico, la definizione di cui sopra può essere applicata per descrivere l'aumentata incidenza di malattie, anche cardiovascolari, in una popolazione esposta alla somministrazione di corticosteroidi appena dopo la nascita. Questi stimoli comportano un gran numero di modificazioni nell'espressione genica e nella funzione cardiaca, alcuni dei quali persistono sino all'età adulta [83, 94].

Le osservazioni degli studi sperimentali citati in questo paragrafo sembrerebbero porre in dubbio la sicurezza del trattamento con corticosteroidi dei neonati pretermine. Se infatti molte delle conclusioni degli studi condotti sugli animali fossero applicabili anche all'uomo, tutti i pretermine cui, alla nascita, siano stati somministrati corticosteroidi a causa della CLD dovrebbero essere inseriti in programmi molto precoci di prevenzione cardiovascolare [95]. E' certo, infatti, che l'ipertrofia che si manifesta nel cuore dei cuccioli di cavia da laboratorio

trattati con il desametasone è simile a quella osservata nei prematuri umani cui siano stati dati corticosteroidi [83].

In conclusione, proprio lo studio di quei marcatori umorali che abbiamo visto essere coinvolti nell'insorgenza della cardiomiopatia ipertrofica da corticosteroidi del pretermine potrebbe essere utile per prevenire o modificare il corso naturale di questo evento avverso [87].

LO STUDIO DI UNA POPOLAZIONE DI GIOVANI ADULTI NATI PRETERMINE

Presupposti

Grazie ai progressi della medicina, negli ultimi anni la sopravvivenza dei neonati pretermine è drammaticamente aumentata. Questo è evidente soprattutto per quanto riguarda quelli nati con un peso estremamente basso, cioè con un peso alla nascita inferiore ai 1000 grammi.

Nonostante questi incoraggianti risultati, però, i pretermine vanno frequentemente incontro a numerose sequele, soprattutto di tipo morfologico (dismorfismi, bassa statura), neurologico (ritardo mentale, paralisi, epilessia) e renale (insufficienza renale precoce).

Recentemente si è notato che la nascita pretermine può influenzare anche l'apparato cardiovascolare, con la precoce comparsa sia di numerosi fattori di rischio cardiovascolare, sia di patologie cardiovascolari conclamate. Obesità, ipertensione, aterosclerosi, diabete nei nati pretermine ormai cresciuti insorgono più frequentemente che nei nati a termine, come pure l'infarto miocardico. La mortalità cardiovascolare stessa è significativamente più alta negli ex pretermine.

Scopi

Il nostro studio si è posto l'obiettivo di studiare uno specifico sottogruppo di giovani adulti nati pretermine, ovvero di quelli che, alla nascita, pesavano meno di 1000 grammi (extremely low birth weight, ELBW). Si tratta di soggetti che, più degli altri, hanno sofferto del loro stato di prematurità alla nascita,

caratterizzato da un'estrema precocità che ne aveva messo a repentaglio la sopravvivenza stessa.

Questi giovani sono stati sottoposti ad una valutazione cardiologica clinica e strumentale completa (misurazione auscultatoria della pressione arteriosa, elettrocardiogramma standard, ecocardiogramma color Doppler), ad un controllo angiologico (Doppler dei tronchi sovraortici, studio della flow-mediated dilation), ad un prelievo di sangue venoso (per il dosaggio plasmatico della dimetilarginina asimmetrica, una sostanza che ha un'azione inibitoria diretta sulla capacità vasodilatatoria dell'ossido nitrico endoteliale) e ad un esame delle urine (per lo studio della metabolomica, una nuova tecnica che consente di valutare – nei fluidi corporei- il profilo metabolico specifico di ciascun individuo, per metterlo a confronto con quello di soggetti sicuramente sani. DATI NON ANCORA DISPONIBILI AL MOMENTO DELLA STESURA DELLA TESI).

L'obiettivo del lavoro è stato quindi quello di valutare il profilo di rischio cardiovascolare in una popolazione omogenea di ex pretermine di grado elevato. Lo studio si è proposto inoltre di valutare se vi fosse una correlazione tra i parametri cardiovascolari che si è riscontrato essere alterati e parametri antropometrici e clinici come l'età cronologica, l'età gestazionale, il peso alla nascita e la durata del ricovero in Terapia intensiva neonatale.

Infine, lo studio ha cercato di dare un'interpretazione fisiopatologica – talora solo ipotetica, trattandosi di argomenti nuovi e "di frontiera" per quanto riguarda la ricerca- ai risultati talora inaspettati che sono stati trovati.

MISURAZIONE DELLA PRESSIONE ARTERIOSA

Aspetti metodologici

Sono stati reclutati 39 giovani adulti ex pretermine di peso estremamente basso (12 maschi e 27 femmine) di età compresa tra 17 e 32 anni (media: 23.7 ± 3.3), ai quali è stata misurata la pressione arteriosa con il metodo auscultatorio, utilizzando uno sfigmomanometro a colonna di mercurio (F.Bosch Medizintechnik, GmbH & Co. KG, Bisingen, Germania).

Le misurazioni sono state effettuate sempre dallo stesso specialista in Cardiologia, la cui abilità nel misurare la pressione era stata preventivamente saggiata confrontando le misurazioni da lui rilevate con quelle registrate da un apparecchio oscillometrico già validato in letteratura (Dinamap, GE Medical System Information Technologies, Inc., Milwaukee, Wisconsin, USA). Sono stati utilizzati dei manicotti gonfiabili di dimensioni adeguate alla circonferenza del braccio dei pazienti. In particolare, ci si è assicurato che essi coprissero i due terzi della lunghezza del braccio stesso.

In accordo con le Linee guida internazionali, la pressione è stata misurata in condizioni quanto più possibili basali, con il/la paziente supino che si trovava in uno stato di quiete da almeno dieci minuti. Il raggiungimento dello stato di quiete è stato rilevato misurando la frequenza cardiaca al polso. La pressione misurata è stata quella omerale destra, con il braccio libero dalla possibile costrizione esercitata dai vestiti e con il manicotto posizionato a livello del cuore. Specificatamente, la testa dello stetoscopio è stata poggiata sull'arteria brachiale, a livello della fossa cubitale, in posizione mediale, circa 2 centimetri al di sotto del margine inferiore della cuffia.

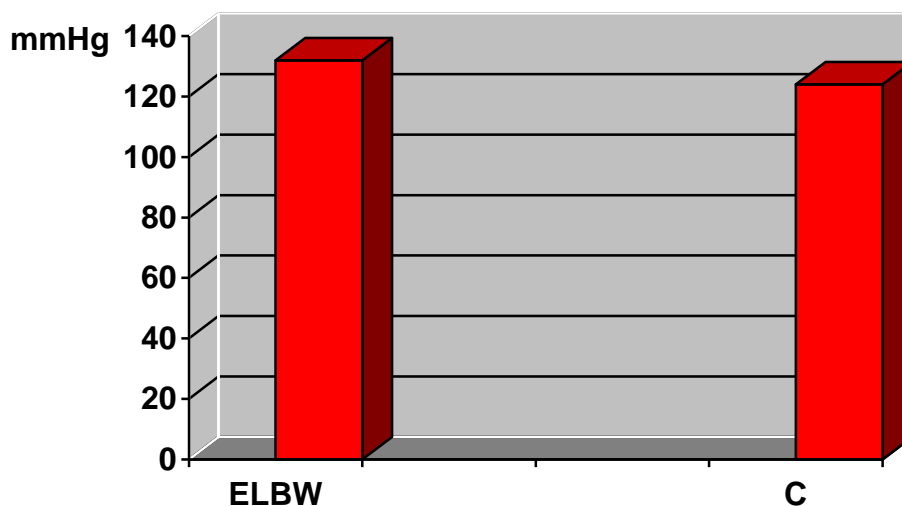
Ci si è assicurati che la cuffia si sgonfiasse lentamente, con una frequenza di 2 millimetri di mercurio al secondo: questo è stato possibile perché allo sfigmomanometro era stato prima applicato un device capace di regolare la deflazione della cuffia.

Le pressioni sistolica e diastolica sono state definite in base rispettivamente al 1° ed al 5° tono di Korotkoff. Sono state rilevate tre misurazioni pressorie, sia per la pressione sistolica che per la diastolica ed il valore ritenuto quello effettivo è derivato dalla media tra le tre misurazioni effettuate.

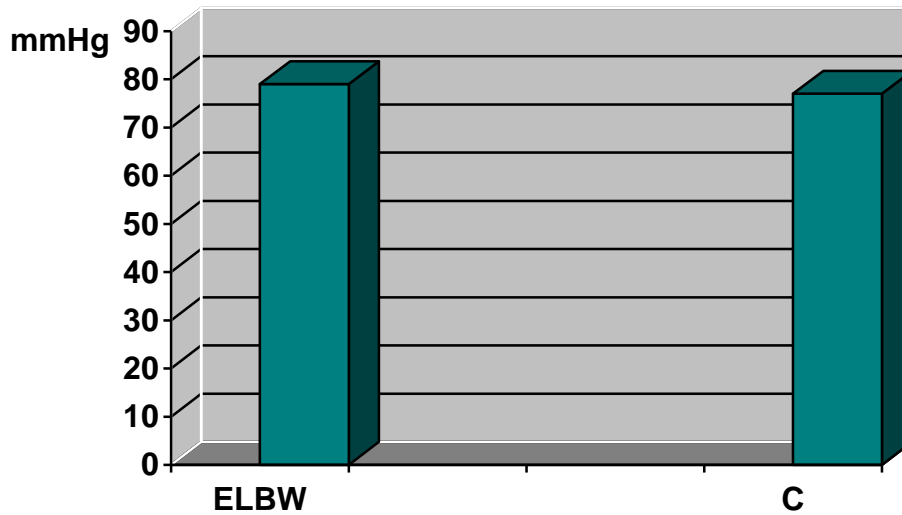
Le misurazioni ottenute sono state messe a confronto con quelle di un gruppo di controllo di giovani adulti sani, nati a termine, paragonabili ai pazienti esaminati per età, proporzione tra i due generi e struttura fisica. Per l'analisi statistica delle differenze pressorie tra i due gruppi è stato utilizzato il test t di Student.

Risultati

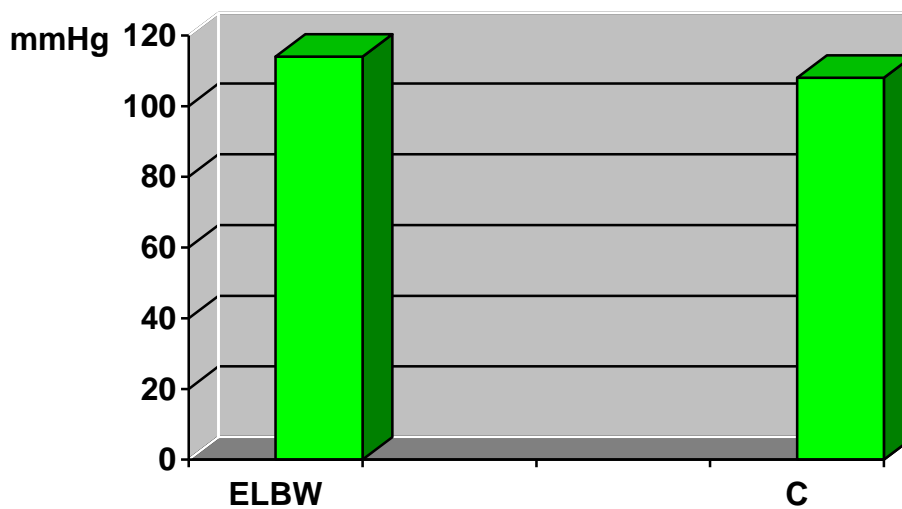
Le media delle pressioni sistoliche registrate è stata di 132 ± 4 , mentre quella del gruppo di controllo è stata pari a 124 ± 5 , con una differenza statisticamente significativa ($p < 0.05$).



Le media delle pressioni diastoliche registrate è stata di 79 ± 3 , mentre quella del gruppo di controllo è stata pari a 77 ± 2 , senza nessuna differenza statisticamente significativa ($p = ns$).



