



Andamento dei livelli di leptina e adiponectina nel corso della vita

Giada Biddeci, Barbara Rundo, Laura Losa, Sara Pagani, Kamilia Laarej,
Anna Chiara Malvezzi, Cristina Meazza

Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

Andamento dei livelli di leptina e adiponectina nel corso della vita

Il tessuto adiposo sembra essere un organo di fondamentale importanza nel processo di invecchiamento. Abbiamo studiato come l'invecchiamento in buone condizioni di salute possa avere radici nel profilo metabolico del primo anno di vita, valutando i livelli di leptina e adiponectina in età neonatale (15 AGA e 11 SGA), in 30 centenari e in 31 soggetti anziani sani.

Alla nascita, i neonati SGA (*Small for Gestational Age*) mostrano più bassi livelli di leptina rispetto ai neonati AGA (*Adequate for Gestational Age*) (SGA 0.86 ± 0.36 , AGA 1.49 ± 0.60 ng/ml; $p < 0.05$) e livelli comparabili di adiponectina. Ad un anno, gli SGA mostrano un aumento nei valori di leptina (SGA 1.86 ± 0.35 , AGA 1.24 ± 0.16 ng/ml) e una lieve riduzione di quelli dell'adiponectina (SGA 37.17 ± 2.30 , AGA 36.90 ± 2.20 $\mu\text{g/ml}$) rispetto ai soggetti nati AGA. I centenari presentano livelli di leptina ridotti rispetto ad un gruppo di anziani (centenari 18.33 ± 4.00 , anziani 39.97 ± 11.10 ng/ml; $p < 0.05$), ma valori di adiponectina maggiori (centenari 60.93 ± 10.80 , anziani 36.35 ± 5.68 $\mu\text{g/ml}$; $p < 0.05$).

I centenari, similmente ai bambini AGA durante il primo anno di vita, mostrano un profilo adipochinico favorevole; ciò suggerisce che la condizione metabolica in età infantile potrebbe influenzare la longevità.

Pattern of leptin and adiponectin levels during lifetime

Adipose tissue seems to be a pivotal organ in the aging process. We investigated whether healthy aging could have its roots in a sound metabolic condition from the first year of life, by evaluating leptin and adiponectin levels in neonates (15 AGA and 11 SGA), 30 centenarians and 31 healthy elderly subjects.

At birth, SGA neonates showed lower leptin levels (SGA 1.86 ± 0.35 , AGA 1.24 ± 0.16 ng/ml; $p < 0.05$) and comparable adiponectin levels with respect to AGA. At one year, SGA showed increased leptin (SGA 1.86 ± 0.35 , AGA 1.24 ± 0.16 ng/ml) and slightly reduced adiponectin concentrations (SGA 37.17 ± 2.30 , AGA 36.90 ± 2.20 $\mu\text{g/ml}$) than AGA. Centenarians showed lower leptin (centenarians 18.33 ± 4.00 , elderly subjects 39.97 ± 11.10 ng/ml; $p < 0.05$) and higher adiponectin levels (centenarians 60.93 ± 10.80 , elderly subjects: 36.35 ± 5.68 $\mu\text{g/ml}$; $p < 0.05$) than elderly subjects.

Centenarians, similarly to AGA children during the first year of age, show a favourable adipokine profile suggesting that the metabolic condition at early age could affect the longevity of an individual.

Introduzione

La piccola dimensione corporea alla nascita è associata ad un'alta propensione a sviluppare eventi avversi in termini di salute in età adulta, come diabete, ipertensione, ischemia cardiaca. Barker ed altri autori hanno riportato per la prima volta che il basso peso alla nascita si associa in modo significativo ad un aumentato rischio di sviluppare una malattia cardiovascolare, come l'ipertensione e il diabete mellito di tipo 2, nei maschi caucasici [1-2]. Inoltre, tra i bambini nati piccoli per età gestazionale, quelli con maggior tendenza ad accumulare tessuto adiposo in eccesso, sono coloro che alla nascita mostravano un peso inferiore, sequenziale ad un ritardo di crescita intrauterino (IUGR) [3]. Questo periodo di malnutrizione è infatti seguito da un periodo di recupero del peso (*catch-up growth*) e dello stato nutrizionale, che induce importanti modifiche nel tessuto adiposo con conseguenze a lungo termine, incluso il rischio di sviluppare una precoce insulino-resistenza [3-5].

