

STIMA DELL'EREDITABILITÀ DELL'ATEROSCLEROSI: UNO STUDIO DEL REGISTRO NAZIONALE GEMELLI



Emanuela Medda, Rodolfo Cotichini e il Gruppo di lavoro del Registro Nazionale Gemelli*
Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute, ISS

RIASSUNTO - Il Registro Nazionale Gemelli dell'Istituto Superiore di Sanità, in collaborazione con la Semmelweis University di Budapest e tre dipartimenti universitari italiani, ha avviato una nuova ricerca per la stima della componente ereditaria dell'aterosclerosi. Hanno preso parte allo studio 621 gemelli residenti in Italia, Ungheria e Nord America, per un totale di 192 coppie monozigotiche, 117 coppie dizigotiche e una tripletta. L'età media dei partecipanti è stata di 51 anni. I risultati preliminari dello studio hanno mostrato una moderata ereditabilità dello spessore dell'intima e della rigidità della parete dei vasi centrali e periferici. I fattori ambientali legati alle specifiche abitudini di vita degli individui (fumo, attività fisica, dieta) sembrano invece giocare un ruolo predominante nell'insorgenza dell'aterosclerosi.

Parole chiave: aterosclerosi; ereditabilità; gemelli

SUMMARY (*Heritability estimate of atherosclerosis: a study by the Italian Twin Registry*) - The Italian Twin Registry, in collaboration with the Semmelweis University in Budapest and the Universities of Rome, Padova and Perugia, is conducting a new research to estimate heritability of atherosclerosis. 621 twins (192 monozygotic and 117 dizygotic twin pairs and 1 triplet), resident in Italy, Hungary and United States were recruited in the study (mean age 51 years). Preliminary results show that carotid intima media thickness and arterial stiffness measurements are moderately influenced by genetic factors. Environmental factors of relevance for these parameters appeared not to be shared within family but related to individual experience (diet, smoke habit, physical activity).

Key words: atherosclerosis; heritability; twins

emanuela.medda@iss.it

L'arteriosclerosi è una patologia degenerativa, principale responsabile delle malattie cerebro e cardiovascolari. Le patologie a carico del cuore e/o dei vasi rappresentano la principale causa di morte, la causa più frequente di ricovero ospedaliero e una delle cause più importanti di invalidità (1, 2). La sua prevenzione assume dunque una notevole importanza sia a livello individuale sia per la collettività.

L'aterosclerosi è una forma particolare di arteriosclerosi dovuta a un processo infiammatorio cronico delle arterie di grande e medio calibro. La sua tipica manifestazione è un ispessimento dell'intima delle arterie dovuto principalmente all'accumulo di materiale lipidico e alla proliferazione del tessuto connettivo. Recenti studi hanno inoltre dimostrato che alcuni parametri quali la velocità del flusso aortico, la rigidità della parete dell'aorta e il tono della parete dei vasi

periferici, sono associati a segni precoci di arteriosclerosi (3) e che la loro individuazione potrebbe consentire di iniziare tempestivamente un'efficace terapia.

Il Registro Nazionale Gemelli (RNG) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), in collaborazione con la Semmelweis University di Budapest, ha avviato un nuovo studio per la stima della componente ereditaria dell'aterosclerosi. L'indagine intende fornire stime più precise di quelle attualmente disponibili (4, 5) sulla ereditabilità dell'aterosclerosi nella popolazione generale, valutando le componenti genetiche e ambientali di alcuni parametri rilevabili tramite ecografia e arteriografia, quali lo spessore, la rigidità della parete arteriosa e la velocità del flusso dell'aorta. Con questo studio si vuole inoltre valutare il ruolo del benessere psicologico quale fattore protettivo dell'aterosclerosi. ►

(*) Il Gruppo di lavoro è composto da: Maria Antonietta Stazi, Sabrina Alvitì, Sonia Brescianini, Rodolfo Cotichini, Giovanni Di Giovambattista, Cristina D'Ippolito, Corrado Fagnani, Maurizio Ferri, Emanuela Medda, Lorenza Nisticò, Valeria Patriarca, Luana Penna, Daniela Rotondi, Miriam Salemi, Virgilia Toccaceli.