Le pressioni medie sono state di 114 ± 3 vs 108 ± 3 , senza alcuna differenza degna di significato rispetto a quella dei controlli ($p = ns$).



Non è stata riscontrata alcuna differenza significativa tra i due generi, né per quanto riguarda le pressioni sistoliche, né per quelle diastoliche, né per la pressione media.

Discussione

I nostri risultati, basati su un misurazione estemporanea della pressione arteriosa eseguita con il metodo auscultatorio, sono analoghi a quelli riscontrati da uno studio portato avanti utilizzando invece il monitoraggio ambulatoriale della pressione arteriosa su un piccolo gruppo di ex prematuri, piccoli per l'età gestazionale, messi anch'essi a confronto con un gruppo di controllo di soggetti nati a termine.

Anche nello studio citato le differenze hanno riguardato le sole pressioni sistoliche, mentre nessuna differenza statisticamente significativa è stata riscontrata per le pressioni diastoliche [30].

Infatti, come già detto, l'associazione tra il basso peso e lo sviluppo di pressione alta riguarda soprattutto i valori di pressione sistolica, mentre non c'è correlazione con i valori diastolici [45,96].

Il riscontro di valori pressori alti si ricollega al fatto che il processo di formazione dei reni, nel prematuro, non ha avuto il tempo di completarsi. La nefrogenesi risulta tanto più incompleta quanto più precoce è stata la nascita, cioè quanto minore è l'età gestazionale del prematuro. I reni del prematuro hanno così un ridotto numero di unità filtranti, i nefroni [32]. Le conseguenze di una nefrogenesi che non abbia avuto il tempo di completarsi sono la riduzione globale del numero di nefroni con conseguenti ridotta superficie filtrante dei reni, iperfiltrazione di ogni singolo nefrone, sclerosi glomerulare e morte cellulare programmata [35]. Una teoria più suggestiva, invece, sostiene che l'ipertensione arteriosa non sia la risultante del ridotto numero di nefroni (la

riduzione del numero di nefroni verrebbe infatti bilanciata da un' ipertrofia compensatoria, sicchè la superficie filtrante in toto risulterebbe invariata), bensì la conseguenza di modificazioni postglomerulari renali, che implicherebbero un maggior riassorbimento di sodio e l'attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone) [39].

Esiste però anche un' ipotesi vascolare, secondo la quale esiste una correlazione inversa tra il contenuto in elastina della parete arteriosa ed il peso alla nascita [40]. L'incremento della rigidità arteriosa determinerebbe, quindi, una vasocostrizione e così un aumento della pressione arteriosa [41,42].

Esiste infine anche una terza ipotesi, quella neuroendocrina, secondo cui l'esposizione materna ai glucocorticoidi è responsabile sia della ridotta crescita fetale che dell' aumento pressorio, per attivazione del sistema renina-angiotensina-aldosterone, con conseguenti aumentata attività simpatica, aumentato riassorbimento tubulare di sodio, attivazione surrenalica della secrezione di aldosterone, vasocostrizione arteriolare diretta, ridotta secrezione pituitaria di ormone antidiuretico. Vi sono anche dei modelli animali che dimostrano come il basso peso alla nascita sia associato all' attivazione renale del sistema renina-angiotensina-aldosterone [43]. Il meccanismo responsabile dell' associazione prematurità alla nascita/ipertensione comunque non è ancora perfettamente chiaro, ed è probabilmente multifattoriale.

I nostri risultati sono quindi confortati dai dati della letteratura. Pur essendo i valori di pressione da noi misurati comunque normali, cioè non ipertensivi, essi sono risultati in ogni caso statisticamente più elevati di quelli del gruppo di controllo di soggetti sani nati a termine.

ANALISI ELETTROCARDIOGRAFICA ED ECOCARDIOGRAFICA STANDARD

Introduzione

Anche se, grazie ai progressi nella cura dei neonati, la sopravvivenza e la prognosi di quelli pretermine è drammaticamente migliorata, nel complesso le informazioni sugli effetti della prematurità sul sistema cardiovascolare di quelli sopravvissuti sono poche [6,22, 23].

A tal proposito, ci si è chiesto se: *a.* l'estrema prematurità alla nascita potesse indurre qualche alterazione evidenziabile ecocardiograficamente; *b.* potesse determinare l'insorgenza di eventuali alterazioni elettrocardiografiche, specialmente coinvolgenti la lunghezza del tratto QT e le misure da esso derivate (QT corretto per la frequenza cardiaca: QT_c ; dispersione del QT: QT_d); *c.* vi fossero delle correlazioni tra le eventuali alterazioni strumentali trovate ed alcune caratteristiche dei pazienti, come il body mass index (BMI), l'età gestazionale, il peso alla nascita e la durata del ricovero in Unità di terapia intensiva neonatale (UTIN).

Materiali e metodi

E' stato così condotto un confronto tra 24 ex pretermine ELBW (4 maschi e 20 femmine), di età compresa tra 20 e 30 anni (età media: $23,2 \pm 3,3$ anni) ed un gruppo di controllo (C) di 24 soggetti giovani nati a termine, paragonabili per genere, età, BMI. Tutti i soggetti coinvolti nello studio sono stati contattati in ordine alfabetico consultando i registri dell' UTIN dell' Università di Cagliari. Tutti i soggetti coinvolti nello studio sono stati contattati in ordine alfabetico consultando i registri dell' UTIN dell' Università di Cagliari. Essi rappresentavano

i più anziani prematuri ex-ELBW sopravvissuti, all'epoca della nascita assistiti nella sola UTIN esistente a Cagliari.

Criteri di esclusione sono stati : 1. la presenza di condizioni patologiche note per influenzare l'intervallo QT; 2. la somministrazione di farmaci noti per allungare il tratto QT (per questa ragione un paziente, che assumeva l'antidepressivo citalopram ed il cui QTc all'elettrocardiogramma era di 518 msec, è stato escluso dallo studio). I pazienti sono stati visitati dal punto di vista cardiologico ed il BMI è stato calcolato a partire dal peso e dall'altezza. Su ogni paziente è stato eseguito un elettrocardiogramma standard di superficie a 12 derivazioni ed un ecocardiogramma color Doppler standard.

Gli elettrocardiogrammi sono stati attentamente esaminati. In particolare, è stato misurato l'intervallo tra l'inizio dell'onda Q e la fine di quella T; in aggiunta, sono stati calcolati il QT_c (attraverso la formula di Bazett), ed il QT_d (la differenza riscontrata sullo stesso elettrocardiogramma tra la massima e la minima lunghezza del tratto QT) [97,98]. I dati ECG sono stati poi messi a confronto con i dati antropometrici dei pazienti, e con l'età anagrafica, l'età gestazionale, il peso alla nascita e la durata del ricovero in UTIN, come riportato nei registri clinici.

Il consenso informato per la partecipazione allo studio è stato ottenuto da tutti i partecipanti (ex-ELBW e C).

Analisi statistica

I risultati dell'intera popolazione studiata (n=24) sono stati prima analizzati e poi quelli dei soggetti ex-ELBW sono stati messi a confronto con i C (n=24) usando il test non parametrico detto Mann-Whitney U-test. Le correlazioni tra i vari parametri esaminati sono state saggiate attraverso l'analisi univariata. L'analisi multivariata non è stata applicata a causa del fatto che il campione era

troppo piccolo per questo tipo di analisi statistica. Le relazioni tra QT_c e QT_d da una parte e l'età gestazionale ed il peso alla nascita dall'altra sono state valutate attraverso il coefficiente di correlazione di Pearson, per poi tracciare le corrispondenti linee di regressione. Valori di p<0.05 sono stati considerati come il minimo valore statisticamente significativo. Per tutte le analisi è stato utilizzato il software per computer (SPSS version 16.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

Risultati

Le caratteristiche della popolazione in studio (ex-ELBW vs C) sono state riassunte nella *Tabella 1*.

Tabella 1

	Ex-ELBW	C
Age (years)	23.2 ± 3.3	23.6 ± 2.9
Gestational age (weeks)	27.8 ± 2.3	39.4 ± 0.7
Birth weight (g)	840 ± 20.1	3.257 ± 0.391
Period of hospitalization (days)	91.9 ± 24.4	---

Nessuna differenza statisticamente significativa è stata riscontrata all' esame ecocardiografico tra la popolazione degli ex-ELBW ed i C (*Tabella 2*).

Tabella 2

	Ex- ELBW		C
p			
IVS (mm)	9.2 ± 3.6	9.5 ± 4.0	ns
PW (mm)	8.6 ± 2.9	8.2 ± 3.4	ns
EDV (mm)	48.2 ± 5.2	47.5 ± 5.8	ns
ESV (mm)	30.7 ± 1.8	29.2 ± 4.2	ns
EF (%)	61.6 ± 3.6	60.2 ± 4.4	ns

	> 1	> 1	
E/A	(24/24)	(24/24)	ns

I parametri ECG esaminati sono stati riassunti nella *Tabella 3*.

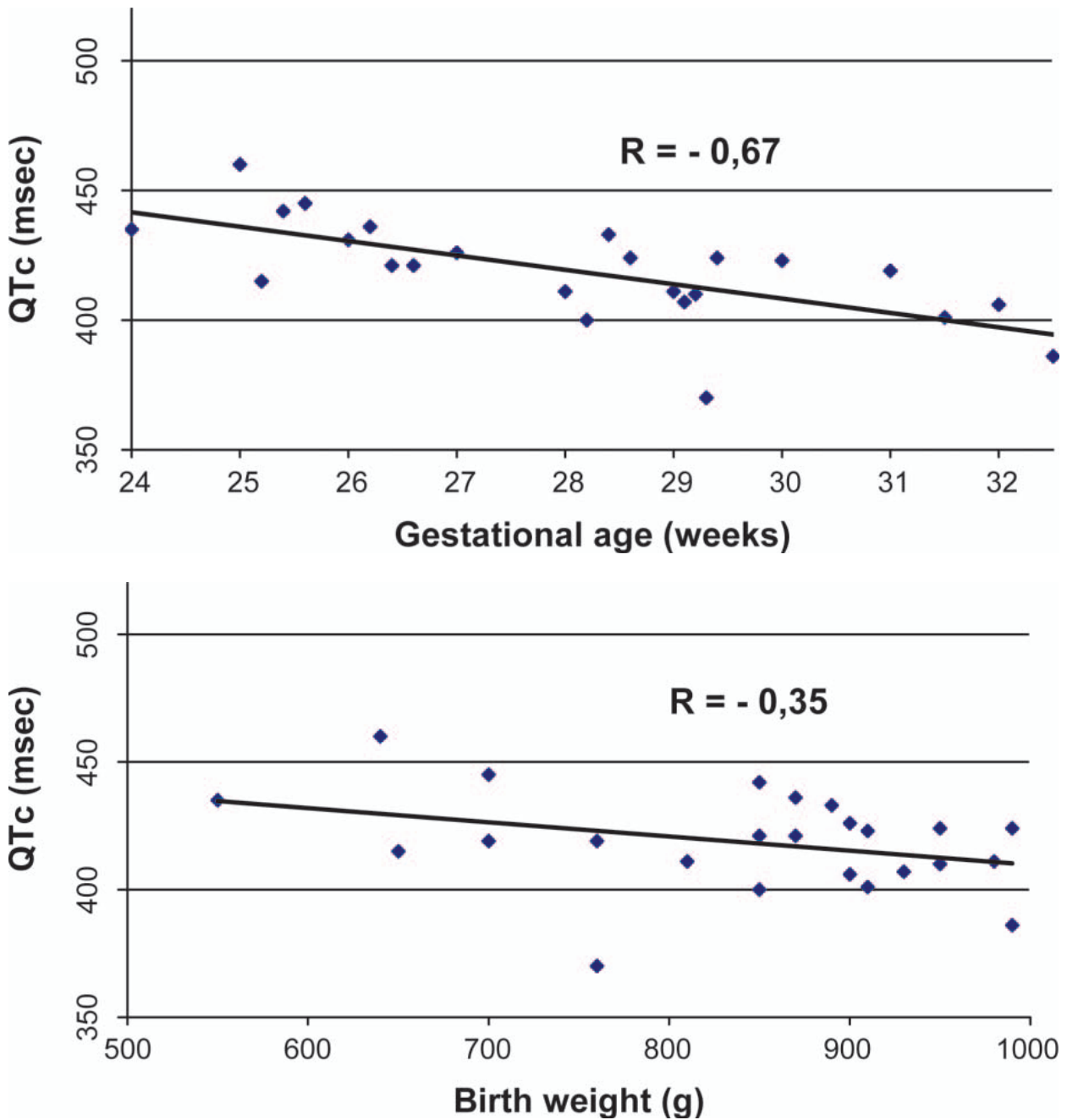
Tabella 3

	Ex-ELBW		C
P			
FC	78.2 ±	81.6 ±	
(beats/min)	3.3	2.7	ns
PR (msec)	141.5 ±	164.2 ±	
	13.4	24.0	0.0003
QRS (msec)	96.7 ±	99.3 ±	
	10.1	8.2	ns