Studi condotti nel corso degli anni hanno rivelato l'importante ruolo del tessuto adiposo corporeo, dell'apporto calorico e della nutrizione sulla qualità della vita [6-7]. Sebbene sia noto che la longevità è geneticamente determinata, il tessuto adiposo sembra essere l'organo pilota nel processo di invecchiamento e nell'influenzare la durata della vita [8]. Il tessuto adiposo è un complesso e attivo organo endocrino, secernente sostanze che agiscono a livello sistemico, come leptina e adiponectina, che giocano un ruolo nell'omeostasi energetica [9]. La leptina promuove la perdita di peso diminuendo l'*intake* di cibo, aumentando il metabolismo e promuovendo la secrezione di citochine infiammatorie, mentre l'adiponectina possiede un effetto anti-diabetogeno, anti-aterogeno e insulino-sensibilizzante [10].

Scopo del lavoro

Lo scopo di questo lavoro è stato valutare se l'invecchiamento in buona salute possa avere le sue radici in una condizione metabolica favorevole nel primo anno di vita. Abbiamo effettuato un confronto tra neonati con differenti pesi alla nascita e soggetti centenari ed anziani, valutando i livelli circolanti di leptina e adiponectina.

Materiali e metodi

Popolazione studiata

- 15 neonati di peso adeguato per l'età gestazionale (AGA) (11 maschi e 4 femmine), nati a termine;
- 11 neonati piccoli per età gestazionale (SGA, peso alla nascita <-2 SDS per età gestazionale e sesso) [11] (7 maschi e 4 femmine), nati a termine;
- 30 centenari in buona salute (7 maschi e 23 femmine);
- 31 soggetti anziani in buona salute (7 maschi e 24 femmine).

I dati antropometrici dei neonati SGA e AGA, dei soggetti centenari e di quelli anziani sono riportati rispettivamente nelle tabelle 1 e 2.

L'età gestazionale è stata calcolata in rapporto all'ultima mestruazione e confermata dall'indagine ecografica durante il primo o inizio del secondo trimestre. Le mamme dei neonati arruolati hanno confermato il decorso normale della gravidanza, senza complicanze o assunzione di farmaci. Sedici neonati (7 SGA e 9 AGA) erano nati da parto eutocico, mentre 10 (4 SGA e 6 AGA) da taglio cesareo. I neonati sono stati arruolati alla nascita nell'Unità di Neonatologia della Fondazione IRCCS San Matteo.

I soggetti con malformazioni evidenti o disordini genetici sono stati esclusi dallo studio.

I bambini hanno seguito diete simili; durante il primo anno di vita la maggior parte di questi (80%) ha assunto solo latte materno fino al quarto mese, mentre gli altri latte artificiale o entrambi. Durante il periodo tra 4 e 6 mesi si sono alimentati con latte materno o artificiale e sono stati introdotti omogeneizzati di frutta (mela o pera), in accordo con i Pediatri Italiani; il primo pasto solido è stato aggiunto al sesto mese e due pasti solidi all'ottavo mese.

Al secondo giorno di vita e a 12 mesi, è stato prelevato un campione di sangue da ciascun bambino (dopo un digiuno di 4 ore per i neonati e di 8 ore per i più grandi) per il dosaggio della leptina e dell'adiponectina. Per non falsare il dosaggio degli ormoni alla nascita, il sangue è stato preso al secondo giorno di vita e non dal cordone ombelicale, dove gli ormoni possono anche derivare dalla circolazione e dai tessuti materni, come la placenta [12-13].

In tutti i bambini al secondo giorno di vita e al dodicesimo mese sono stati valutati peso, altezza e BMI, ed espressi come deviazione standard *score*.

Tutti i centenari e i soggetti anziani sono stati arruolati nella regione Lombardia. L'età dei partecipanti allo studio è stata definita dal certificato di nascita o dalla data di nascita sulla carta di identità o passaporto. I criteri di esclusione sono stati: malattie croniche, come disordini cardiovascolari, problemi respiratori, neoplasie, patologie epatiche o renali. In questi soggetti i campioni ematici sono stati raccolti dopo un digiuno notturno.

Il protocollo è stato approvato dalla Commissione Etica Locale. Lo scopo dello studio è stato dettagliatamente illustrato da un consenso informato prima dell'arruolamento. Tutto il personale che ha partecipato allo svolgimento dello studio ha agito in accordo con la dichiarazione di Helsinki, con il massimo rispetto etico della persona.