Gruppo di lavoro del Dipartimento di Scienze Radiologiche, Università Sapienza, Roma

Per il raggiungimento di questi obiettivi i gemelli rappresentano una risorsa importantissima. Il metodo gemellare è una tecnica di ricerca molto potente che si basa sul confronto tra coppie di gemelli monozigoti (MZ) e dizigoti (DZ). È utile ricordare che i gemelli DZ derivano dalla occasionale maturazione contemporanea di due follicoli, dalla conseguente liberazione di due ovuli e dalla loro fecondazione da due spermatozoi. I gemelli DZ condividono dunque circa il 50% del genoma, così come due fratelli concepiti in momenti distinti. I gemelli MZ originano invece dalla divisione casuale di un unico zigote e hanno dunque lo stesso genoma.

Il presupposto alla base del metodo è che i gemelli DZ e MZ condividano rispettivamente circa il 50% e il 100% del patrimonio genetico, questo fa sì che si possa stabilire l'influenza dei geni e dell'ambiente su un determinato carattere (6). Nello specifico, l'analisi gemellare consente di distinguere una componente genetica additiva (A) e non additiva (D), una componente ambientale condivisa dai gemelli della coppia (C) e una componente ambientale non condivisa che comprende anche l'errore di misura (E) del fenotipo in studio (7).

Lo studio

Lo studio è stato avviato in diversi centri clinici universitari in Ungheria, negli Stati Uniti e in Italia. Nel nostro Paese, in particolare, hanno collaborato il Dipartimento di Scienze Radiologiche, Università Sapienza di Roma (Prof. Fanelli), il Dipartimento di Neuroscienze dell'Università degli Studi di Padova (Prof. Meneghetti e Prof. Baracchini) e il Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università di Perugia (Prof. Schillaci).

Prima dell'avvio dello studio, lo staff del Dipartimento di Scienze Radiologiche di Roma e quello dell' RNG hanno partecipato a una giornata di formazione dedicata interamente alla comunicazione e al counselling telefonico nei confronti della popolazione target sui temi della ricerca specifica e, in generale, sulla partecipazione alle attività promosse dal Registro. In parallelo, si è scelto di dare visibilità all'iniziativa attraverso le pagine web dell' RNG (www.iss.it/gemelli).

Dopo la giornata di formazione, i gemelli sono stati contattati telefonicamente e, a seguito dell'adesione, è stato fissato un appuntamento per gli esami ecografici. A tutti i gemelli partecipanti è stata eseguita una ecografia-Doppler per la valutazione dello spessore del complesso intima-media delle arterie carotidi (IMT) e l'individuazione di placche ateromasiche. È stato misurato l'IMT della carotide comune destra e sinistra nella porzione prossimale e distale e lo spessore del tratto prossimale della carotide interna destra e sinistra. Inoltre, è stato effettuato un eco-color Doppler transcranico per valutare la presenza di patologie stenocclusive delle maggiori arterie della base cranica. Per la valutazione della rigidità della parete arteriosa è stato utilizzato il TensioMed Arteriograph, uno strumento che consente di misurare in modo veloce e non invasivo i parametri relativi alle proprietà delle arterie. In particolare, è stato misurato l'Augmentation Index (AIX) e la velocità dell'onda di polso (PWV), indicatori precoci di aterosclerosi dei vasi centrali e periferici (8).

Nel corso della visita è stata inoltre eseguita una prova spirometrica per la valutazione della capacità vitale forzata e il volume espiratorio massimo nel primo secondo, misurata l'altezza, il peso, la circonferenza dei fianchi e della vita e, utilizzando un dinamometro, determinata la forza delle mani. Inoltre, a tutti i gemelli italiani è stato chiesto di donare un campione di saliva per l'estrazione e la successiva conservazione del DNA presso la Banca Biologica del Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute dell'ISS (9). Informazioni sul benessere psicologico, le abitudini al fumo, l'attività fisica, gli stili di vita e lo stato generale di salute sono state rilevate attraverso questionari standardizzati (vedi box **Misure e informazioni raccolte per tutti i gemelli partecipanti**).