	417.0 ±	369.9 ±	
QTc (msec)	23.6	19.5	0.00001
	30.4 ±	24.6 ±	
QTd (msec)	14.1	8.2	0.00001

Differenze statisticamente significative (ELBW vs C) sono state riscontrate per quanto riguarda il tratto PR (141.5 ± 13.4 msec vs 164.2 ± 24.0 msec, $p < 0.0003$), il tratto QT_c (417.0 ± 23.6 msec vs 369.9 ± 19.5 msec, $p = 0.00001$) ed il QT_d (30.4 ± 14.1 msec vs 24.6 ± 8.2 msec, $p < 0.00001$). Ventidue pazienti su 24 (91.7%) avevano un QT_c >400 msec. In relazione alle differenze tra i generi, la media del QT_c è stata di 408.7 ± 19.6 msec nei maschi e di 425.3 ± 27.6 msec nel genere femminile. In due pazienti (8.3% del campione, 1 maschio ed 1 femmina) il QT_c è risultato al di sopra del limite di normalità (460 msec per le femmine e 430 msec per i maschi) [99]. Andrebbe anche sottolineato che una delle ragazze ex premature ELBW dello studio, il cui QT_c era di 424 msec, aveva due gemelli eterozigoti, i quali avevano anch'essi un QT_c prolungato all'ECG: una femmina aveva il QT_c al limite superiore di normalità (446 msec), mentre il maschio lo aveva al di sopra (438 msec). I due gemelli non sono stati inclusi nello studio, poiché il loro peso alla nascita era rispettivamente di 1.220g e 1.200g, così da essere classificati tra i prematuri VLBW (peso alla nascita: 1001-1500 g).

Una significativa correlazione inversa è stata riscontrata tra il QT_c e l'età gestazionale ($r = -0.67$, $p < 0.0003$; *Figura 1*), mentre la correlazione inversa tra il QT_c ed il peso alla nascita non è risultata statisticamente significativa ($r = -0.35$, $p = ns$; *Figura 2*). Nessun' altra correlazione statisticamente significativa è stata riscontrata.



Discussione

I risultati del nostro studio mostrano che il QT_c ed il QT_d dei giovani adulti ex-ELBW sono significativamente più lunghi di quelli dei soggetti nati a termine appartenenti al gruppo di controllo [100]. In aggiunta, nell' 8,3% del campione il QT_c era oltre la norma, mentre la prevalenza del QT lungo nella popolazione generale varia tra lo 0.01 e lo 0.05% [101]. E' stata anche riscontrata una forte correlazione inversa tra il QT_c e l'età gestazionale.

Nella popolazione presa in esame vi è una netta sproporzione tra i due generi, con un' evidente prevalenza di quello femminile. Questa disparità può essere attribuita al fatto che, agli albori della terapia intensiva neonatale, sopravviveva un numero considerevolmente più elevato di pretermine di sesso femminile, per ragioni mai completamente spiegate con chiarezza [102]. Al meglio delle nostre conoscenze, le caratteristiche elettrocardiografiche dei pazienti pretermine di peso estremamente basso non sono mai state studiate prima d'ora. In letteratura sono state riportate delle osservazioni sul fatto che la cisapride, un farmaco utilizzato contro il reflusso gastro-esofageo, determina un allungamento dell'intervallo QT_c più accentuato nei neonati pretermine che in quelli nati a termine [103,104].

Le alterazioni elettrocardiografiche degli ex-ELBW sono certamente da attribuire alla loro condizione di prematurità, essendovi una forte correlazione inversa tra il QT_c e l'età gestazionale.

E' interessante notare come questo fatto sia diverso da quanto osservato negli adulti, in cui il QT_c si allunga progressivamente con l'età [105]. A tal proposito, la mancanza di correlazione tra il QT_c e l'età anagrafica osservata nel nostro studio si può probabilmente spiegare con la scarsità numerica del nostro campione, formato da persone di età molto simile. Infine, la relazione di

proporzionalità inversa tra il QT_c ed il peso alla nascita è in contrasto con quanto riportato tra gli adulti, dove vi è una proporzionalità diretta tra il QT_c ed il BMI [106]. Il fatto di avere trovato una significatività statistica nella relazione inversa del QT_c con l'età gestazionale, ma non in quella tra il QT_c ed il peso alla nascita ($r = -0,35$, $p = ns$), si può spiegare:

- a. principalmente, con la scarsità numerica del campione;
- b. con la mancanza di precisione nel calcolo dell'età gestazionale. Infatti, l'utilizzo di metodi differenti nella determinazione dell'età gestazionale frequentemente influenza anche la determinazione del peso corporeo per l'età gestazionale [107];
- c. con l'ipotesi che il prolungamento del tratto QT sia collegato alla condizione di prematurità alla nascita più che ad un ritardo di crescita intrauterina.

Un'interpretazione fisiopatologica dei risultati trovati non può non tenere in considerazione il ridotto sviluppo dei reni negli ex-ELBW, con conseguenti possibili squilibri elettrolitici. Quest'ipotesi potrebbe spiegare proprio le significative differenze all'elettrocardiogramma dei nostri pazienti rispetto ai C. Infatti, gli ex-ELBW hanno un numero significativamente ridotto di nefroni ed una significativa glomerulomegalia compensatoria rispetto ai nati a termine [108].

Questa oligonefropatia si correla significativamente con l'età gestazionale [109]. D'altro canto, sia il prolungamento del tratto QT_c che quello del QT_d, importanti fattori predittivi dell'insorgenza di tachiaritmie e di morte cardiaca improvvisa, sono stati osservati in pazienti affetti da insufficienza renale cronica ed in quelli emodialitici [110-112].

Sebbene squilibri della concentrazione elettrolitica durante la dialisi, disfunzione del sistema nervoso autonomo ed ipertrofia cardiaca possano influenzare il QT, l'esatto meccanismo rimane inspiegato ed il prolungamento dell'intervallo QT_c nell'insufficienza renale cronica appare influenzato da molteplici fattori [113].

I soggetti presi in esame in questo studio erano privi di fattori di rischio e malattie cardiovascolari e le concentrazioni plasmatiche degli elettroliti erano normali, senza alcuna correlazione statisticamente significativa con il QT_c o il QT_d.

Possiamo supporre che una disfunzione subclinica, probabilmente indotta dall'immaturità dei reni (ad es. la modificazione di un substrato metabolico, coinvolgente i canali ionici responsabili della ripolarizzazione cardiaca), potrebbe essere responsabile delle alterazioni elettrocardiografiche riscontrate nei nostri pazienti [114,115].

Sulla base di tali considerazioni, le nostre future ricerche saranno sicuramente indirizzate allo studio della funzione renale degli ex-ELBW, attraverso metodiche che vadano oltre lo studio di routine della funzionalità di quest'organo.

In aggiunta, il danno cerebrale è un altro fattore che certamente può indurre un allungamento del tratto QT a tutte le età, ed è ben noto che i prematuri molto spesso presentano un certo grado di ritardo dello sviluppo cognitivo e di danno cerebrale che sembrerebbe giustificare un prolungamento del QT anche in età adulta [116, 117].

Il nostro studio è certamente limitato dal piccolo numero di pazienti esaminati e dall'aver ristretto l'investigazione ai soli ex-ELBW di età compresa tra i 20 ed i 30 anni. La prima è una limitazione oggettiva, dovuta al ridotto numero di pazienti reclutabili con le caratteristiche richieste. La seconda limitazione si deve invece alla decisione di studiare per primi gli ex-ELBW che sono stati monitorati più a lungo e che sono cresciuti sino all'età adulta. I primi positivi riscontri

suggeriscono di estendere la successiva ricerca a soggetti via via più giovani, che saranno anche più facilmente reclutabili, essendo nati in un periodo di migliorata assistenza per i prematuri. Questo approccio potrebbe anche fornire informazioni sul momento in cui tali alterazioni elettrocardiografiche cominciano a rendersi evidenti.

Per concludere, l'aumentata sopravvivenza dei prematuri registrata nelle ultime decadi ha fatto sì che molti di questi raggiungessero l'età adulta. I nostri risultati possono contribuire ad identificare importanti modifiche patologiche associate alla prematurità. Da un punto di vista pratico, il significativo allungamento del QT_c e del QT_d negli ex-ELBW dovrebbe indurre i medici ad un'estrema cautela in caso di somministrazione di farmaci potenzialmente capaci di indurre allungamento del QT, aritmie ventricolari e morte improvvisa (come diuretici, inibitori di pompa protonica, antidepressivi, ansiolitici, antistaminici, alcuni antibiotici ed antiaritmici) [118-120].

PREMATURITA' E STIFFNESS ARTERIOSA

Introduzione

Sulla base delle premesse espresse riguardo all'aumentato rischio cardiovascolare globale correlato con la nascita pretermine (vedi paragrafo Introduzione), si è deciso di studiare l'elasticità arteriosa (stiffness) di un gruppo di soggetti ex pretermine di grado elevato.

E' noto infatti che la disfunzione endoteliale è il più precoce stadio di malattia cardiovascolare, il quale precede la formazione delle placche aterosclerotiche. Un' importante conseguenza funzionale del danno endoteliale è la ridotta risposta vasodilatatoria ad un gran numero di stimoli fisiologici e farmacologici, compresa l'ischemia transitoria [121, 122] Mentre nel passato si poteva valutare la funzione endoteliale solamente attraverso tecniche invasive, attualmente è possibile farlo anche con metodi non invasivi [123].

E' un fatto incontrovertibile che una funzione endoteliale alterata, persino in età giovanile, sia associata ad un ampio spettro di condizioni patologiche, che precedono sia lo sviluppo di danno endoteliale conclamato che lo sviluppo di aterosclerosi: tra le altre, ricordiamo l'ipercolesterolemia, il fumo, il diabete, l'ipertensione [124] In aggiunta, il potere predittivo della disfunzione endoteliale, correlata con il futuro sviluppo di eventi cardiovascolari avversi e di morte cardiaca, è stato anch'esso dimostrato [125].

Gli scopi del nostro studio sono stati quelli di : a) verificare la presenza di differenze statisticamente significative tra la funzione endoteliale di un gruppo di giovani adulti ex pretermine ELBW e quella di un gruppo di controllo di giovani adulti nati a termine; b) verificare l'eventuale presenza di correlazioni statisticamente significative tra la funzione endoteliale degli ex ELBW e parametri clinici ed antropometrici come l'età anagrafica, l'età gestazionale, il peso alla nascita e la durata della degenza in Unità di terapia intensiva neonatale (UTIN).

Materiali and metodi

Sono stati studiati 32 giovani adulti ex-ELBW (10 maschi e 22 femmine) di età compresa tra i 17 ed i 28 anni (età media: 20.1 ± 2.5 anni), mettendoli a confronto con un gruppo di controllo (C) di 32 soggetti giovani nati a termine da una madre sana, paragonabili ai primi per proporzione tra i generi, età anagrafica e body mass index (BMI).

Tutti i soggetti coinvolti nello studio sono stati contattati in ordine alfabetico consultando i registri dell' UTIN dell' Università di Cagliari. Essi rappresentavano i più anziani prematuri ex-ELBW sopravvissuti, all'epoca della nascita assistiti nella sola UTIN esistente a Cagliari.