Metodi

Le concentrazioni sieriche di adiponectina e leptina sono state valutate tramite ELISA (B-Bridge International, Inc, Sunnyvale CA, USA e R&D Systems, Minneapolis MN, USA, rispettivamente).

La concentrazione minima di adiponectina dosabile è stata di 375 pg/ml e il coefficiente di variazione intra- ed inter-individuale è risultato rispettivamente del 3.2-7.3% e 4.6-5.8% per un *range* di controllo di qualità compreso tra 0.7-2.9 ng/ml.

La concentrazione minima di leptina dosabile è stata di 15.6 pg/ml e il coefficiente di variazione intra- ed inter-individuale è risultato rispettivamente di 3.2-3.3% e del 3.5-5.4% per un *range* di controllo di qualità compreso tra 65-600 ng/ml.

Analisi statistica

I dati sono stati riportati come media ed errore standard della media (SEM).

Il test di Shapiro-Wilk è stato usato per valutare la distribuzione normale delle variabili quantitative.

I test parametrici o non parametrici sono stati usati per comparare le variabili quantitative (t-test per i dati indipendenti per confronto tra i due gruppi o test di Mann-Whitney e Anova o di Krushall Wallis per il confronto tra più di due gruppi; il confronto tra i valori alla nascita e a 12 mesi è stata effettuato con il t-test per variabili appaiate o con il Wilcoxon rank-sum test).

Un *p value* <0.05 è stato considerato statisticamente significativo.

Tutti i test usati erano a doppia coda. L'analisi statistica è stata condotta con il programma STATA (versione 9; Stata Corporation, College Station, 2008, Texas, USA).

Una valutazione post analisi ha mostrato che lo studio ha una potenza del 99% per le differenze nei livelli di leptina nei quattro gruppi e del 71% per l'adiponectina.

Risultati

Come atteso, i neonati SGA erano significativamente più piccoli e più leggeri alla nascita rispetto agli AGA, ma con lunghezza e BMI comparabili tra i due gruppi all'età di un anno (Tabella 1).

I centenari presentavano una riduzione significativa del BMI rispetto ai soggetti anziani, come mostrato nella tabella 2.

Come visibile nella figura 1, i livelli di adiponectina sono risultati comparabili tra i neonati AGA e SGA, sia alla nascita che all'età di un anno, mostrando poi una significativa riduzione nei soggetti AGA durante il primo anno di vita ($p=0.022$).

Nei centenari e nei soggetti anziani l'adiponectina è risultata significativamente più alta rispetto ad entrambi i gruppi di neonati ($p=0.0001$), sia alla nascita che a 12 mesi; i centenari inoltre, hanno mostrato valori di adiponectina significativamente ($p<0.05$) più alti rispetto agli anziani.

Nella figura 2 sono rappresentati i livelli di leptina, significativamente più alti negli AGA rispetto agli SGA alla nascita ($p<0.05$), ma comparabili a 12 mesi con un aumento della leptina nei soggetti piccoli per età gestazionale nel corso del primo anno ($p=0.0078$).

I centenari e i soggetti anziani hanno mostrato più alti livelli di leptina rispetto ai neonati ($p<0.0005$), seppur con una ridotta secrezione nei centenari ($p<0.05$) rispetto ai soggetti anziani.

Abbiamo valutato se vi fosse una differenza nei livelli di adiponectina e leptina tra maschi e femmine. Solo nel gruppo dei soggetti anziani è stato trovato un più alto livello di adiponectina e leptina nelle femmine rispetto ai maschi (adiponectina: maschi 20.3 ± 3.1 $\mu\text{g/ml}$, femmine 37.1 ± 5.0 $\mu\text{g/ml}$; $p=0.00365$; leptina: maschi 13.8 ± 4.5 ng/ml , femmine 41.7 ± 8.8 ng/ml ; $p=0.0437$).

Discussione

In questo studio abbiamo valutato se l'invecchiamento in buona salute possa trovare le basi in una condizione metabolica nel primo periodo di vita. Il tessuto adiposo secerne proteine che regolano il metabolismo energetico e l'insulino-sensibilità, correlati molto strettamente alla longevità; per questo abbiamo valutato la leptina e l'adiponectina circolanti nei neonati di diverso peso alla nascita, nei centenari in buona salute e in soggetti anziani, con lo scopo di trovare similitudini tra loro. I soggetti in grado di raggiungere un'età avanzata in buona salute, come i centenari, sono uno straordinario modello di longevità umana [14].