Tutti i gemelli sono stati informati verbalmente e tramite nota informativa cartacea sulle finalità dello studio e sulle modalità di esecuzione degli esami; i partecipanti hanno firmato un modulo di consenso informato per la

Misure e informazioni raccolte per tutti i gemelli partecipanti

Pressione arteriosa sistolica
 Pressione arteriosa diastolica
 Peso
 Altezza
 Indice di massa corporea
 Circonferenza vita e fianchi
 Massa grassa e massa muscolare
 Livelli di grasso viscerale
 Forza della mano (destra e sinistra)
 Spirometria (volume espiratorio massimo e capacità vitale forzata)
 Campione di saliva (solo per i gemelli italiani)
 Arteriografia

- Augmentation index (Aixbra, Aixao)
- Velocità dell'onda di polso (PWVao)

 Ecografia (lato destro e sinistro)

- Spessore medio-intimale della carotide comune, porzione prossimale e distale
- Spessore medio-intimale della carotide interna, porzione prossimale
- Percentuale di stenosi

 Eco-color Doppler transcranico
 Questionari sulle abitudini al fumo e gli stili di vita, lo stato generale di salute e il benessere psicologico

partecipazione allo studio e il trattamento dei dati raccolti. A tutti loro è stato inviato a casa uno schema con le principali misurazioni e determinazioni di interesse clinico e diagnostico eseguite nel corso della visita.

Lo studio non si è ancora concluso, a breve saranno disponibili i dati dei gemelli esaminati a Perugia nel marzo 2010 e, inoltre, nei prossimi mesi si prevede di arruolare altre coppie di gemelli in Ungheria.

Complessivamente, sono state coinvolte nello studio 192 coppie MZ, 117 coppie DZ e una tripletta MZ, per un totale di 621 gemelli. La zigosità dei



gemelli è stata stabilita sulla base delle risposte che i gemelli della coppia hanno dato a una serie di domande sulla loro similarità fisica durante l'infanzia (10). In Tabella sono mostrate le principali caratteristiche dei gemelli reclutati nei tre Paesi coinvolti nello studio.

I primi risultati

È stata eseguita un'analisi preliminare dei dati fino a ora disponibili; in particolare, sono state calcolate le correlazioni intraclasse degli spessori dell'intima-media delle arterie carotidi (carotide comune e interna, lato sinistro) e dei parametri relativi all'esame arteriografico (Augmentation Index brachiale, Aixbra e velocità dell'onda di polso a livello dell'aorta, PWVao) e, utilizzando modelli di equazioni strutturali, è stata fatta una prima stima dell'ereditabilità di queste misure. Tutte le analisi sono state aggiustate per età dei gemelli al momento della visita.

La correlazione intraclasse, ovvero il grado di omogeneità dei valori osservati nelle coppie suddivise in base alla zigosità, è maggiore nei gemelli MZ ►

Tabella - Caratteristiche dei gemelli che hanno partecipato allo studio

Caratteristiche	Italia	Ungheria	Stati Uniti	Totale
Gemelli (N)	343	182	96	621
Zigosità (coppie)				
MZ	79 + 1 tripletta	68	45	192 + 1 tripletta
DZ	91	23	3	117
Età (anni)				
media ± deviazione standard	54,9 ± 12,2	44,0 ± 16,4	47,0 ± 17,4	50,5 ± 15,3
Indice di massa corporea - BMI (kg/m ²)				
media ± deviazione standard	26,5 ± 4,1	24,7 ± 4,7	27,4 ± 6,3	26,4 ± 4,7
Pressione arteriosa sistolica (mmHg)				
media ± deviazione standard	129,4 ± 18,3	127,9 ± 17,6	126,5 ± 17,1	127,9 ± 17,6
Pressione arteriosa diastolica (mmHg)				
media ± deviazione standard	77,9 ± 10,7	74,2 ± 11,5	71,4 ± 9,7	75,9 ± 11,1

rispetto a quelli DZ per gran parte delle misurazioni effettuate (per esempio: $MZr = 0,27$ e $DZr = 0,06$ per lo spessore dell'intima nella zona prossimale della carotide comune sinistra). Sulla base delle correlazioni così stimate sono stati individuati i modelli univariati da utilizzare per la scomposizione della varianza fenotipica.

I risultati delle misurazioni della carotide comune e interna indicano che gli spessori dell'intima sembrano essere determinati da fattori genetici (con stime di ereditabilità tra il 26% e il 38%) e ambientali non condivisi, ossia legati alle esperienze individuali dei soggetti (valori compresi tra il 62% e il 74%).