Criteri di esclusione sono stati: 1. la presenza di condizioni patologiche note per influire sulla funzione endoteliale [124]; 2. la somministrazione di farmaci conosciuti per avere un'influenza sulla funzione endoteliale [126]. Ai pazienti è stato anche misurato lo spessore carotideo intima-media (IMT) mediante ecografia. Dalla rilevazione di peso ed altezza è stato calcolato il BMI.

La funzione endoteliale è stata valutata attraverso un apparecchio pletismografico che si avvaleva di sonde posizionate sulla punta del dito indice della mano destra (Endopath; Itamar Medical Ltd, Cesarea, Israel). Si tratta di una metodica facile da usare, non invasiva, indipendente dall'operatore, attendibile e riproducibile per il calcolo della cosiddetta flow-mediated dilatation (FMD). Questa tecnica è stata approvata dalla Food and Drug Administration statunitense come strumento diagnostico per la valutazione della funzione endoteliale [127].

Sono state poi cercate eventuali correlazioni tra la funzione endoteliale degli ex-ELBW e l' IMT, i parametri antropometrici rilevati, l'età anagrafica, l'età gestazionale, il peso alla nascita e la durata della degenza in UTIN.

Il consenso informato per la partecipazione allo studio è stato ottenuto da tutti i partecipanti (ex-ELBW e C).

Analisi statistica.

I risultati dell'intera popolazione studiata (n=32) sono stati prima analizzati e poi quelli dei soggetti ex-ELBW sono stati messi a confronto con i C (n=32) usando il test non parametrico detto Mann-Whitney U-test. Le correlazioni tra i vari parametri esaminati sono state saggiate attraverso l'analisi univariata. L'analisi multivariata non è stata applicata a causa del fatto che il campione era troppo piccolo per questo tipo di analisi statistica. Le relazioni tra la FMD da una parte e l'età gestazionale ed il peso alla nascita dall'altra sono state valutate

attraverso il coefficiente di correlazione di Pearson, per poi tracciare le corrispondenti linee di regressione. Valori di $p < 0.05$ sono stati considerati come il minimo valore statisticamente significativo. Per tutte le analisi è stato utilizzato un software per computer (SPSS version 16.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

Risultati

Le caratteristiche della popolazione in studio (ex-ELBW vs C) sono riassunte nella *Tabella 1*.

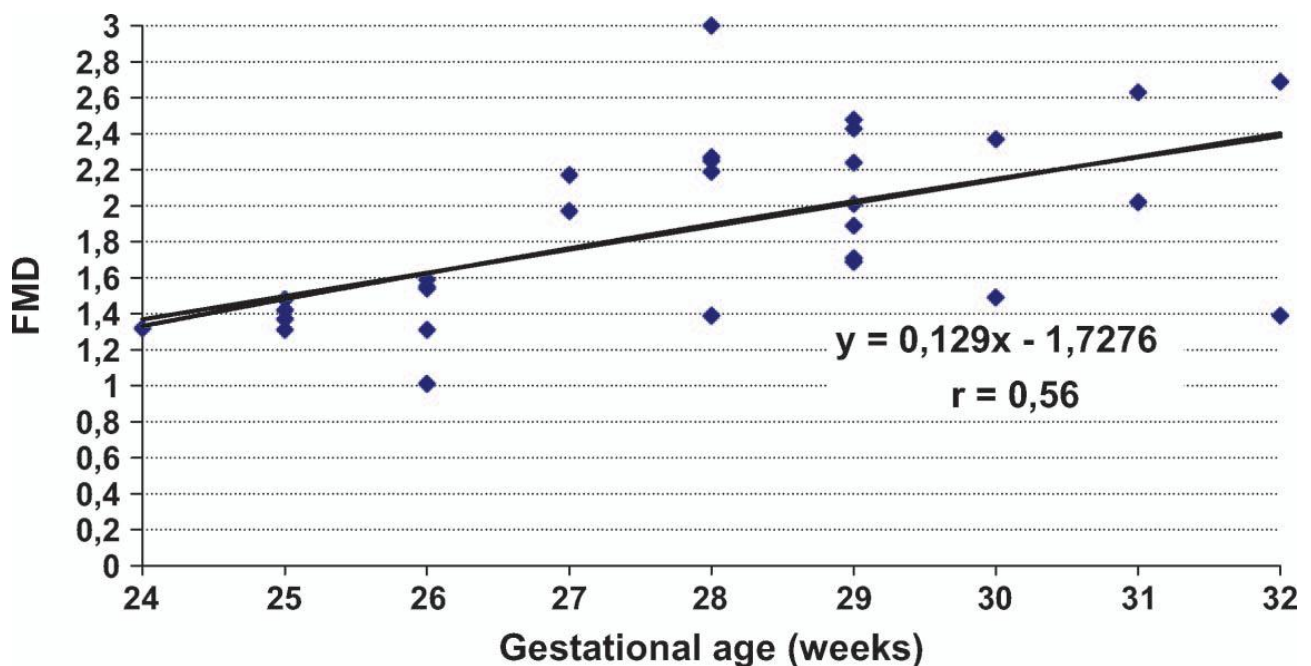
Tabella 1

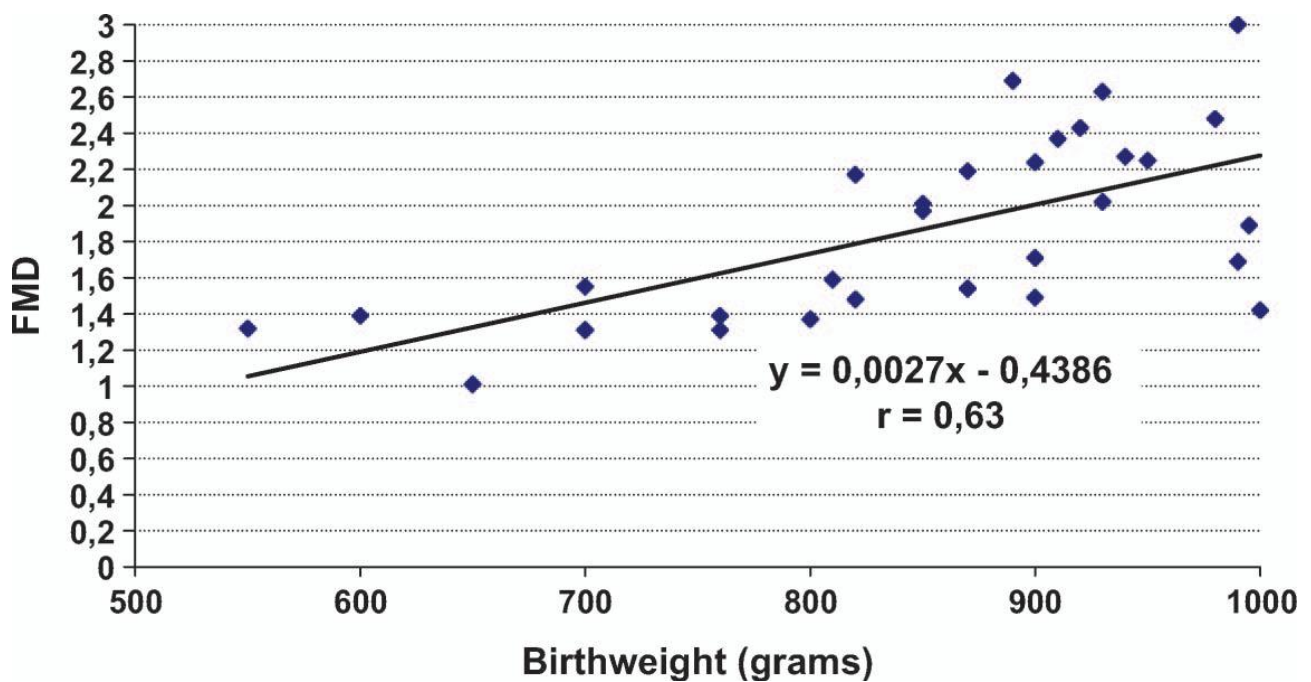
	Ex ELBW	Control group	p
Age (yr)	20.1 ± 2.5	21.0 ± 1.7	ns
Birthweight (g)	837.7 ± 115.5	3,137.9 ± 758.8	0.0001
Gestational age (w)	27.8 ± 2.2	39.4 ± 1.6	0.0001
Height (cm)	161.3 ± 4.2	167.5 ± 2.9	ns
Weight (Kg)	51.8 ± 4.7	56.4 ± 3.2	ns

BMI (Kg/m²)	19.7 ± 1.4	20.4 ± 0.9	ns
IMT (mm)	3.8 ± 0.2	3.6 ± 0.3	ns
FMD	1.94 ± 0.37	2.68 ± 0.41	0.0001

Differenze statisticamente significative (ELBW vs C) sono state riscontrate per la FMD (1.93 ± 0.37 vs 2.68 ± 0.41 ,p <0.0001), ma non per la IMT.

Una correlazione statisticamente significativa è stata riscontrata tra la FMD e l'età gestazionale (r = 0.56, p <0.0009; *Figura 1*), e tra la FMD ed il peso alla nascita (r = 0.63, p <0.0001; *Figura 2*). Nessun'altra correlazione statisticamente significativa è stata trovata tra la funzione endoteliale e la IMT, i parametri antropometrici, l'età, o la durata della degenza in UTIN.





Discussione

I nostri risultati mostrano un significativo decremento della funzione endoteliale dei giovani adulti ex-ELBW in confronto ai nati a termine del gruppo di controllo. In aggiunta a ciò, è stata riscontrata una forte correlazione tra la FMD ed alcuni degli altri parametri esaminati, come l'età gestazionale ed il peso alla nascita.

Nella ricerca sono stati reclutati soggetti di età compresa tra i 17 ed i 28 anni, contattati in ordine alfabetico consultando i registri dell' UTIN dell' Università di Cagliari.

Come si è già avuto modo di osservare, nel campione considerato vi è una notevole discrepanza tra i due sessi, con una netta prevalenza di quello femminile che, soprattutto agli albori della terapia intensiva neonatale, per motivi mai completamente spiegati sopravviveva in modo considerevolmente maggiore [128].

In verità, la correlazione tra la funzione endoteliale degli expretermine ed il peso alla nascita era già stata descritta in letteratura [129,130]. A tutt'oggi, solamente uno studio, peraltro pubblicato su una rivista molto prestigiosa, appare contraddire quest'osservazione [131].

D'altro canto, per la prima volta i nostri risultati confermano l'esistenza di una relazione tra la funzione endoteliale ed il peso alla nascita in una specifica sottopopolazione di ex pretermine, quella degli ex-ELBW, la quale sembra essere particolarmente a rischio di sviluppare in futuro una maggiore morbilità e mortalità cardiovascolare.

Per di più, la non ancora pubblicata forte correlazione tra la FMD e l'età gestazionale suggerisce che la funzione endoteliale degli ex pretermine ELBW sia fortemente influenzata dalla condizione d'immaturità alla nascita. E' importante notare come ciò sia opposto a quanto osservato negli adulti nati a termine, in cui la funzione endoteliale regredisce progressivamente con l'età [132,133]. A questo proposito, la mancata osservazione nel nostro studio di una correlazione tra la FMD e l'età anagrafica è stata probabilmente causata dalla scarsità numerica del campione e dall'omogeneità nell'età dei soggetti reclutati. Infine, contrariamente a quanto dimostrato in ricerche condotte su adulti più vecchi di quelli esaminati nel nostro studio, non è stata trovata nessuna correlazione significativa tra la FMD e l'IMT, a testimonianza del fatto che quella da noi riscontrata è una disfunzione ancora subclinica [134,135].