I nostri risultati hanno messo in evidenza che nei bambini nati SGA, ad un anno, la leptina sierica risulta aumentata mentre la adiponectina leggermente diminuita in confronto agli AGA. I centenari mostrano livelli più bassi di leptina e più alti di adiponectina, rispetto ai soggetti anziani.

Secondo i dati da noi raccolti, gli SGA, che presentano un completo *catch up growth* ad un anno (dati non mostrati), hanno un profilo di adipochine sfavorevole, con un livello crescente di leptina rispetto alla nascita; questo potrebbe pertanto aumentare il rischio di sviluppare una sindrome metabolica in età adulta, come suggerito anche da altri studi [3-5, 15]. Infatti, i livelli di leptina sono coinvolti nel controllo dell'insulino-sensibilità ed è stato dimostrato, sebbene siano necessari ulteriori approfondimenti, che la produzione di leptina risulta alterata nei soggetti nati SGA sia durante il periodo di *catch*

up growth sia in età adulta [16]. La riduzione del tessuto adiposo corporeo alla nascita nei soggetti nati piccoli per età gestazionale riflette la riduzione dell'accumulo di grasso negli adipociti e il seguente *catch up growth* coinvolge pertanto il tessuto adiposo, come evidenziato dal sostanziale aumento del BMI durante il primo anno di vita [17]. Questo aumento di accumulo del tessuto adiposo persiste anche in età adulta, come mostrato da un incremento progressivo del BMI, valutato all'età di 25 anni rispetto a soggetti nati AGA. Inoltre, sembra che il *catch up growth* riguardi soprattutto il peso, con conseguenze metaboliche importanti a lungo termine [18]. Nonostante ciò, è necessario tenere in considerazione che la ridotta crescita fetale rappresenta solo un fattore contributivo e che l'attuale dimensione corporea gioca il ruolo principale nel determinare il rischio di sviluppare anomalie metaboliche, a discapito della longevità.

I centenari di questo studio hanno mostrato livelli significativamente più bassi di leptina e più alti di adiponectina in confronto ai soggetti anziani. Questi risultati correlano con una importante riduzione dei livelli di BMI dei centenari rispetto ai soggetti anziani. Nonostante questo, il BMI dei centenari non suggerisce malnutrizione, ma piuttosto una riduzione dell'apporto calorico; questo dato è in accordo con altri studi che hanno mostrato come la restrizione calorica sia associata ad una maggiore longevità, per ridotta produzione di energia a livello mitocondriale, ridotto danno al DNA e minore instabilità genomica [7].

In questo studio, il sesso non sembra significativo nell'influenzare la concentrazione plasmatica di leptina e adiponectina, fatta eccezione per i soggetti anziani. Molti studi suggeriscono un'influenza del sesso su questi parametri [19-20], ma nei neonati è possibile che tali differenze non esistano come suggerito da Kamoda *et al* [21]. Inoltre, poiché i differenti valori di adipochine nei due sessi dipenderebbero probabilmente dalle variazioni degli ormoni sessuali, nel gruppo dei centenari, dove i livelli di testosterone sono notoriamente ridotti, non è possibile osservare tale variazioni [22].

In conclusione, secondo il nostro studio esisterebbe una similitudine nel profilo delle adipochine tra neonati alla nascita e nel primo anno di vita e la qualità della vita. Nonostante questo, non è possibile al momento creare un *link* tra neonati e centenari, a causa del vuoto presente tra queste due epoche della vita. Forse, ulteriori studi longitudinali dalla nascita alla senescenza potrebbe risolvere la questione.

Tabelle e figure

Tabella 1. Misurazioni antropometriche dei soggetti AGA e SGA alla nascita e a 12 mesi di vita. I dati sono espressi come media±SEM (Abbreviazioni: *p<0.01 AGA rispetto SGA all'età corrispondente).

Gruppo	Variabile	Nascita	12 mesi
SGA (n=11)	Lunghezza(SDS)	-1.08±0.34	-0.88±0.27
	Peso (SDS)	-2.24±0.71	-0.40±0.12
	BMI (SDS)	-1.68±0.53	0.02±0.03
AGA (n=15)	Lunghezza(SDS)	0.23±0.07*	-0.15±0.04
	Peso (SDS)	-0.19±0.26*	0.49±0.13
	BMI (SDS)	-0.05±0.02*	0.46±0.12

Tabella 2. Misurazioni antropometriche dei soggetti centenari e dei soggetti anziani al momento dell'arruolamento. I dati sono espressi come media±SEM (Abbreviazioni: *p<0.0004 rispetto ai centenari, **p=0.032 rispetto ai centenari).