Sono state inoltre stimate le correlazioni per i parametri rilevati attraverso l'arteriografia: Augmentation Index e velocità dell'onda di polso, indicatori rispettivamente di un'iniziale aterosclerosi dei vasi periferici e di quelli centrali. I valori di entrambe le misurazioni sono risultati più simili all'interno delle coppie MZ che non di quelle DZ. I modelli utilizzati per quantificare il contributo dei geni e dell'ambiente nell'espressione del carattere hanno evidenziato una componente genetica intorno al 40% per l'Aixbra e la PWVao, e una componente ambientale non condivisa del 35% e del 54% rispettivamente. Conseguentemente, il contributo dei fattori ambientali condivisi è risultato piuttosto esiguo (20% Aixbra e 4% PWVao).

Conclusioni

I risultati preliminari dello studio hanno portato a individuare una moderata ereditabilità dello spessore dell'intima e della rigidità della parete dei vasi centrali e periferici, quali indicatori precoci di una disfunzione endoteliale. Limitato o assente sembra essere il contributo delle esperienze e abitudini condivise dai gemelli e legate principalmente ai primi anni di vita. I fattori ambientali non condivisi, ossia quelli connessi agli stili di vita dei singoli individui (ad esempio, fumo, attività fisica, dieta) sembrano invece giocare un ruolo predominante nell'insorgenza dell'aterosclerosi.

A breve verranno inoltre analizzati gli aspetti legati alla relazione tra le singole misure considerate e, utilizzando tecniche di analisi multivariata, verrà valutato il grado con cui parametri quali l'IMT e il benessere psicofisico condividono fattori genetici e ambientali comuni.

I risultati ottenuti dallo studio dei gemelli e soprattutto la loro generalizzabilità a tutti gli individui rappresentano un elemento di conoscenza molto importante per la diagnosi precoce dell'arteriosclerosi e, ancor di più, per la prevenzione dei fattori di rischio connessi con l'insorgenza di questa patologia.

Lo studio illustrato scaturisce dalla collaborazione tra l' RNG e altri gruppi con competenze diverse e complementari e, alla luce dei risultati ottenuti, è auspicabile che questo modello di ricerca possa essere riproposto e adottato per lo studio di altri fenotipi. ■

Ringraziamenti

Si ringraziano tutti i gemelli che hanno partecipato all'indagine, Alessandro Belocchi per aver svolto il modulo di formazione sulla comunicazione e il counselling telefonico, e il personale sanitario del Dipartimento di Scienze Radiologiche dell'Università Sapienza di Roma, del Dipartimento di Neuroscienze dell'Università degli Studi di Padova e del Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università di Perugia, che ha reso possibile lo studio.

Riferimenti bibliografici

1. Kromhout D. Epidemiology of cardiovascular diseases in Europe. *Public Health Nutr* 2001;4(2B):441-57.
2. Müller-Nordhorn J, Binting S, Roll S, et al. An update on regional variation in cardiovascular mortality within Europe. *Eur Heart J* 2008;29(10):1316-26.
3. Simon A, Garipey J, Chironi G, et al. Intima-media thickness: a new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *J Hypertens* 2002;20:159-69.
4. Swan L, Birnie DH, Inglis G, et al. The determination of carotid intima medial thickness in adults—a population-based twin study. *Atherosclerosis* 2003;166:137-41.
5. Zhao J, Cheema FA, Bremner JD, et al. Heritability of carotid intima-media thickness: a twin study. *Atherosclerosis* 2008;197:814-20.
6. Boomsma DI, Busjahn A, Peltonen L. Classical twin studies and beyond. *Nat Rev Genet* 2002;3:872-82.
7. Fagnani C, Brescianini S, Medda E, et al. Statistical methods for the analysis of twin data. *Ann Ist Super Sanità* 2006;42(1):86-93.
8. Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, et al. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation* 2006;113:664-70.
9. Toccaceli V, Nisticò L, D'Ippolito C, et al. La banca biologica del Registro Nazionale Gemelli. *Not Ist Super Sanità* 2009;22(3):3-7.
10. Kyvik KO, Green A, Beck-Nielsen H. The new Danish twin register: establishment and analysis of twinning rates. *Int J Epidemiol* 1995;24:589-96.