In relazione all'interpretazione patofisiologica dei nostri risultati, occorre tenere in considerazione che l'estrema prematurità alla nascita si traduce in una ridotta produzione di ossido nitrico e di altre sostanze ad azione vasodilatatrice, come pure in un aumentato rilascio di composti vasocostrittori (prostaciline, thromboxano, endotelina, angiotensina, dimetilarginina asimmetrica, fattore iperpolarizzante derivato dall'endotelio, radicali liberi, bradichinina) da parte

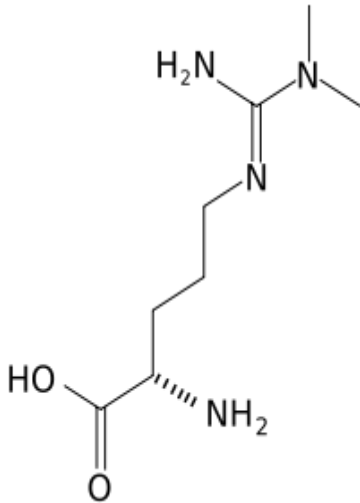
dell' endotelio [126]. Sulla base di tali osservazioni, come si vedrà nel successivo paragrafo, la nostra ricerca si è concentrata su un marcatore specifico di disfunzione endoteliale, cioè la dimetilarginina asimmetrica (ADMA). Il nostro studio è stato certamente limitato dal piccolo numero di pazienti esaminati e dall' aver ristretto l'investigazione ai soli ex-ELBW di età compresa tra i 17 ed i 28 anni che hanno accettato di sottoporsi allo studio della FMD. La prima è una limitazione oggettiva, dovuta al ridotto numero di pazienti reclutabili con le caratteristiche richieste. La seconda limitazione si deve invece alla decisione di studiare per primi gli ex-ELBW che sono stati monitorati più a lungo e che sono cresciuti sino all'età adulta. I primi, positivi riscontri suggeriscono di estendere la successiva ricerca a soggetti via via più giovani, che saranno anche più facilmente reclutabili, essendo nati in un periodo di migliorata assistenza per i prematuri.

Per concludere, l'aumentata sopravvivenza dei prematuri registrata nelle ultime decadi – come conseguenza degli straordinari miglioramenti della terapia intensiva neonatale- ha fatto sì che molti di questi raggiungessero l'età adulta. I nostri risultati possono contribuire ad identificare importanti modifiche patologiche associate alla prematurità. La disfunzione endoteliale dei pretermine, già dimostrata in età pediatrica, si conferma persistere fino all' età adulta. Ciò potrebbe indicare una disfunzione circolatoria molto precoce, predittiva di futuri eventi cardiovascolari avversi.

PREMATURITA' E MARKERS DI DISFUNZIONE ENDOTELIALE

Introduzione

La dimetilarginina asimmetrica (ADMA) è un peptide derivante dal continuo turnover proteico di tutte le cellule del corpo. Presente normalmente nel sangue, l'ADMA è un forte inibitore della sintesi dell'ossido nitrico (NO) [135,136].



ADMA (nomenclatura IUPAC):

(2S)-2-Amino-5-[(amino-dimethylaminomethylene)amino]pentanoic acid

Da tempo si sa che livelli elevati di ADMA si associano ad un gran numero di condizioni patologiche che hanno in comune il danno endoteliale e lo sviluppo di aterosclerosi: ipercolesterolemia, fumo, diabete, ipertensione arteriosa, insufficienza cardiaca, insufficienza renale cronica, disfunzione erettile, preeclampsia, insufficienza epatica [137-145].

Inoltre, è stato anche dimostrata l'efficacia predittiva dell' ADMA. Infatti, livelli elevati di ADMA nel sangue si associano al futuro sviluppo di eventi cardiovascolari avversi e di morte cardiaca [146,147].

La sopravvivenza dei neonati prematuri è drammaticamente aumentata nel corso degli anni e questo è evidente soprattutto per quelli più piccoli, cioè con un peso compreso tra 401 e 1000 grammi (extremely low birth weight, ELBW) [22].

Un recente studio condotto sia su neonati ELBW che su quelli di peso compreso tra 1001 e 1500 grammi (very low birth weight, VLBW) ha dimostrato la presenza di livelli elevati di ADMA durante il primo mese di vita (controlli a 3-7-

14-21-28 giorni), i quali suggeriscono la presenza di una disfunzione endoteliale precoce, che potrebbe preludere allo sviluppo di malattie croniche in età adulta [148].

Gli scopi dello studio sono stati quelli di: *a)* verificare la presenza di una differenza statisticamente significativa tra i livelli di ADMA in giovani adulti ex-ELBW ed un gruppo di giovani adulti sani nati a termine; *b)* cercare eventuali correlazioni tra i livelli di ADMA negli ex-ELBW e parametri antropometrici e clinici come il genere, l'età cronologica, l'età gestazionale, il peso alla nascita e la durata della degenza nell' Unità di terapia intensiva neonatale (UTIN).

Materiali and metodi

Sono stati studiati 32 giovani adulti ex-ELBW (11 maschi e 21 femmine) di età compresa tra i 17 ed i 29 anni (età media: 22.2 ± 2.3 anni), mettendoli a confronto con un gruppo di controllo (C) di 25 soggetti giovani nati a termine da una madre sana, paragonabili ai primi per proporzione tra i generi, età anagrafica e body mass index (BMI).

Tutti i soggetti coinvolti nello studio sono stati contattati in ordine alfabetico consultando i registri dell' UTIN dell' Università di Cagliari. Essi rappresentavano i più anziani prematuri ex-ELBW sopravvissuti, all'epoca della nascita assistiti nella sola UTIN esistente a Cagliari.

Criteri di esclusione sono stati: *1.* la presenza di condizioni patologiche note per influenzare i livelli ematici di ADMA *2.* la somministrazione di farmaci conosciuti per avere un'influenza sulla concentrazione plasmatica di ADMA [137-145, 149].

Tutti i pazienti sono stati visitati da un punto di vista cardiologico (vedi paragrafi precedenti) ed il loro BMI è stato calcolato a partire dal peso e dall' altezza.

Le dimensioni renali sono state misurate attraverso un esame ecografico.

Il campionamento dell' ADMA è stato possibile prelevando 1 cc di sangue dalla

vena antecubitale, usando un iniettore di eparina. La concentrazione ematica di ADMA è stata quantificata mediante una metodica cromatografica ad alta sensibilità, abbinata ad un laser fluorescente. Si tratta di un metodo semplice, rapido, specifico, sensibile, disponibile in qualunque laboratorio in tutto il mondo [150].

Sono state poi cercate eventuali correlazioni tra la concentrazione di ADMA degli ex-ELBW ed i parametri antropometrici e clinici rilevati, come l'età anagrafica, l'età gestazionale, il peso alla nascita e la durata della degenza in UTIN.

Il consenso informato per la partecipazione allo studio è stato ottenuto da tutti i partecipanti (ex-ELBW e C).

Analisi statistica

I risultati dell'intera popolazione studiata di ex-ELBW (n=32) sono stati prima analizzati, e poi messi a confronto con quelli di un gruppo di controllo di soggetti nati a termine (n=25) utilizzando il test di Spearman per la correlazione tra i ranghi. Le correlazioni dei livelli di ADMA con il peso alla nascita e l'età gestazionale sono state valutate per mezzo dei coefficienti di correlazione di Pearson, per poi tracciare le corrispondenti linee di regressione.

Valori di $p < 0.05$ sono stati considerati come il minimo valore statisticamente significativo. Per tutte le analisi è stato utilizzato il software per computer (SPSS version 16.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

Risultati

Le caratteristiche della popolazione in studio (ex-ELBW vs C) sono state riassunte nella *Tabella 1*.

Tabella 1

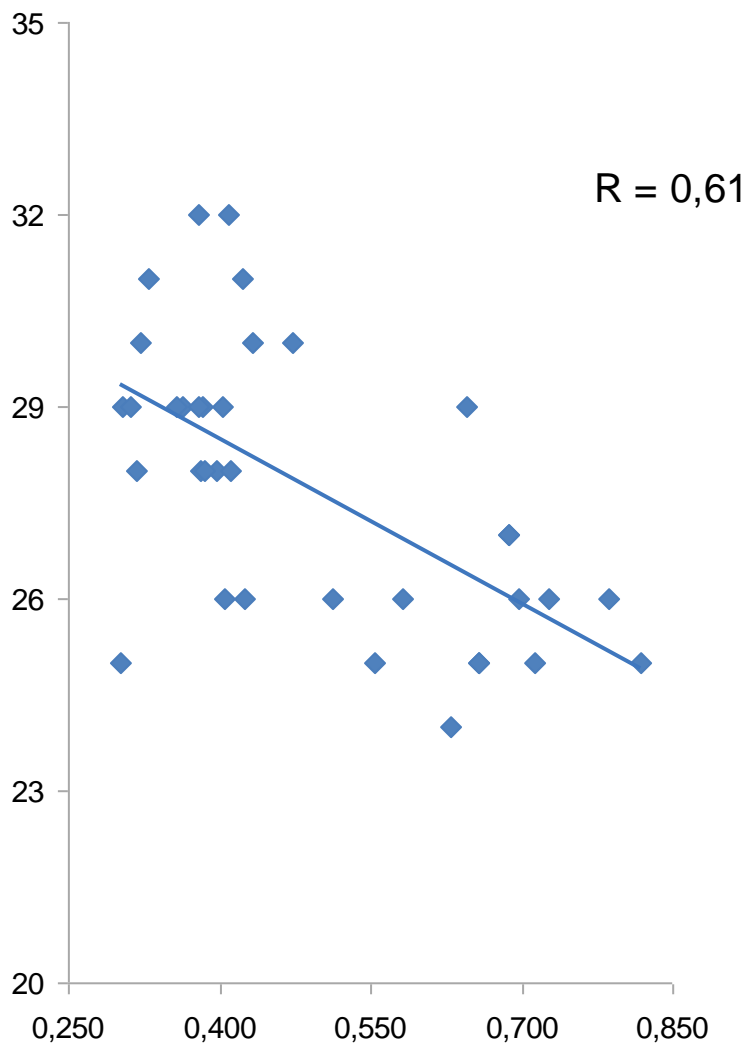
	Ex ELBW	Control group	p
Age (years)	22.2 ± 2.3	21.8 ± 1.9	ns
Birth weight (g)	836.3 ± 137.4	3,366.5 ± 151.6	0.00001
Gestational age (w)	27.8 ± 2.2	39.8 ± 0.2	0.00001
ADMA (micromoli/L)	0.606±0.095	0.562±0.101	p<0.05
Height (cm)	165 ±14	167 ± 18	ns
Weight (Kg)	60 ± 6	58 ± 8	ns
BMI	22 ± 3	21 ± 5	ns
Right kidney			
longitudinal diameter (cm)		9.4 ± 1.9	10.7 ± 0.6
p<0.02			
Right kidney		8.3 ± 0.7	9.5 ± 0.5
p<0.03			
transverse diameter (cm)			

Left kidney	9.9 ± 1.6	10.9 ± 0.8
p<0.05		
longitudinal diameter (cm)		
Left kidney	8.0 ± 1.1	9.3 ± 0.5
p<0.02		
transverse diameter (cm)		

Sebbene i livelli di ADMA - sia degli ex-ELBW che dei C- fossero comunque nei precedentemente pubblicati intervalli di normalità (0.380-0.730 micromol/L per le femmine al di sotto dei 45 anni e 0.410 – 0.790 micromol/L per i maschi di qualunque età), una differenza statisticamente significativa (ELBW vs C) è stata trovata per i livelli ematici di ADMA (0.606±0.095 vs 0.562±0.101 micromol/L, p< 0.05) [18].

Per di più, una fortissima correlazione inversa statisticamente significativa è stata riscontrata tra la concentrazione di ADMA e l'età gestazionale (r= -0.61, p<0.00001; *Figura 1*)

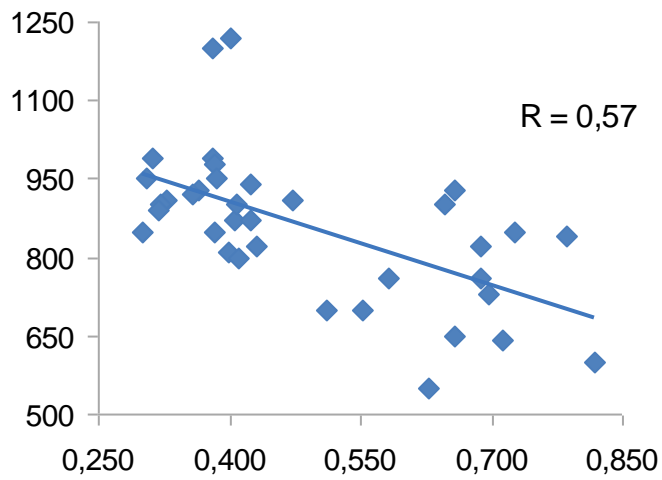
Relationship ADMA/gestational age



ed anche tra l' ADMA ed il peso alla nascita and ($r = -0.61$, $p < 0.0002$; *Figura 2*).