	Centenari (n=48)	Soggetti anziani (n=50)
Età (anni)	100.87±1.25	68.72±5.68*
Età media (range)	100.0 (100-103)	69.5 (61-88)
BMI (SDS)	0.05±0.01	0.83±0.12**

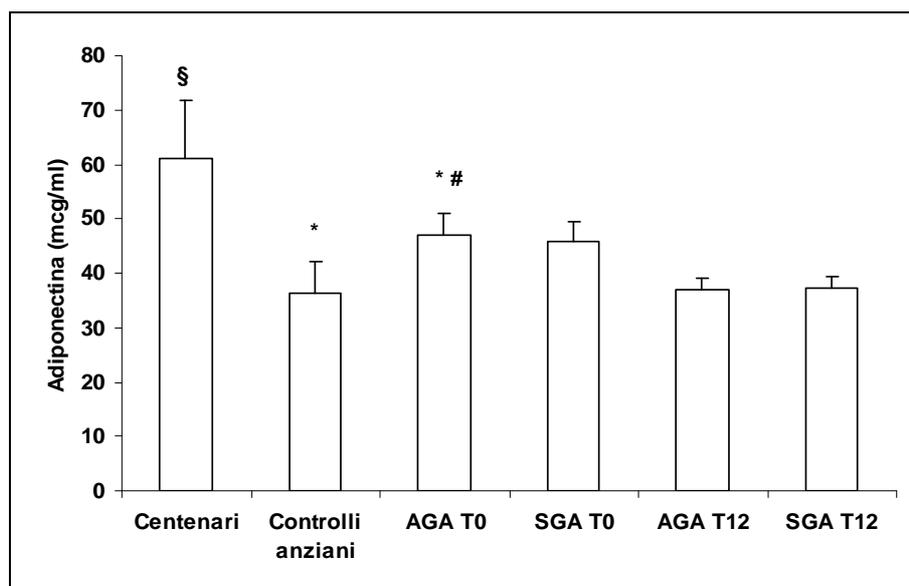


Figura 1. Livelli circolanti di adiponectina nei soggetti AGA e SGA alla nascita (T0) e ad un anno (T12), nei centenari e nei soggetti anziani. I dati sono rappresentati come media+SEM (Abbreviazioni: * $p < 0.05$ rispetto ai centenari, # $p = 0.022$ rispetto ad AGA T12, § $p < 0.0001$ rispetto ad AGA e SGA at T0 and T12).