Non è stata riscontrata nessun' altra correlazione significativa della ADMA con gli altri parametri studiati.

Relationship ADMA/birth weight



◆ ADMA — Tendenza 1

Discussione

I risultati ottenuti mostrano un significativo incremento medio nei livelli ematici di ADMA degli ex ELBW rispetto al gruppo di controllo. Una correlazione molto forte è stata poi trovata tra i livelli di ADMA degli ex- ELBW da una parte ed il peso alla nascita e l'età gestazionale dall'altra.

Al meglio della nostra conoscenza, nessun altro studio era stato sinora condotto per studiare le concentrazioni plasmatiche di ADMA negli ex pretermine ormai cresciuti e diventati giovani adulti. Solamente una ricerca ha recentemente valutato la concentrazione di ADMA dei pretermine nel loro primo mese di vita, rivelatasi più alta di quella dei neonati a termine. Gli autori di questo studio hanno ipotizzato che questo possa essere il segno predittivo del futuro manifestarsi di malattie cardiovascolari [148].

La forte relazione inversa tra l' ADMA e l'età gestazionale suggerisce che l'inibizione della sintesi di ossido nitrico dipenda dalla condizione di prematurità alla nascita degli ex-ELBW, il che conferma i pochi dati presenti in letteratura [148,151].

I nostri risultati rappresentano la prima dimostrazione che questa condizione potenzialmente patologica continua sino all'età adulta. E' stato precedentemente dimostrato anche che i livelli di ADMA aumentano progressivamente con l'età [152-154].

Nel nostro caso, la mancata correlazione dell' ADMA con l'età anagrafica del campione in esame è probabilmente dovuta al ridotto numero di soggetti studiati, come pure all' omogeneità dell'età anagrafica dei soggetti da noi esaminati.

Riguardo ad una possibile interpretazione fisiopatologica dei nostri dati, si dovrebbe ricordare che l'estrema prematurità alla nascita comporta anche una nefrogenesi incompleta. Lo sviluppo dei reni normalmente si completa alla 31[^]-32[^] settimana di gestazione, mentre la maggior parte dei soggetti studiati aveva un'età gestazionale inferiore alle 30 settimane. I reni degli ex-ELBW normalmente hanno un numero molto ridotto di nefroni [21,155].

L'analisi ecografica dei reni degli ex-ELBW ha mostrato reni piccoli, cioè al di sotto del 10° percentile, in 6 pazienti (21,9%), mentre quelli di altri 10 pazienti (31,2%) erano al limite inferiore di normalità.

Sulla base di questi presupposti, si può ipotizzare che negli ex-ELBW l'estrema prematurità si traduca in un danno renale precoce, che comporta una ridotta escrezione renale di ADMA e, quindi, un aumento della sua concentrazione sierica. Molti studi hanno già dimostrato livelli di ADMA più elevati nei pazienti affetti da insufficienza renale cronica rispetto ai controlli sani. Questi pazienti, per di più, vanno più frequentemente incontro a malattie cardiovascolari e morte cardiaca [155-157].

Un'ulteriore conferma che alti livelli di ADMA sono l'espressione di un danno precoce nei pretermine è fornita dal ridotto rilassamento dei loro vasi polmonari che si traduce poi in scambi gassosi ridotti ed in una maggiore durata della ventilazione meccanica assistita [151].

Tentando d'interpretare i nostri risultati (livelli di ADMA dei giovani adulti ex pretermine più elevati rispetto ai controlli sani), si potrebbe ipotizzare la presenza di un danno endoteliale precoce, marker predittivo di futuri eventi cardiovascolari avversi.

Il nostro studio è certamente limitato dal piccolo numero di pazienti esaminati e dall'aver ristretto l'investigazione ai soli ex-ELBW di età compresa tra i 20 ed i 30 anni. La prima è una limitazione oggettiva, dovuta al ridotto numero di pazienti reclutabili con le caratteristiche richieste. La seconda limitazione si deve invece alla decisione di studiare per primi gli ex-ELBW che sono stati monitorati più a lungo e che sono cresciuti sino all'età adulta. I primi positivi riscontri suggeriscono di estendere la successiva ricerca a soggetti via via più giovani, che saranno anche più facilmente reclutabili, essendo nati in un periodo di migliorata assistenza per i prematuri. Questo approccio potrebbe anche fornire

informazioni sul momento in cui le differenze nei livelli ematici di ADMA cominciano a rendersi evidenti.

Anche in questa parte dello studio si nota inoltre una netta prevalenza del genere femminile su quello maschile, per i motivi già precedentemente ampiamente spiegati [159].

Per concludere, come già detto anche in questo caso, l'aumentata sopravvivenza dei prematuri registrata nelle ultime decadi ha fatto sì che molti di questi raggiungessero l'età adulta

I nostri risultati possono contribuire ad identificare delle importanti alterazioni fisiopatologiche associate alla nascita prematura. Le aumentate concentrazioni di ADMA dei soggetti pretermine, osservate nel periodo perinatale, si sono confermate tali anche in età adulta. Questa osservazione suggerisce che l'estrema prematurità alla nascita possa sottintendere anche lo sviluppo di una precoce disfunzione circolatoria, potenzialmente capace di prevedere il manifestarsi di futuri eventi cardiovascolari avversi [160].

CONSIDERAZIONI FINALI

I costanti progressi della medicina hanno fatto sì che un numero sempre maggiore di neonati pretermine, anche di alto grado, sopravvivesse al periodo critico neonatale, per poi crescere sino a diventare adulto.

Nonostante questi incoraggianti risultati ottenuti nell'immediato, i neonati pretermine vanno però frequentemente incontro a numerose sequele, soprattutto di tipo morfologico (dismorfismi, bassa statura), neurologico (ritardo mentale, paralisi, epilessia) e renale (insufficienza renale precoce).

Come ampiamente illustrato nell'Introduzione, negli ultimi anni ci si è accorti che la nascita pretermine può influenzare anche l'apparato cardiovascolare, con la precoce comparsa sia di numerosi fattori di rischio cardiovascolare, sia di patologie cardiovascolari conclamate, che insorgono più frequentemente rispetto ai pari età nati a termine. La stessa mortalità cardiovascolare è significativamente più alta negli ex pretermine diventati adulti.

Il nostro studio si è focalizzato su una specifica sottopopolazione di giovani adulti nati pretermine di alto grado, testimoniato dal loro peso alla nascita inferiore al chilogrammo (chiamati in Inglese con l'acronimo ELBW, ossia extremely low birth weight). Si tratta di soggetti che, più di ogni altro, hanno sofferto del loro stato di prematurità, caratterizzato da un'estrema precocità che alla nascita ne aveva messo a repentaglio la sopravvivenza stessa.

La valutazione cardiologica clinica e strumentale cui noi li abbiamo sottoposti ha confermato alcuni dei dati già noti in letteratura e ne ha aggiunto degli altri.

Tra i dati già noti, ricordiamo il riscontro di pressioni sistoliche più elevate rispetto al gruppo di controllo, probabile preludio al futuro sviluppo d'ipertensione arteriosa.

Anche lo studio della risposta vasodilatatoria ad uno stimolo ischemico, la cosiddetta flow-mediated dilation, ha confermato delle alterazioni molto precoci, che in altre condizioni patologiche si è visto che precedono l'insorgenza dell'aterosclerosi.

Tra i risultati del tutto nuovi, invece, vi è il riscontro all'elettrocardiogramma standard di un tratto QT corretto per la frequenza cardiaca significativamente più prolungato di quello del gruppo di controllo. Al di là delle ipotesi fisiopatologiche al riguardo, da un punto di vista pratico questa osservazione suggerisce ai medici di usare cautela in caso di somministrazione di farmaci potenzialmente capaci di indurre allungamento del QT, aritmie ventricolari e morte improvvisa (come diuretici, inibitori di pompa protonica, antidepressivi, ansiolitici, antistaminici, alcuni antiaritmici ed antibiotici).

L'alterata flow mediated dilation trova la sua spiegazione nei livelli ematici di ADMA più elevati negli ex pretermine ELBW, a causa della sua azione inibitoria diretta sulla capacità vasodilatatoria indotta dall'ossido nitrico endoteliale. Anche quest'ultimo dato è una novità assoluta in letteratura.

Nel complesso, tutte queste osservazioni portano a ritenere che il profilo di rischio cardiovascolare degli ex pretermine ELBW sia più elevato rispetto a coloro che sono venuti alla luce al termine delle normali quaranta settimane di gestazione. La forte correlazione dei parametri cardiovascolari che abbiamo trovato alterati con il basso peso e l'età gestazionale, porta a concludere che sia proprio la condizione di prematurità alla nascita la causa di queste alterazioni.

Si conferma quindi ancor di più la necessità, per i pretermine che raggiungono l'età adulta, sia di uno stretto follow up cardiologico in grado di evidenziare la precoce insorgenza di malattie cardiovascolari, sia di misure preventive per evitare che eventuali fattori ambientali si aggiungano ad una predisposizione ormai conclamata.

Tutto ciò per evitare che un fatale destino al quale si è sfuggiti alla nascita si ripresenti ad un età ancora troppo giovane.

Bibliografia

1. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, et al. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* 2008; 371: 75-84
2. Burke C, Morrison JJ. Perinatal factors and preterm delivery in an Irish obstetric population. *J Perinat Med* 2000; 28: 49-53
3. Weismiller DG. Preterm labor. *Am Fam Physician* 1999; 59: 593-602
4. Joseph KS, Kramer MS, Marcoux S, et al. Determinants of preterm birth rates in Canada from 1981 through 1983 and from 1992 through 1994. *N Engl J Med* 1998;339:1434-1439
5. Martin JA, Hamilton BE, Ventura SJ, et al. Births: final data for 2000. *Natl Vital Stat Rep* 2002; 50: 1-101
6. Field DJ, Dorling JS, Manktelow BN, et al. Survival of extremely premature babies in a geographically defined population: prospective cohort study of 1994-9 compared with 2000-5. *BMJ* 2008; 336 : 1221-1223
7. Evans N, Hutchinson J, Simpson JM, et al. Prenatal predictors of mortality in very preterm infants cared for in the Australian and New Zealand Neonatal Network. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007;92:F34-40
8. Costello AM, Osrin D. Micronutrient status during pregnancy and outcomes for newborn infants in developing countries. *J Nutr* 2003; 133 (Suppl 2): S 1757-1764
9. Guidelines N.I.C.E. Perinatal mortality surveillance, England, Wales, and Northern Ireland, CEMACH, 2008
10. Office for National Statistics. Mortality statistics: childhood, infant and perinatal. Review of registrars' general on deaths in England and Wales, 2003. London, 2005

11. National Centre for Health Statistics, Health United States, 2004. With chart book on trends in the health of Americans. Maryland: COC, 2004
12. EXPRESS Group, Fellman V, Hellström-Westas L, et al. One-year survival of extremely preterm infants after active perinatal care in Sweden. *JAMA* 2009; 301: 2225-2233
13. Swamy GK, Ostbye T, Skjaerven R. Association of preterm birth with long-term survival, reproduction, and next-generation preterm birth. *JAMA* 2008; 299: 1429-1436
14. Doyle LW, Morley CJ, Halliday J. Prediction of survival for preterm births. Data on the quality of survival are needed. *BMJ* 2000; 320: 648
15. Rieger-Fackeldey E, Blank C, Dinger J, et al. Growth, neurological and cognitive development in infants with a birthweight <501 g at age 5 years. *Acta Paediatr* 2010;99:1350-11355
16. Drummond PM, Colver AF. Analysis by gestational age of cerebral palsy in singleton births in north-east England 1970-94. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2002; 16: 172-180
17. Lorenz JM, Wooliever DE, Jetton JR, et al. A quantitative review of mortality and developmental disability in extremely premature newborns. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1998;152:425-435
18. Pharoah PO, Cooke T, Johnson MA, et al. Epidemiology of cerebral palsy in England and Scotland, 1984-9. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998;79: F21-25
19. Stoinska B, Gadzinowski J. Neurological and developmental disabilities in ELBW and VLBW: follow-up at 2 years of age. *J Perinatol* 2011; 31: 137-142
20. Faa G, Gerosa C, Fanni D, et al. Marked interindividual variability in renal maturation of preterm infants: lessons from autopsy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010 Oct;23 Suppl 3:129-33

21. Puddu M, Fanos V, Podda F, et al. The kidney from prenatal to adult life: perinatal programming and reduction of number of nephrons during development. *Am J Nephrol*. 2009;30(2):162-170
22. Silverman WA. Compassion or opportunism? *Pediatrics* 2004;113:402-403
23. Dalziel SR, Parag V, Rodgers A, et al. Cardiovascular risk factors at age 30 following pre-term birth. *Int J Epidemiol* 2007;36:907-915
24. Davies AA, Smith GD, Ben-Shlomo Y, et al. Low birth weight is associated with higher adult total cholesterol concentration in men: findings from an occupational cohort of 25,843 employees. *Circulation* 2004;110:1258-1262
25. Owen CG, Whincup PH, Odoki K, et al. Birth weight and blood cholesterol level: a study in adolescents and systematic review. *Pediatrics* 2003;111:1081-1089
26. Lawlor DA, Owen CG, Davies AA, et al. Sex differences in the association between birth weight and total cholesterol. A meta-analysis. *Ann Epidemiol* 2006;16: 19-25
27. Huxley R, Owen CG, Whincup PH, et al. Birth weight and subsequent cholesterol levels: exploration of the "fetal origins" hypothesis. *JAMA* 2004;292:2755-2774
28. Leeson CP, Kattenhorn M, Morley R, et al. Impact of low birth weight and cardiovascular risk factors on endothelial function in early adult life. *Circulation* 2001; 10: 1264-1268
29. Singhal A, Kattenhorn M, Cole TJ, et al. Preterm birth, vascular function, and risk factors for atherosclerosis. *Lancet* 2001; 358: 1159-1160
30. Keijzer-Veen MG, Dülger A, Dekker FW, et al. Very preterm birth is a risk factor for increased systolic blood pressure at a young adult age. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 509-516

- 31.Hinchliffe SA, Lynch MR, Sargent PH, et al. The effect of intrauterine growth retardation on the development of renal nephrons.Br J Obstetr Gynaecol 1992; 99:296-301
- 32.Brenner BM, Mackenzie HS. Nephron mass as a risk factor for progression of renal disease. Kidney Int Suppl 1997;63: S124-127
- 33.Hinchliffe SA, Sargent PH, Howard CV, et al. Human intrauterine renal growth expressed in absolute number of glomeruli assessed by the disector method and Cavalieri principle. Lab Invest 1991 Jun;64:777-784
- 34.Vehaskari VM, Aviles DH, Manning J. Prenatal programming of adult hypertension in the rat. Kidney Int. 2001 Jan;59(1):238-245
- 35.Lackland DT, Bendall HE, Osmond C, et al. Low birth weights contribute to high rates of early-onset chronic renal failure in the Southeastern United States. Arch Intern Med 2000;160:1472-1476
- 36.Guyton AC. Textbook of Medical Physiology. 7th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co; 1986: pp 257, 264-265, 457
- 37.Eriksson JG, Forsén T, Tuomilehto J, et al. Early growth and coronary heart disease in later life: longitudinal study. BMJ 2001;322:949-953
- 38.Chauhan SP, Magann EF, Velthius S, et al. Detection of fetal growth restriction in patients with chronic hypertension: is it feasible? J Matern Fetal Neonatal Med 2003;14:324-328
- 39.Ritz E. Hypertension: the kidney is the culprit even in the absence of kidney disease.Kidney Intern 2007: 71; 371-372
- 40.Martyn CN, Greenwald SE. Mechanisms in utero programming of blood pressure. In: Barker DJP, ed. Fetal Origins of Cardiovascular and Lung Disease. New York, NY: Marcel Dekker, Inc; 2001:49-59
- 41.Relf IRN, Lo CS, Myers KA, et al. Risk factors for change in aortic-iliac arterial compliance in healthy men. Atherosclerosis 1986; 6: 105-108

42. Girerd X, Laurent S, Pannier B, et al. Arterial distensibility and left ventricular hypertrophy in patients with sustained essential hypertension. *Am Heart J* 1991;122:1210-1214
43. Vehaskari VM, Stewart T, Lafont D, et al. Kidney angiotensin and angiotensin receptor expression in prenatally programmed hypertension. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;287:F262-267
44. Lackland DT, Egan BM, Syddall HE, et al. Associations between birth weight and antihypertensive medication in black and white medicaid recipients. *Hypertension* 2002;39:179-183
45. Huxley RR, Shiell AW, Law CM. The role of size at birth and postnatal catch-up growth in determining systolic blood pressure: a systematic review of the literature. *J Hypert* 2000; 18: 815-831
46. Marks JF, Kay J, Baum J, Curry L. Uric acid levels in full-term and low-birth-weight infants. *J Pediatr* 1968; 73: 609-611
47. Franco MC, Christofalo DM, Sawaya AL, et al. Effects of low birth weight in 8- to 13-year-old children: implications in endothelial function and uric acid levels. *Hypertension* 2006;48:45-50
48. Feig DI, Nakagawa T, Karumanchi SA, et al. Uric acid, nephron number, and the pathogenesis of essential hypertension. *Kidney Int* 2004; 66: 281-287
49. Chang FM, Chow SN, Huang HC, et al. The placental transfer and concentration difference in maternal and neonatal serum uric acid at parturition: comparison of normal pregnancy and gestosis. *Biol Res Pregnancy Perinatol* 1987; 35: 35-39
50. Roberts JM, Bodnar LM, Lain KY, et al. Uric acid is as important as proteinuria in identifying fetal risk in women with gestational hypertension. *Hypertension* 2005; 46: 1263-1269

- 51.Chang FM, Chow SN, Huang HC, et al. The placental transfer and concentration difference in maternal and neonatal serum uric acid at parturition: comparison of normal pregnancy and gestosis. *Biol Res Pregnancy Perinatol.* 1987; 35: 35–39
- 52.Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Johnson RJ, et al. Glomerular hemodynamic changes associated with arteriolar lesions and tubulointerstitial inflammation. *Kidney Int Suppl.* 2003; 86: S9–14
- 53.Feig DI, Johnson RJ. Hyperuricemia in childhood essential hypertension. *Hypertension.* 2003; 42: 247–252
- 54.Black MJ, Briscoe TA, Constantinou M, et al. Is there an association between level of adult blood pressure and nephron number or surface area? *Kidney Int* 2004; 65: 582–588
- 55.Skov K, Mulvany MJ. Structure of renal afferent arterioles in the pathogenesis of hypertension. *Acta Physiol Scand.* 2004; 181: 397–405
- 56.Stewart T, Jung FF, Manning J, et al. Kidney immune cell infiltration and oxidative stress contribute to prenatally programmed hypertension. *Kidney Int* 2005; 68: 2180–2188
- 57.Nakagawa T, Tuttle KR, Short RA, et al. Fructose-induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. *Nature Clinical Practice Nephrology* 2006; 1: 80–86
- 58.Simmons R. Perinatal programming of obesity. *Semin Perinatol* 2008; 32: 371-374
- 59.Rajaleid K, Janszky I, Hallqvist J. Small birth size, adult overweight, and risk of acute myocardial infraction. *Epidemiology* 2011; 22: 138-147
- 60.Hirschler V, Bugna J, Roque M, et al. Does low birth weight predict obesity/overweight and metabolic syndrome in elementary school children? *Arch Med Res.* 2008 ;39:796-802

61. Wei JN, Li HY, Sung FC, et al. Birth weight correlates differently with cardiovascular risk factors in youth. *Obesity (Silver Spring)* 2007; 15: 1609-1616
62. Morgan AR, Thompson JM, Murphy R, et al. Obesity and diabetes genes are associated with being born small for gestational age: results from the Auckland Birthweight Collaborative study. *BMC Med Genet* 2010; 11: 125
63. Whincup PH, Kaye SJ, Owen CG, et al. Birth weight and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *JAMA* 2008; 300: 2886-2897
64. Pilgaard K, Færch K, Carstensen B, et al. Low birthweight and premature birth are both associated with type 2 diabetes in a random sample of middle-aged Danes. *Diabetologia* 2010;53:2526-2530
65. Rotteveel J, van Weissenbruch MM, Twisk JW, et al. Infant and childhood growth patterns, insulin sensitivity, and blood pressure in prematurely born young adults. *Pediatrics* 2008; 122: 313-321
66. Truffert P, Empana J, Bréart G, et al. Treatment strategies for bronchopulmonary dysplasia with postnatal corticosteroids in Europe: the Eurail survey. *Acta Paediatr* 2003; 92: 948-951
67. Soll R. Corticosteroids for the treatment and prevention of chronic lung disease. *Acta Paediatr* 2003; 92: 886-889
68. American Academy of Pediatrics, Canadian Paediatric Society: Postnatal corticosteroids to treat or prevent chronic lung disease in preterm infants. *Pediatrics* 2002; 109: 330-338
69. Skelton R, Gill B, Parsons J. Cardiac effects of short course dexamethasone in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998; 78: F 133-137
70. Israel B, Sherman F, Guthrie R. Hypertrophic cardiomyopathy associated with dexamethasone therapy for chronic lung disease in preterm infants. *Am J Perinatol* 1993; 10: 307-310

71. Halliday H, Ehrenkrantz R. Early postnatal (<36 h) corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* (1), CD001146 (2001)
72. Halliday H, Ehrenkrantz R. Moderate early (7-14 days) corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* (1), CD001144 (2001)
73. Dani C, Bertini G, Pratesi S, et al. Hypertrophic cardiomyopathy in preterm infants treated with methylprednisolone for bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 2006; 117: 1866-1867
74. Vimala J, Prabhu A, Pavithran S, et al. Hydrocortisone induced hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2009; in press
75. Werner J, Sicard R, Hansen T, et al. Hypertrophic cardiomyopathy associated with dexamethasone therapy for bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1992; 120: 286-291
76. Bensky A, Kothadia J, Covitz W. Cardiac effects of dexamethasone in very low birth weight infants. *Pediatrics* 1996; 97: 818-821
77. Pokela M. Transient hypertrophic cardiomyopathy due to dexamethasone therapy in a premature infant. *Duodecim* 1995; 111: 1310-1313
78. Brand P, van Lingen R, Brus F, et al. Hypertrophic obstructive cardiomyopathy as a side effect of dexamethasone treatment for bronchopulmonary dysplasia. *Acta Pediatr* 1993; 82: 614-617
79. Lilien L, Lilien R, Setrakian S. Hemopericardium and cardiac tamponade as presenting findings of dexamethasone-induced hypertrophic cardiomyopathy complicated by transmural myocardial infarction. *Pediatr Cardiol* 2003; 24: 280-283

80. Nelson N, Nylander E. Neonatal ventricular hypertrophy without cardiac malformations: a retrospective evaluation of 17 infants. *Prenatal and Neonatal Medicine* 2001; 6: 318 - 322
81. de Vries W, Bal M, Homoet-van der Kraak P, et al. Suppression of physiological cardiomyocyte proliferation in the rat pup after neonatal glucocorticosteroid treatment. *Basic Res Cardiol* 2006; 101: 36- 42
82. Bal M, de Vries W, van Oosterhout M, et al. Long-term cardiovascular effects of neonatal dexamethasone treatment: hemodynamic follow-up by left ventricular pressure-volume loops in rats. *J Appl Physiol* 2008; 104: 446-450
83. Bal M, de Vries W, Steendijk P, et al. Histopathological changes of the heart after neonatal dexamethasone treatment: studies in 4-, 8-, and 50-weekold rats. *Pediatr Res* 2009; 66: 74-79
84. Kamphuis P, de Vries W, Bakker J, et al. Reduced life expectancy in rats after neonatal dexamethasone treatment. *Pediatr Res* 2007; 61: 72-76
85. Dimitrow P, Krzanowski M, Grodecki J, et al. Verapamil improves the pacing-induced vasodilatation in symptomatic patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiol* 2002; 83: 239-247
86. Devaux B, Scholz D, Hirche A, et al. Upregulation of cell adhesion molecules and the presence of low grade inflammation in human chronic heart failure. *Eur Heart J* 1997; 18: 470-479
87. Bassareo PP, Abella R, Fanos V, et al. Biomarkers of corticosteroid-induced hypertrophic cardiomyopathy in preterm infants: implications for pathophysiology and prognosis. *Front Biosci (Elite Ed)* 2010; 2: 1460-1471
88. Whitehurst R Jr, Zhang M, Bhattacharjee A, et al. Dexamethasone-induced hypertrophy in rat neonatal cardiac myocytes involves an elevated L-type Ca (2+) current. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 1551-1558