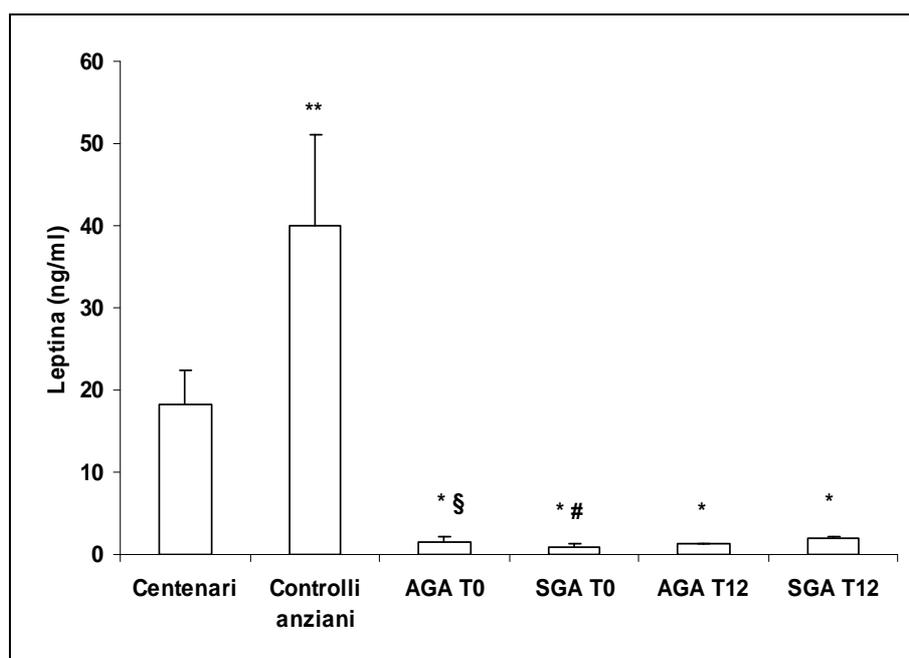


Figura 2. Livelli circolanti di leptina nei soggetti AGA e SGA alla nascita (T0) e ad un anno (T12), nei centenari e nei soggetti anziani. I dati sono rappresentati come media+SEM (Abbreviazioni: # $p = 0.0078$ rispetto agli SGA T12, § $p < 0.05$ rispetto agli SGA T0, * $p < 0.0005$ rispetto ai centenari e ai soggetti anziani, ** $p < 0.05$ rispetto ai centenari).

Bibliografia

1. Barker DJ, Winter PD, Osmond C et al. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet* 1989;2:577-580.
2. Barker DJ, Hales CN, Fall CH et al. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 1993;36:62-67.
3. Lévy-Marchal C, Czernichow P. Small for gestational age and the metabolic syndrome: which mechanism is suggested by epidemiological and clinical studies? *Horm Res* 2006;65:123-130.
4. Deng HZ, Li YH, Su Z et al. Association between height and weight catch-up growth with insulin resistance in pre-pubertal Chinese children born small for gestational age at two different ages. *Eur J Pediatr* 2011;170:75-80.
5. Ibáñez L, Lopez-Bermejo A, Diaz M et al. Catch-up growth in girls born small for gestational age precedes childhood progression to high adiposity. *Fertil Steril* 2011;96:220-223.
6. Picard F, Guarente L. Molecular links between aging and adipose tissue. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2005;29:S36-39.
7. Koubova J, Guarente L. How does calorie restriction work? *Genes Dev* 2003;17:313-321.
8. Bluher M. Fat tissue and long life. *Obes Facts* 2008;1:176-182.
9. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2548-2556.
10. Stofkova A. Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. *Endocr Regul* 2009;43:157-168.
11. Lee PA, Chernausek SD, Hokken-Koelega AC et al. International Small for Gestational Age Advisory Board. International Small for Gestational Age Advisory Board consensus development conference statement: management of short children born small for gestational age, April 24-October 1, 2001. *Pediatrics* 2003;111:1253-1261.
12. Bozzola M, Schimpff RM. Neonatal serum growth-promoting activity measured in human lymphocytes: comparison of cord blood and capillary blood. *Horm Metab Res* 1985;17:418-420.
13. Schimpff RM, Bozzola M, Zapf J. Serum thymidine activity and insulin-like growth factors in the neonatal period. *Acta Endocrinol* 1985;110:140-144.
14. Franceschi C, Bonafè M. Centenarians as a model for healthy aging. *Biochem Soc Trans* 2003;31:457-461.
15. Jaquet D, Leger J, Tabone MD et al. High serum leptin concentrations during catch-up growth of children born with intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1949-1953.
16. Miras M, Ochetti M, Martín S et al. Serum levels of adiponectin and leptin in children born small for gestational age: relation to insulin sensitivity parameters. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010;23:463-471.
17. Petersen S, Gotfredsen A, Knudsen FU. Lean body mass in small for gestational age and appropriate for gestational age infants. *J Pediatr* 1988;113:886-889.
18. Veening MA, Van Weissenbruch MM, Delemarre-Van De Waal HA. Glucose tolerance, insulin sensitivity, and insulin secretion in children born small for gestational age. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:4657-4661.
19. Degawa-Yamauchi M, Dilts JR, Bovenkerk JE et al. Lower serum adiponectin levels in African-American boys. *Obes Res* 2003;11:1384-1390.
20. Fulda S, Linseisen J, Wolfram G et al. Leptin plasma levels in the general population: influence of age, gender, body weight and medical history. *Protein Pept Lett* 2010;17:1436-1440.
21. Kamoda T, Saitoh H, Saito M et al. Serum adiponectin concentrations in newborn infants in early postnatal life. *Pediatr Res* 2004;56:690-693.
22. Ognibene A, Petrucci E, Troiano L et al. Testosterone, gonadotropins, prolactin and sex hormone-binding globulin in healthy centenarians. *J Endocrinol Invest* 1999;22:64-65.