89. Liu Y, Havinga R, Bloks V, et al. Postnatal treatment with dexamethasone perturbs hepatic and cardiac energy metabolism and is associated with a sustained atherogenic plasma lipid profile in suckling rats. *Pediatr Res* 2007; 61: 165-170
90. Di Somma S, Di Benedetto M, Salvatore G, et al. Desmin-free cardiomyocytes and myocardial dysfunction in end stage heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004; 6: 389-398 (2004)
91. Gopinath B, Trent R, Yu B. Molecular characterisation of neonatal cardiac hypertrophy and its regression. *Cardiol Young* 2004; 14: 498-505 (
92. Barker D. In utero programming of cardiovascular disease. *Theriogenology* 2000; 53: 555-574
93. Holness M, Langdown M, Sugden M. Early-life programming of susceptibility to dysregulation of glucose metabolism and the development of type 2 diabetes mellitus. *Biochem J* 2000; 349: 657-665
94. Porrello E, Widdop R, Delbridge L. Early origins of cardiac hypertrophy: does cardiomyocyte attrition programme for pathological 'catch-up' growth of the heart? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35: 1358-1364
95. Karemaker R, Karemaker J, Kavelaars A, et al. Effects of neonatal dexamethasone treatment on the cardiovascular stress response of children at school age. *Pediatrics* 2008; 122: 978-987
96. Pereira JA, Rondò PH, Lemos JO, et al. The influence of birthweight on arterial blood pressure of children. *Clin Nutr* 2010; 29: 337-340
97. Bazett HC. An analysis of the time-relations of the electrocardiograms. *Heart* 1920; 7: 353-370
98. Zabel M, Portnoy S, Franz MR. Electrocardiographic indexes of dispersion of ventricular repolarization: an isolated heart validation study. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:746-752

99. Moric-Janiszewska E, Markiewicz-Loskot G, Loskot M, et al. Challenges of diagnosis of long-QT syndrome in children. *Pacing Clin Electrophysiol* 2007;30:1168-1170
100. Bassareo PP, Fanos V, Puddu M , et al. Significant QT interval prolongation and long QT in young adult ex preterm newborns with extremely low birth weight. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011, in press
101. Marjamaa A, Salomaa V, Newton-Cheh C, et al. High prevalence of four long QT syndrome founder mutations in the Finnish population. *Ann Med* 2009; 41: 234-240
102. Behrman RE, Butler AS. *Preterm birth: causes, consequences, and prevention*. Washington DC: The National Academies Press; 2007
103. Corvaglia L, Faldella G, Rotatori R, et al. Intrauterine growth retardation is a risk factor for cisapride-induced QT prolongation in preterm infants. *Cardiovasc Drugs Ther* 2004; 18: 371 -375
104. Dubin A, Kikkert M, Mirmiran M, et al. Cisapride associated with QTc prolongation in very low birth weight preterm infants. *Pediatrics* 2001; 107: 1313-1316
105. Mangoni AA, Kinirons MT, Swift CG, et al. Impact of age on QT interval and QT dispersion in healthy subjects: a regression analysis. *Age Ageing* 2003; 32: 326–331
106. Papaioannou A, Michaloudis D, Fraidakis O, et al. Effects of weight loss on QT interval in morbidly obese patients. *Obes Surg* 2003; 13: 869-873
107. Callaghan WM, Dietz PM. Differences in birth weight for gestational age distributions according to the measures used to assign gestational age. *Am J Epidemiol* 2010; 171: 826-836

108. Rodríguez MM, Gomez A, Abitbol C, et al. Comparative renal histomorphometry: a case study of oligonephropathy of prematurity. *Pediatr Nephrol* 2005;20:945-949
109. Rodríguez MM, Gómez AH, Abitbol CL, et al. Histomorphometric analysis of postnatal glomerulogenesis in extremely preterm infants. *Pediatr Dev Pathol* 2004;7:17-25
110. Malik M, Batchvarov VN. Measurement, interpretation and clinical potential of QT dispersion. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 1749-1766
111. Kurosu M, Ando Y, Akimoto T, et al. Factors related to the QT prolongation in chronic renal failure. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1999;41:70-76
112. Nakamura S, Ogata C, Aihara N, et al. QTc dispersion in haemodialysis patients with cardiac complications. *Nephrology (Carlton)* 2005;10:113-118
113. Wu VC, Lin LY, Wu KD. QT interval dispersion in dialysis patients. *Nephrology (Carlton)* 2005;10:109-112
114. Jackman WM, Friday KJ, Anderson JL, et al. The long QT syndromes: a critical review, new clinical observations and unifying hypothesis. *Prog Cardiovasc Dis* 1988; 31: 115-172
115. Witchel HJ, Hancox JC. Familial and acquired long QT syndrome and the cardiac rapid delayed rectifier potassium current. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27: 753-766
116. Volpe JJ. The encephalopathy of prematurity--brain injury and impaired brain development inextricably intertwined. *Semin Pediatr Neurol* 2009;16: 167-178
117. Khechinashvili G, Asplund K. Electrocardiographic changes in patients with acute stroke: a systematic review. *Cerebrovasc Dis* 2002;14: 67-76
118. Zipes DP, Camm AJ, Borggrefe M, et al; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force; European Society of

- Cardiology Committee for Practice Guidelines; European Heart Rhythm Association; Heart Rhythm Society. *Circulation*. 2006; 114:385-484
119. Haverkamp W, Breithardt G, Camm AJ, et al. The potential for QT prolongation and pro-arrhythmia by non-antiarrhythmic drugs: clinical and regulatory implications. Report on a policy conference of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2000; 21: 1216-1231
 120. Cohle SD, Sampson BA. The negative autopsy: sudden cardiac death or other? *Cardiovasc Pathol* 2001; 10: 219-222
 121. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 168 – 175
 122. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-1115
 123. Donald AE, Charakida M, Cole TJ, et al. Non-invasive assessment of endothelial function: which technique? *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 1846-1850
 124. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-1115
 125. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, et al. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 1468-1474
 126. [Vapaatalo H, Mervaala E. Clinically important factors influencing endothelial function. *Med Sci Monit* 2001; 7: 1075 – 1085
 127. Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, et al. Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. *Am Heart J* 2003; 146: 168-174

128. Preterm birth: causes, consequences, and prevention. Behrman RE, Butler AS, eds. The National Academies Press, Washington DC, 2007, pp 55-83
129. Leeson CP, Kattenhorn M, Morley R, et al. Impact of low birth weight and cardiovascular risk factors on endothelial function in early adult life. *Circulation* 2001; 103: 1264 - 1268
130. Goodfellow J, Bellamy MF, Gorman ST, et al. Endothelial function is impaired in fit young adults of low birth weight. *Cardiovasc Res* 1998; 40: 600 – 606
131. Singhal A, Kattenhorn M, Cole TJ, et al. Preterm birth, vascular function, and risk factors for atherosclerosis. *Lancet* 2001; 358: 1159-1160
132. Zeiher AM, Drexler H, Saubier B, et al. Endothelium-mediated coronary blood flow in humans. Effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. *J Clin Invest* 1993; 92: 652-662
133. Lu R, Zhu HQ, Peng J, et al. Endothelium-dependent vasorelaxation and the expression of calcitonin gene-related peptide in aged rats. *Neuropeptides* 2002; 36: 407-412
134. Yeboah J, Burke GL, Crouse JR, et al. Relationship between brachial flow-mediated dilation and carotid intima-media thickness in an elderly cohort: the Cardiovascular Health Study. *Atheroscler* 2008; 197: 840 – 845
135. Vallance P, Leone A, Calver A, et al. Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 20 (Suppl 12): S60-62
136. Böger RH, Vallance P, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a key regulator of nitric oxide synthase. *Atheroscler Suppl* 2003; 4: 1-3

137. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, et al. Asymmetric dimethylarginine: a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842 – 1847
138. Zhang WZ, Venardos K, Chin-Dusting J, et al. Adverse effects of cigarette smoke on NO bioavailability: role of arginine metabolism and oxidative stress. *Hypertension* 2006; 48: 278–285
139. Lin KY, Ito A, Asagami T, et al. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 2002; 106: 987-992
140. Goonasekera CD, Shah V, Rees DD, et al. Vascular endothelial cell activation associated with increased plasma asymmetric dimethyl arginine in children and young adults with hypertension: a basis for atheroma? *Blood Press* 2000; 9: 16-21
141. Hornig B, Arakawa N, Böger RH, et al. Plasma levels of ADMA are increased and inversely related to endothelium-mediated vasodilation in patients with chronic heart failure: a new predictor of endothelial dysfunction? *Circulation* 1998; 98 (Suppl.): I-318
142. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, et al. Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with incipient primary chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 170-176
143. Masuda H. Significance of nitric oxide and its modulation mechanisms by endogenous nitric oxide synthase inhibitors and arginase in the micturition disorders and erectile dysfunction. *Int J Urol* 2008; 15: 128-134
144. Braekke K, Ueland PM, et al. Asymmetric dimethylarginine in the maternal and fetal circulation in preeclampsia. *Pediatr Res* 2009; 66: 411-415

145. Tsikas D, Rode I, Becker T, et al. Elevated plasma and urine levels of ADMA and 15(S)-8-iso-PGF₂-alpha in end-stage liver disease. *Hepatology* 2003; 38: 1063-1064
146. Lenzen H, Tsikas D, Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and the risk for coronary heart disease: the multicenter CARDIAC study. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 45-49
147. Valkonen VP, Päivä H, Salonen JT, et al. Risk of acute coronary events and serum concentrations of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001; 358: 2127-2128
148. Vida G, Sulyok E, Lakatos O, et al. Plasma levels of asymmetric dimethylarginine in premature neonates: its possible involvement in developmental programming of chronic diseases. *Acta Paediatr* 2009; 98: 437-441
149. Maas R. Pharmacotherapies and their influence on asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Vasc Med* 2005; 10 (Suppl 1) : S49-S57
150. Tsikas D, Sandmann J, Saavva A, et al. Assessment of nitric oxide synthase activity in vitro and in vivo by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 2000; 742: 143-153
151. Richir MC, van Leeuwen PA, van den Berg A, et al. Plasma ADMA concentrations at birth and mechanical ventilation in preterm infants: a prospective pilot study. *Pediatr Pulmonol* 2008; 43: 1161-1166
152. Zeiher AM, Drexler H, Saurbier B, et al. Endothelium-mediated coronary blood flow in humans. Effects of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. *J Clin Invest* 1993; 92: 652-662
153. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, et al. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardio* 1994; 24: 471-476

154. Lu R, Zu HQ, Peng J, et al. Endothelium-dependent vasorelaxation and the expression of calcitonin gene-related peptide in aged rats. *Neuropeptides* 2002; 36: 407-412
155. Luyckx VA, Brenner BM. Low birth weight, nephron number, and kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2005;97:S68-77
156. Böger RH, Zoccali C. ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. *Atheroscler Suppl* 2003; 4: 23-28
157. Zoccali C, Bode-Böger SM, Mallamaci F, et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2113-2117
158. Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, et al. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerosis disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 594-600
159. Committee on understanding premature birth and assuring healthy outcomes board on health science policy. Measurement of fetal and infant maturity. In: Behrman RE, Butler AS, editors. *Preterm birth: causes, consequences, and prevention*. Washington DC: The National Academies Press/USA 2007: 55-83
160. Bassareo PP, Puddu M, Flore G, et al. Could ADMA levels in young adults born preterm predict an early endothelial dysfunction? *Int J Cardiol*, in press